

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 ≥ 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

菌株致病力增强。

【结论】 北京基因型结核分枝杆菌 RskA E83D 这种突变可能会影响 SigK/RskA 的相互结合,影响 SigK 的表达,并最终改变高度免疫原性蛋白 MPT83、MPT70 的分泌水平。本研究的进行有助于揭示 SigK 特殊的调节机制,以及这种调节机制对临床菌株的流行病学播散、细菌耐药性、致病性的影响。

关键词: 结核分枝杆菌; RskA E83D 突变; SigK/RskA 调控系统

A-S3-7

大学生足部真菌感染状况调查及病原体的分离鉴定

陈剑波,王曦帆,付靖婷;指导教师:樊晓晖,周马林

广西医科大学基础医学院 2011 级临床医学五年制

【目的】 以广西医科大学基础医学院 2011 级学生为对象,调查这部分人群足部真菌感染状况并分离鉴定病原体,为手足癣真菌病的流行病学研究及开展相关预防措施提供参考。

【方法】 采用自编问卷进行调查,对 57 份样本,分别进行真菌培养、菌种鉴定,得出样本培养阳性率和真菌镜检阳性率。

【结果】 (1)足部真菌感染患病情况:444 例广西医科大学基础医学院 2011 级学生患有足部真菌感染性疾病者 169 例,患病率为 38.1%。其中男生患病率为 43.3%,女生患病率为 35.6%,男、女生患病率差异无统计学意义($\chi^2 = 2.382, P = 0.304$)。(2)对足部真菌感染疾病的了解情况:对足部真菌感染疾病十分了解的学生占 4.0%,不是十分了解的学生占 64.9%,不了解的学生占 31.1%;其相应的患病率分别为 61.1%、42.4%、26.1%;对足部真菌感染疾病的了解差异与患病率差异有统计学意义($\chi^2 = 15.474, P = 0.04$)。(3)真菌培养 57 份标本,共分离出 49 株真菌,培养阳性率为 86.0%,其中男生为 90.5%,女生为 82.9%,男、女生样本培养阳性率差别无统计学意义($\chi^2 = 0.027, P = 0.870$)。(4)菌种分布皮肤癣菌 11 株,占培养阳性率的 22.4%(11/49),其中红色毛癣菌占 18.2%(2/11),须癣毛癣菌占 9.1%(1/11),石膏样小孢子菌占 63.6%(7/11);酵母菌 20 株,占培养阳性的 40.8%(20/49),以念珠菌属为主,占 80%(16/20);霉菌 20 株,占培养阳性的 40.8%(20/49)。

关键词: 真菌感染;足部;学生

A-S3-8

宿主因子 NF90 调节流感病毒复制的研究

徐亚衡¹,刘静涛¹,熊攀¹,朱立伟¹,熊梦源²;指导教师:郭阳

1. 湖北医药学院 2011 级临床医学

2. 湖北医药学院药护学院 2012 级麻醉学

【目的】 研究流感病毒的宿主因子 NF90 对流感病毒复制的影响。

【方法】 从 293T 细胞中提取总 RNA,以 Oligo(dT)反转录 cDNA。根据 Gen Bank 中 NF90 的基因序列,设计上下游引物。以转录出的 cDNA 为模板扩增出 NF90 基因。用 *EcoR* I 和 *Not* I 两种核酸内切酶对 NF90 PCR 扩增产物和 pCDNA3.1-V5-HIS 载体进行双酶切,酶切产物用高效 DNA 连接酶连接,然后鉴定选取正确的重组质粒,并命名为 pCDNA3.1-NF90-V5-HIS。把 pCDNA3.1-NF90-V5-HIS 重组质粒转染至 293T 细胞,转染 36 h 后感染流感病毒 A/WSN/1933 Moï 0.01,感染 16 h 后提取 293T 细胞的总蛋白,用蛋白质印迹法检测 pCDNA3.1-NF90-V5-HIS 重组质粒和流感病毒 NP 蛋白的表达。