

# 双组分调节系统对肺炎克雷伯菌多黏菌素耐药机制影响的研究进展



杨文丽<sup>1</sup>, 王东亮<sup>2</sup>, 冯钧帅<sup>2</sup>, 陈 莉<sup>1</sup>, 齐保立<sup>1</sup>, 史惠文<sup>1</sup>, 袁 媛<sup>2</sup>

1. 甘肃中医药大学第一临床医学院 (兰州 730000)

2. 甘肃省人民医院重症医学科 (兰州 730000)

**【摘要】**多黏菌素 (多黏菌素 B 和黏菌素) 是目前治疗多重耐药肺炎克雷伯菌的最后一种抗生素, 尤其是耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌出现以来。然而, 临床分离株中多黏菌素耐药的报告逐渐增加, 给临床治疗带来极大的挑战。肺炎克雷伯菌可通过双组分调节系统 (two-component regulatory systems, TCSs) 修饰脂多糖、mgrB 负反馈调节因子、外排泵等介导多黏菌素耐药, 在肺炎克雷伯菌多黏菌素耐药过程中扮演了重要角色。本文综述了 TCSs 信号转导的基础、激活条件及其过表达导致肺炎克雷伯菌最低抑制浓度改变的反馈通路, 阐述 TCSs 导致肺炎克雷伯菌对多黏菌素耐药的机制, 对多黏菌素的研究和发现针对临床相关肺炎克雷伯菌感染的潜在药物提供理论基础。

**【关键词】**肺炎克雷伯菌; 多黏菌素; 双组分调节系统; 耐药性

## Research progress of the effect of two-component regulatory systems on the polymyxin resistance mechanism of *Klebsiella pneumoniae*

Wen-Li YANG<sup>1</sup>, Dong-Liang WANG<sup>2</sup>, Jun-Shuai FENG<sup>2</sup>, Li CHEN<sup>1</sup>, Bao-Li QI<sup>1</sup>, Hui-Wen SHI<sup>1</sup>, Yuan YUAN<sup>2</sup>

1. First School of Clinical Medical, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

2. Department of Critical Care Medicine, Gansu Provincial Hospital, Lanzhou 730000, China

Corresponding author: Yuan YUAN, Email: lanzhouyy@163.com

**【Abstract】** Currently, polymyxin (polymyxin B and colistin) is the last antibiotic used to treat multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae*, especially after carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP) emerged. Nevertheless, with reports of polymyxin resistance in clinical isolates increased gradually, it posed a great challenge to clinical treatment. *Klebsiella pneumoniae* plays an important role in the process of polymyxin resistance in *Klebsiella pneumoniae*, mediating polymyxin resistance by modifying lipopolysaccharide (LPS), mgrB negative feedback regulators, and efflux pumps through two-component regulatory systems (TCSs). This article provides a theoretical basis for the study of polymyxin and the discovery of potential drugs for clinical relevant *Klebsiella pneumoniae* infection by reviewing the basis of signal transduction, activation conditions, and feedback pathways through which overexpression of TCSs leads to changes in the minimum inhibitory cocentration (MIC) value of *Klebsiella pneumoniae*, and elaborating the mechanism of TCSs leading to resistance of *Klebsiella pneumoniae* to polymyxin.

DOI: 10.12173/j.issn.1004-4337.202305200

基金项目: 甘肃省自然科学基金项目 (21JR1RA038)

通信作者: 袁媛, 博士, 主任医师, 硕士研究生导师, Email: lanzhouyy@163.com

<https://slyyx.whuznhmedj.com/>

【Keywords】*Klebsiella pneumoniae*; Polymyxin; Two-component regulatory systems; Antimicrobial resistance

肺炎克雷伯菌 (*Klebsiella pneumoniae*, KP) 是一种重要的人类病原体, 被归类为一种常见的机会性医院相关细菌, 涉及多种感染, 包括尿路感染、肺部感染、肝脓肿和手术伤口感染<sup>[1]</sup>。在过去十年中, 全球范围内耐多药 KP 分离株的报告显著增加。

多黏菌素 (多黏菌素 B 和黏菌素) 是于 1947 年从多黏菌芽孢杆菌中分离出的一种具有抗革兰氏阴性菌活性的多阳离子抗菌肽<sup>[2]</sup>。在 20 世纪 80 年代, 由于多黏菌素的神经毒性和肾毒性, 其应用受到限制。21 世纪初, 随着多重耐药 (multi-drug resistance, MDR) 微生物数量的增加, 尤其是碳青霉烯耐药菌的出现, 多黏菌素再次受到临床的关注<sup>[3]</sup>。多黏菌素是治疗 KP 感染的最后手段药物, 然而临床中出现了不同程度的耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌 (carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP) 耐多黏菌素的情况。2022 年中国细菌耐药监测报告数据显示, CRKP 对多黏菌素 B 的耐药率为 7.9%, 对黏菌素的耐药率为 8.2%<sup>[4]</sup>。研究显示, 双组分调节系统 (two-component regulatory systems, TCSs) 可通过感知环境变化调节 KP 对多黏菌素耐药的修饰<sup>[5]</sup>。KP 可通过 TCSs 修饰脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS)、mgrB 负反馈调节因子、外排泵等介导多黏菌素耐药。

