

## A-S3-5

## 纳米银和唑类药物联用抗耐药白色念珠菌作用及机制研究

梁 赛, 郭 丹, 吴 航; 指导教师: 孙玲美

东南大学 2011 级临床医学

**【目的】** 白色念珠菌是临床最常见的条件致病性真菌, 能够引起多种疾病, 然而随着唑类等药物长期大量使用, 导致真菌耐药性普遍产生, 成为临床治疗失败的主要原因。纳米银已经被证明具有抗菌活性, 但是对白色念珠菌耐药菌株抗菌作用有限, 因此本项目主要目的在于研究纳米银和唑类药物联用抗白色念珠菌耐药菌株作用及其作用机制。

**【方法】** 用电镜方法、紫外全波长扫描及 zeta 电位测定分析加入唑类药物对纳米银溶液稳定性的影响, 体外抗菌实验采用微量稀释法, 两药之间关系采用棋盘式微量稀释法并用 FICI 指数评价, 用琼脂扩散法和杀菌曲线来进一步验证两药作用关系。细胞学作用机制解析包括从细胞学水平研究纳米银对白色念珠菌出芽及唑类药物促进纳米银粘附于白色念珠菌表面效应。分子机制解析包括从基因水平研究纳米银和唑类药物联用对麦角甾醇生物合成途径相关基因及细胞膜外排泵基因表达的影响。

**【结果】** 唑类药物的加入对纳米银系列物理化学表征没有明显影响。纳米银单用 MIC 是 16~32  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 氟康唑及伏立康唑单用抗耐药白色念珠菌 MIC 分别是  $\geq 64$  和 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。而当联合应用时, 纳米银 MIC 是 0.125~0.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 氟康唑 MIC 是 0.125~1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 伏立康唑 MIC 是 0.125~0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , FICI 指数均  $< 0.5$ 。琼脂扩散法和杀菌曲线测定进一步确认纳米银和唑类联用抗白色念珠菌耐药菌株具有协同作用。细胞学机制方面联合用药减少了白色念珠菌出芽率, 增加纳米银对白色念珠菌的粘附; 分子机制方面, 发现联合用药能显著降低麦角甾醇含量, 并能增加 ERG5、ERG6 基因的表达。降低外排泵基因 CDR1 的表达。

**【结论】** 纳米银和唑类药物联用对耐药白色念珠菌具有显著的协同作用。本项目基于临床抗真菌耐药的现状, 为寻找新的逆转真菌耐药的应对策略提供思路。

**关键词:** 白色念珠菌; 纳米银; 唑类药物; 联合用药; 逆转耐药; 抗真菌机制

## A-S3-6

## 临床结核分枝杆菌 RskA E83D 突变对细菌 SigK 操纵子调控效应的影响分析

刘鼎乾; 指导教师: 张 鹭

复旦大学上海医学院 2010 级临床医学八年制

**【目的】** 针对本研究小组首次发现的, 大量临床分离的北京型结核分枝杆菌中 SigK 操纵子 RskA 编码基因的特殊表达模式, 比较其对细菌形态、生理、毒力等的影响并初步分析产生这种影响的分子机制。

**【方法】** 以课题组构建的重组海分枝杆菌为研究对象, 比较分析细菌体外培养、THP1 细胞内培养、小鼠感染模型内形态、生长能力及毒力特征。检验重组细菌一线、二线抗结核药物的耐受性。采用 qRT-PCR 方法检测相关基因的表达水平, 分析 SigK 操纵子表达与机体内环境的关系。利用比较蛋白质组学技术, 寻找与 SigK 操纵子 RskA E83D 突变相关的蛋白调控网络。

**【结果】** RskA E83D 突变会抑制细菌在低氧状态以及贫营养状态下的生存能力, 同时抑制在 THP1 胞内的生存能力。改变细菌中部分一线、二线抗结核药物靶基因的表达水平, 从而影响药物抗性。RskA E83D 突变蛋白高水平表达菌株感染的小鼠 28 d 后肺、脾组织结构中出现了明显淤血和水肿, 并伴有大面积炎症细胞浸润, 导致