## 1 细菌双组分调节信号转导的基础

典型的 TCSs 由一对蛋白质组成, 包括一个传感器组氨酸激酶 (histidine kinase, HK) 和一个反应调节因子 (response regulator, RR)。可变 HK n 端结构域感知环境变化, 通过结合细胞外配体或通过其他构象变化, 三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 水解触发保守的 c 端组氨酸残基的自磷酸化。HK 结合的磷酸被转移到 RR 保守的 n 端结构域的天冬氨酸残基上, RR 是一种位于细胞质中的同型二聚体蛋白, 激活 RR 的可变 c 端输出结构域, 允许其通过靶向 DNA 来调节基因组表达。通过磷酸化的信息流, 细菌能够有效感知其周围环境的变化 (营养、pH 值、渗透压、抗生素等), 并以一种允许对动态环境进行快速

反应的方式协调基因表达<sup>[5]</sup>。

## 2 TCSs对多黏菌素耐药的影响机制

细菌细胞外膜 (outer membrane, OM) 的阴离子性质是由 LPS 的存在所决定的, 它包含一个带负电荷的脂质 A 部分。LPS 是多黏菌素的初始靶点, 多黏菌素可与 LPS 的脂质 A 区域的磷酸基相互作用<sup>[2,6]</sup>。一旦附着, 多黏菌素就会通过取代二价阳离子  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  来破坏 OM, 导致细胞死亡。

当暴露在阳离子抗菌肽, 如多黏菌素 B 和黏菌素下, 细菌会通过改变 LPS 保护自己免受不利环境的刺激。暴露在阳离子抗菌肽下激活了细菌的 TCSs, 从而导致磷酸乙醇胺 (phosphoethanolamine, PEtN) 和 4-氨基阿拉伯糖 (4-aminoarabinose, L-Ara4N) 阳离子基团的合成和转移, 对 LPS 的脂质 A 进行共价修饰<sup>[7]</sup>。这些 LPS 共价修饰可以中和 OM 上的负电荷, 使 OM 带正电荷, 阻碍多黏菌素与 OM 的结合, 导致抗生素作用的减少或消失, 从而形成多黏菌素耐药<sup>[8]</sup>。

## 3 PhoP/PhoQ和PmrA/PmrB对肺炎克雷伯菌的耐药机制

在介导 KP 对多黏菌素耐药中最典型的两个 TCSs 是 PhoP/PhoQ 和 PmrA/PmrB。研究发现, 在暴露于多黏菌素的 KP 中, PhoP/PhoQ 和 PmrA/PmrB 系统表达上调<sup>[9]</sup>。Naha 等<sup>[10]</sup>的研究显示, 在多黏菌素耐药的 KP 大多数菌株的 TCSs 基因表达上调, 包括 PhoP (4~6 倍)、PhoQ (5~9 倍)、PmrA (4~13 倍) 和 PmrB (6~11 倍)。

PhoP/PhoQ 和 PmrA/PmrB 的激活是由环境刺激和 TCSs 内的特定突变触发的, 这些突变导致它们的构成激活和随后的过表达<sup>[11-12]</sup>。

### 3.1 PhoP/PhoQ系统

PhoP/PhoQ 系统是 KP 中研究最广泛的 TCSs 系统, 其在许多致病性和非致病性细菌中较为保守。

在各种致病菌中, PhoP/PhoQ 具有感知宿主细胞内信号并在感染期间调节细菌生活方式的能力<sup>[13]</sup>。反应调节因子 PhoP 在许多革兰氏阴性菌中高度保守, 传感器激酶 PhoQ 位于细胞内膜

(intracellular membrane, IM), 可通过自磷酸化对几种环境变化作出反应, 包括低 pH 值、低  $Mg^{2+}$  浓度和抗生素的存在, 然后磷酸基团被转移到反应调节因子 PhoP, 它激活了参与 LPS 修饰的下游基因的表达, 通过遗传调控对 OM 进行修饰<sup>[14-17]</sup>。

PhoP/PhoQ 系统的激活, 主要受到 *mgrB* 基因突变的负反馈系统调节作用的影响, PhoP/PhoQ 系统通过 PmrD 间接激活 PmrA/PmrB 系统来促进多黏菌素抗性<sup>[18-20]</sup>。*mgrB* 的插入失活与 PhoP/PhoQ 系统和 pmrHFIJKLM 操纵子的过表达有关, PhoP/PhoQ 系统一旦被激活, 磷酸化的 PmrA 就会结合到 pmrCAB 操纵子和 pmrHFIJKLM 操纵子的启动子区域, 增加 RNA 聚合酶的识别和结合, 并导致操纵子的上调, 介导 PEtN 与 L-Ara4N 的合成和转移到脂质 A<sup>[21]</sup>。

多黏菌素对易感表型抗性的逆转与 *PhoP* 和 *PhoQ* 基因的非同义突变相关。在智利的一项研究中, ST25 中 PhoP 的 104 位氨基酸替换、ST1161 中 PhoQ 的 A351D 氨基酸替换在黏菌素异质性耐药分离株中被检测到<sup>[22]</sup>。另外, *PhoP* 基因的 L26Q 突变可导致黏菌素耐药<sup>[23-24]</sup>。罗马尼亚的一项研究提示 *PhoP* 基因的 L4F 突变、*PhoQ* 基因的 L26Q、Q426L、L224Q、Q317K 突变也会增加黏菌素的抗性<sup>[25]</sup>。此外, Halaby 等<sup>[26]</sup> 在黏菌素异质性耐药 (colistin heteroresistant, CST-HR) 和产生超广谱  $\beta$ -内酰胺酶 (extended-spectrum beta-lactamase, ESBL) 的 KP 分离物中发现了 PhoQ 中的 A21S 替代, 使黏菌素最低抑制浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 从 2  $\mu\text{g/mL}$  增加到 16  $\mu\text{g/mL}$ , 表明该氨基酸替代在 CST-HR 的表型中发挥了重要作用。

*mgrB* 基因编码一个小的跨膜蛋白是 PhoP/PhoQ 系统的负调控因子。*mgrB* 的突变导致 PhoP/PhoQ 双组分系统上调, 进而导致 pmrCAB 和 pmrHFIJKLM 操纵子的过表达<sup>[27-29]</sup>。pmrCAB 和 pmrHFIJKLM 操纵子的上调归因于磷酸化的 PmrA, PmrA 被 PmrD 激活, 而 PmrD 反过来又被 *mgrB* 破坏导致 PhoP 磷酸化激活<sup>[9, 30]</sup>。此外, 激活的 PhoP 也可直接激活 KP 中的 pmrHFIJKLM 操纵子<sup>[31]</sup>。与 TCSs 突变 (PmrA/PmrB 或 PhoP/PhoQ) 相比, *mgrB* 突变/失活导致 KP 对多黏菌素耐药的作用更大<sup>[24]</sup>。这一结果表明, *mgrB* 在 KP 的多黏菌素耐药性中起着重要作用。印度的一

项研究发现, IS903 样和 ISKpn26 样插入元件造成的 *mgrB* 的破坏导致 KP 对黏菌素敏感性降低<sup>[32]</sup>。

有研究称 IS5 样插入元件是 KP 中 *mgrB* 破坏的主要元素, 但 ISKpn14 (IS1 家族成员) 的插入也偶有报道<sup>[33-34]</sup>。Morales-León 等<sup>[22]</sup> 的研究发现 IS5 样和 IS1 样转座子插入序列使 *mgrB* 失活, 降低了 *mgrB* 的 mRNA 水平, 从而影响多黏菌素的抗性。然而, 沙特阿拉伯的一项研究发现存在 ISKpn14、ISKpn28、IS903 导致 *mgrB* 基因破坏, 而 ISKpn14 是主要的 IS, 59% 的分离株存在 *mgrB* 基因破坏是由 ISKpn14 介导的<sup>[23]</sup>。在罗马尼亚的一项研究中, ISL3 (ISKpn25) 和 IS5 (ISKpn26) 在不同的核苷酸位置破坏 *mgrB* 基因, 增加 CPKP 的黏菌素抗性<sup>[25]</sup>。另外, 生物信息学工具预测 *mgrB* 基因 M27K 突变, 提示同样是有害的。相比之下, Liu 等<sup>[35]</sup> 研究发现, MgrB 蛋白的表达不受 M27K 突变的影响。

在 Naha 等<sup>[10]</sup> 的研究中, *mgrB* 中的氨基酸替换 (C28G, V32G) 导致突变是有害的, 影响主要功能域, 可能调节蛋白活性, 有助于黏菌素抗性的增加。*mgrB* 的失活也被证明可以通过抑制宿主防御反应的启动和限制多种抗菌肽的作用来增强 KP 分离株的毒力<sup>[36]</sup>。

### 3.2 PmrA/PmrB 系统

KP 的多黏菌素耐药也归因于 *PmrA/PmrB* 基因的突变, 该基因是另一个编码控制 L-Ara4N 和 PEtN 合成的双组分调节系统<sup>[22, 37-38]</sup>。

在大肠杆菌和肠道沙门氏菌中, PmrB 作为一种传感器细胞质膜结合激酶, 被高价铁 ( $Fe^{3+}$ ) 和酸性环境 (pH=5.5) 激活。激活后, 它通过磷酸化激活 PmrA<sup>[39]</sup>。在体内, PmrA/PmrB 参与感知环境, 帮助细菌在体内侵袭上皮细胞、在细胞内生长、细胞间扩散、诱导巨噬细胞凋亡, 并且与细菌毒力表达相关<sup>[40]</sup>。*PmrA* 或 *PmrB* 基因的突变通常会导致 PmrA 的结构性激活, 可以上调 pmrCAB 操纵子和 pmrHFIJKLM 操纵子, pmrCAB 操纵子参与 PEtN 对脂质 A 修饰, 而 pmrHFIJKLM 操纵子编码的酶负责合成和将 L-Ara4N 转移到脂质 A<sup>[40]</sup>。总的来说, PmrA 的这种构成性激活导致了更多正电荷的 LPS, 从而降低了带正电荷的多黏菌素的亲和力。

*PmrB* 基因的突变已在具有耐药性或敏感性降低的 KP 分离株中被广泛描述。一项研究显



示, CRKP 中 *PmrB* 基因 P95L、T157P、R256G、V352E 突变与黏菌素的耐药性增加相关<sup>[25]</sup>。此外, Jayol 等<sup>[41]</sup>描述了 6 个黏菌素耐药菌株的 *PmrB* 中一个单一的 T157P 氨基酸取代,而这种取代会破坏 *PmrB* 蛋白的  $\alpha$ -螺旋二级结构,并连续激活 *PmrA*,从而产生 *PmrC* 的过表达,最终导致黏菌素抗性。另一项研究在 ST25 和 ST11 中也发现了 *PmrB* 的相关氨基酸(分别是 P95L 氨基酸和 A256G 氨基酸)取代导致 KP 对黏菌素的耐药性增加<sup>[22]</sup>。而 Liu 等<sup>[35]</sup>的研究显示, *PmrB* 中的氨基取代 D313N 使黏菌素 MIC 提高到 8 mg/L,比

原菌株高 16 倍,而 *PmrB* 中的 M285L 和 *PmrA* 中的 S204L 并没有增加黏菌素对原菌株的 MIC 值。

Wand 等<sup>[42]</sup>的研究在 *PmrA* 中只发现了 G53C 突变导致黏菌素 MIC 增加到 64 mg/L。目前,关于 *PmrA* 基因突变导致多黏菌素耐药性增加的研究相对较少。

*PmrA/PmrB* 和 *PhoP/PhoQ* 的突变和构成性激活可能共同导致 *pmrCAB* 操纵子和 *pmrHFIJKLM* 操纵子的激活,从而导致多黏菌素耐药性<sup>[2,8]</sup>。与多黏菌素抗性相关的 *PhoP/PhoQ* 和 *PmrA/PmrB* 调控关系见图 1。

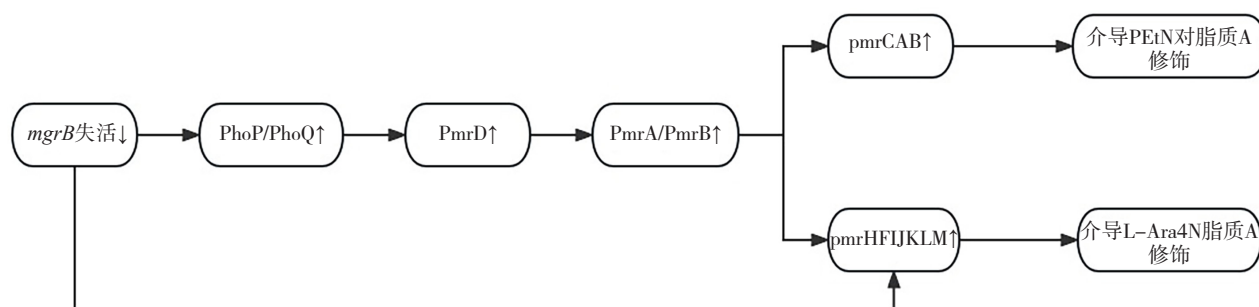


图1 与多黏菌素抗性相关的PhoP/PhoQ和PmrA/PmrB调控图

Figure 1. Regulatory plots of PhoP/PhoQ and PmrA/PmrB associated with polymyxin resistance

#### 4 其它TCSs对肺炎克雷伯菌的耐药机制

进化实验表明, KP 中多黏菌素耐药性也可能由于 *CrrB* 基因的突变而出现<sup>[43]</sup>。*CrrA/CrrB* 双组分系统通过 *PmrAB* 调控网络参与了对 *pmrHFIJKLM* 和 *CrrC* 操纵子的控制,而 *CrrB* 调控 *pmrHFIJKLM* 操纵子的表达是通过 *CrrC* 操纵子介导的<sup>[44]</sup>。研究发现,临床 *CrrB* 突变导致 L-Ara4N 和 PEtN 同时添加到脂质 A 中,诱导更高的多黏菌素抗性<sup>[45]</sup>。Naha 等<sup>[10]</sup>的研究也提示, *CrrA/CrrB* 突变导致 KP 对黏菌素产生耐药性。在罗马尼亚的一项研究中, *CrrB* 基因罕见的 P151S 替换,使异质性耐药 KP 的黏菌素 MIC > 64 mg/L<sup>[25]</sup>。另一项研究已证实 *GrrB* 基因突变可诱导 KP 对黏菌素的耐药性升高,且该研究发现 *CrrB* 基因 Q10L、Y31H、W140R、N141I 和 S195N 错义突变均会引起 KP 对黏菌素的 MIC 值增加 64~1024 倍<sup>[44]</sup>。类似地, Jayol 等<sup>[46]</sup>报道了一个具有细微差异的突变, *CrrB* 中的 P151L 赋予了黏菌素耐药性,而 Pitt 等<sup>[47]</sup>证实了同一基因中的 P158R 替换。此外, *CrrA/CrrB* 可激活 *PmrA*,而 *CrrB* 的功能获得突变可激活导致黏菌素耐药性的基因表达,而不受

*PmrA/PmrB* 系统的影响<sup>[48-49]</sup>。

KP 编码另外两种 TCSs 为 *CpxAR* 和 *PhoBR*,它们抑制 *KpnO* 孔蛋白,降低了对多种抗生素的敏感性,包括氯霉素、阿米卡星、萘啶酸和四环素<sup>[50-51]</sup>。两个 TCSs 都由于 OM 在应激状态下而激活。此外,在 KP 中 *CpxA/CpxR* 可同时上调三个 MDR RND 家族外排泵以响应 OM 应激<sup>[50]</sup>。

TCSs 对多种细菌的生存发挥着关键作用,它为细菌提供了感知和反应周围环境的不可或缺的工具。鉴于 TCSs 在细菌稳态中的重要作用以及可通过它们激活的多种抗生素耐药性机制, TCSs 是开发新的抗菌疗法的一个较好靶点<sup>[52-53]</sup>。使用预测软件来识别结合一个或多个 TCSs 以使其无效的假定化合物的能力,将是药物靶向 TCSs 的一个重要工具<sup>[54]</sup>。例如 *PmrB* 基因, 71% 的耐药性非同义突变发生在 *Hamp* (存在于组氨酸激酶、腺苷酸环化酶、甲基接受蛋白和磷酸酶) 连接子和 *DHp* (二聚化和组氨酸磷酸转移) 结构域。这些结果增强了研究人员对支持多黏菌素耐药性的调控机制的理解,并可能有助于开发新的策略来减少耐药性的出现<sup>[55]</sup>。此外,有研究显示,与对碳青霉烯类抗生素敏感的菌株相比, CRKP 中

OmpK35/36 孔蛋白减少与 EnvZ-OmpR、PhoPQ 和 BaeSR 等 TCSs 的下调有关<sup>[56]</sup>。

## 5 结语

耐多药 KP 是一项全球性的公共卫生问题。本文通过阐述 TCSs 导致 KP 对多黏菌素耐药的机制, 将 TCSs 设想为未来可能的抗菌靶点, 为规划抗击 KP 耐药性的策略提供依据, 拓宽耐药菌研究的视野, 从而为未来的研究提供更多思路, 并为临床上更加有效的治疗耐多药 KP 感染提供参考。

## 参考文献

- Navon-Venezia S, Kondratyeva K, Carattoli A. *Klebsiella pneumoniae*: a major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance[J]. FEMS Microbiol Rev, 2017, 41(3): 252–275. DOI: 10.1093/femsre/fux013.
- Aghapour Z, Gholizadeh P, Ganbarov K, et al. Molecular mechanisms related to colistin resistance in Enterobacteriaceae[J]. Infect Drug Resist, 2019, 12: 965–975. DOI: 10.2147/IDR.S199844.
- Kallel H, Bahloul M, Hergafi L, et al. Colistin as a salvage therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant bacteria in the ICU[J]. Int J Antimicrob Agents, 2006, 28(4): 366–369. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2006.07.008.
- CHINET 中国细菌耐药监测网. CHINET 2022 年上半年细菌耐药监测结果 [J/OL]. (2022-09-13) [2023-01-04]. [China Antimicrobial Surveillance Network. CHINET monitoring results of drug-resistant bacteria[J/OL]. (2022-09-13) [2023-01-04].] <http://www.chinets.com/Document/Index?pageIndex=0#>.
- Tierney AR, Rather PN. Roles of two-component regulatory systems in antibiotic resistance[J]. Future Microbiol, 2019, 14(6): 533–552. DOI: 10.2217/fmb-2019-0002.
- Moffatt JH, Harper M, Harrison P, et al. Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(12): 4971–4977. DOI: 10.1128/AAC.00834-10.
- Jayol A, Nordmann P, Brink A, et al. Heteroresistance to colistin in *Klebsiella pneumoniae* associated with alterations in the PhoPQ regulatory system[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2015, 59(5): 2780–2784. DOI: 10.1128/AAC.05055-14.
- Olaitan AO, Morand S, Rolain JM. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria[J]. Front Microbiol, 2014, 5: 643. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00643.
- Kim SY, Choi HJ, Ko KS. Differential expression of two-component systems, pmrAB and phoPQ, with different growth phases of *Klebsiella pneumoniae* in the presence or absence of colistin[J]. Curr Microbiol, 2014, 69(1): 37–41. DOI: 10.1007/s00284-014-0549-0.
- Naha S, Sands K, Mukherjee S, et al. A 12 year experience of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* causing neonatal sepsis: two-component systems, efflux pumps, lipopolysaccharide modification and comparative phylogenomics[J]. J Antimicrob Chemother, 2022, 77(6): 1586–1591. DOI: 10.1093/jac/dkac083.
- Gunn JS, Miller SI. PhoP-PhoQ activates transcription of pmrAB, encoding a two-component regulatory system involved in *Salmonella typhimurium* antimicrobial peptide resistance[J]. J Bacteriol, 1996, 178(23): 6857–6864. DOI: 10.1128/jb.178.23.6857-6864.1996.
- Trent MS, Ribeiro AA, Lin S, et al. An inner membrane enzyme in *Salmonella* and *Escherichia coli* that transfers 4-amino-4-deoxy-L-arabinose to lipid A: induction on polymyxin-resistant mutants and role of a novel lipid-linked donor[J]. J Biol Chem, 2001, 276(46): 43122–43131. DOI: 10.1074/jbc.M106961200.
- Dalebroux ZD, Miller SI. *Salmonella* PhoPQ regulation of the outer membrane to resist innate immunity[J]. Curr Opin Microbiol, 2014, 17: 106–113. DOI: 10.1016/j.mib.2013.12.005.
- Bearson BL, Wilson L, Foster JW. A low pH-inducible, PhoPQ-dependent acid tolerance response protects *Salmonella typhimurium* against inorganic acid stress[J]. J Bacteriol, 1998, 180(9): 2409–2417. DOI: 10.1128/JB.180.9.2409-2417.1998.
- Bader MW, Navarre WW, Shiau W, et al. Regulation of *Salmonella typhimurium* virulence gene expression by cationic antimicrobial peptides[J]. Mol Microbiol, 2003, 50(1): 219–230. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2003.03675.x.
- García Véscovi E, Soncini FC, Groisman EA. Mg<sup>2+</sup> as an

- extracellular signal: environmental regulation of Salmonella virulence[J]. Cell, 1996, 84(1): 165–174. DOI: [10.1016/S0092-8674\(00\)81003-x](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81003-x).
- 17 Viarengo G, Sciara MI, Salazar MO, et al. Unsaturated long chain free fatty acids are input signals of the Salmonella enterica PhoP/PhoQ regulatory system[J]. J Biol Chem, 2013, 288(31): 22346–22358. DOI: [10.1074/jbc.M113.472829](https://doi.org/10.1074/jbc.M113.472829).
- 18 Kox LF, Wosten MM, Groisman EA. A small protein that mediates the activation of a two-component system by another two-component system[J]. EMBO J, 2000, 19(8): 1861–1872. DOI: [10.1093/emboj/19.8.1861](https://doi.org/10.1093/emboj/19.8.1861).
- 19 Kato A, Latifi T, Groisman EA. Closing the loop: the PmrA/PmrB two-component system negatively controls expression of its posttranscriptional activator PmrD[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(8): 4706–4711. DOI: [10.1073/pnas.0836837100](https://doi.org/10.1073/pnas.0836837100).
- 20 Winfield MD, Groisman EA. Phenotypic differences between Salmonella and Escherichia coli resulting from the disparate regulation of homologous genes[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(49): 17162–17167. DOI: [10.1073/pnas.0406038101](https://doi.org/10.1073/pnas.0406038101).
- 21 Wösten MM, Groisman EA. Molecular characterization of the PmrA regulon[J]. J Biol Chem, 1999, 274(38): 27185–27190. DOI: [10.1074/jbc.274.38.27185](https://doi.org/10.1074/jbc.274.38.27185).
- 22 Morales-León F, Lima CA, González-Rocha G, et al. Colistin heteroresistance among extended spectrum  $\beta$ -lactamases-producing *Klebsiella pneumoniae*[J]. Microorganisms, 2020, 8(9): 1279. DOI: [10.3390/microorganisms8091279](https://doi.org/10.3390/microorganisms8091279).
- 23 Uz Zaman T, Albladi M, Siddique MI, et al. Insertion element mediated *mgrB* disruption and presence of ISKpn28 in colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from Saudi Arabia[J]. Infect Drug Resist, 2018, 11: 1183–1187. DOI: [10.2147/IDR.S161146](https://doi.org/10.2147/IDR.S161146).
- 24 Olaitan AO, Diene SM, Kempf M, et al. Worldwide emergence of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* from healthy humans and patients in Lao PDR, Thailand, Israel, Nigeria and France owing to inactivation of the PhoP/PhoQ regulator *mgrB*: an epidemiological and molecular study[J]. Int J Antimicrob Agents, 2014, 44(6): 500–507. DOI: [10.1016/j.ijantimicag.2014.07.020](https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.07.020).
- 25 Földes A, Oprea M, Székely E, et al. Characterization of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates from two romanian hospitals co-presenting resistance and heteroresistance to colistin[J]. Antibiotics (Basel), 2022, 11(9): 1171. DOI: [10.3390/antibiotics11091171](https://doi.org/10.3390/antibiotics11091171).
- 26 Halaby T, Kucukkose E, Janssen AB, et al. Genomic characterization of colistin heteroresistance in *Klebsiella pneumoniae* during a nosocomial outbreak[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60(11): 6837–6843. DOI: [10.1128/AAC.01344-16](https://doi.org/10.1128/AAC.01344-16).
- 27 Aires CA, Pereira PS, Asensi MD, et al. *mgrB* mutations mediating polymyxin B resistance in *Klebsiella pneumoniae* isolates from rectal surveillance swabs in Brazil[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60(11): 6969–6972. DOI: [10.1128/AAC.01456-16](https://doi.org/10.1128/AAC.01456-16).
- 28 Band VI, Satola SW, Burd EM, et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* exhibiting clinically undetected colistin heteroresistance leads to treatment failure in a murine model of infection[J]. mBio, 2018, 9(2): e02448–17. DOI: [10.1128/mBio.02448-17](https://doi.org/10.1128/mBio.02448-17).
- 29 Bardet L, Baron S, Leangapichart T, et al. Deciphering heteroresistance to colistin in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from Marseille, France[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2017, 61(6): e00356–17. DOI: [10.1128/AAC.00356-17](https://doi.org/10.1128/AAC.00356-17).
- 30 Cheng HY, Chen YF, Peng HL. Molecular characterization of the PhoPQ–PmrD–PmrAB mediated pathway regulating polymyxin B resistance in *Klebsiella pneumoniae* CG43[J]. J Biomed Sci, 2010, 17(1): 60. DOI: [10.1186/1423-0127-17-60](https://doi.org/10.1186/1423-0127-17-60).
- 31 Mitrophanov AY, Jewett MW, Hadley TJ, et al. Evolution and dynamics of regulatory architectures controlling polymyxin B resistance in enteric bacteria[J]. PLoS Genet, 2008, 4(10): e1000233. DOI: [10.1371/journal.pgen.1000233](https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000233).
- 32 Nirwan PK, Chatterjee N, Panwar R, et al. Mutations in two component system (PhoPQ and PmrAB) in colistin resistant *Klebsiella pneumoniae* from North Indian tertiary care hospital[J]. J Antibiot (Tokyo), 2021, 74(7): 450–457. DOI: [10.1038/s41429-021-00417-2](https://doi.org/10.1038/s41429-021-00417-2).
- 33 Cannatelli A, Giani T, D'andrea MM, et al. *MgrB* inactivation is a common mechanism of colistin resistance in KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* of clinical origin[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58(10):

- 5696–5703. DOI: [10.1128/AAC.03110-14](https://doi.org/10.1128/AAC.03110-14).
- 34 Poirel L, Jayol A, Bontron S, et al. The mgrB gene as a key target for acquired resistance to colistin in *Klebsiella pneumoniae*[J]. J Antimicrob Chemother, 2015, 70(1): 75–80. DOI: [10.1093/jac/dku323](https://doi.org/10.1093/jac/dku323).
- 35 Liu X, Wu Y, Zhu Y, et al. Emergence of colistin-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* (CoR-HvKp) in China[J]. Emerg Microbes Infect, 2022, 11(1): 648–661. DOI: [10.1080/22221751.2022.2036078](https://doi.org/10.1080/22221751.2022.2036078).
- 36 Kidd TJ, Mills G, Sá-Pessoa J, et al. A *Klebsiella pneumoniae* antibiotic resistance mechanism that subdues host defences and promotes virulence[J]. EMBO Mol Med, 2017, 9(4): 430–447. DOI: [10.15252/emmm.201607336](https://doi.org/10.15252/emmm.201607336).
- 37 Seo J, Wi YM, Kim JM, et al. Detection of colistin-resistant populations prior to antibiotic exposure in KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates[J]. J Microbiol, 2021, 59(6): 590–597. DOI: [10.1007/s12275-021-0610-1](https://doi.org/10.1007/s12275-021-0610-1).
- 38 Cheong HS, Kim SY, Wi YM, et al. Colistin heteroresistance in *Klebsiella Pneumoniae* isolates and diverse mutations of PmrAB and PhoPQ in resistant subpopulations[J]. J Clin Med, 2019, 8(9): 1444. DOI: [10.3390/jcm8091444](https://doi.org/10.3390/jcm8091444).
- 39 Falagas ME, Rafailidis PI, Matthaiou DK. Resistance to polymyxins: mechanisms, frequency and treatment options[J]. Drug Resist Updat, 2010, 13(4–5): 132–138. DOI: [10.1016/j.drup.2010.05.002](https://doi.org/10.1016/j.drup.2010.05.002).
- 40 Gunn JS. The Salmonella PmrAB regulon: lipopolysaccharide modifications, antimicrobial peptide resistance and more[J]. Trends Microbiol, 2008, 16(6): 284–290. DOI: [10.1016/j.tim.2008.03.007](https://doi.org/10.1016/j.tim.2008.03.007).
- 41 Jayol A, Poirel L, Brink A, et al. Resistance to colistin associated with a single amino acid change in protein PmrB among *Klebsiella pneumoniae* isolates of worldwide origin[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58(8): 4762–4766. DOI: [10.1128/AAC.00084-14](https://doi.org/10.1128/AAC.00084-14).
- 42 Wand ME, Bock LJ, Sutton JM. Retention of virulence following colistin adaptation in *Klebsiella pneumoniae* is strain-dependent rather than associated with specific mutations[J]. J Med Microbiol, 2017, 66(7): 959–964. DOI: [10.1099/jmm.0.000530](https://doi.org/10.1099/jmm.0.000530).
- 43 Cain AK, Boinett CJ, Barquist L, et al. Morphological, genomic and transcriptomic responses of *Klebsiella pneumoniae* to the last-line antibiotic colistin[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 9868. DOI: [10.1038/s41598-018-28199-y](https://doi.org/10.1038/s41598-018-28199-y).
- 44 Cheng YH, Lin TL, Lin YT, et al. Amino acid substitutions of CrrB responsible for resistance to colistin through CrrC in *Klebsiella pneumoniae*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60(6): 3709–3716. DOI: [10.1128/AAC.00009-16](https://doi.org/10.1128/AAC.00009-16).
- 45 McConville TH, Annavajhala MK, Giddins MJ, et al. CrrB positively regulates high-level polymyxin resistance and virulence in *Klebsiella pneumoniae*[J]. Cell Rep, 2020, 33(4): 108313. DOI: [10.1016/j.celrep.2020.108313](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108313).
- 46 Jayol A, Nordmann P, André C, et al. Evaluation of three broth microdilution systems to determine colistin susceptibility of Gram-negative bacilli[J]. J Antimicrob Chemother, 2018, 73(5): 1272–1278. DOI: [10.1093/jac/dky012](https://doi.org/10.1093/jac/dky012).
- 47 Pitt ME, Elliott AG, Cao MD, et al. Multifactorial chromosomal variants regulate polymyxin resistance in extensively drug-resistant *Klebsiella pneumoniae*[J]. Microb Genom, 2018, 4(3): e000158. DOI: [10.1099/mgen.0.000158](https://doi.org/10.1099/mgen.0.000158).
- 48 Gogry FA, Siddiqui MT, Sultan I, et al. Current update on intrinsic and acquired colistin resistance mechanisms in bacteria[J]. Front Med (Lausanne), 2021, 8: 677720. DOI: [10.3389/fmed.2021.677720](https://doi.org/10.3389/fmed.2021.677720).
- 49 Binsker U, Käsbohrer A, Hammerl JA. Global colistin use: a review of the emergence of resistant Enterobacterales and the impact on their genetic basis[J]. FEMS Microbiol Rev, 2022, 46(1): fuab049. DOI: [10.1093/femsre/fuab049](https://doi.org/10.1093/femsre/fuab049).
- 50 Srinivasan VB, Vaidyanathan V, Mondal A, et al. Role of the two-component signal transduction system CpxAR in conferring cefepime and chloramphenicol resistance in *Klebsiella pneumoniae* NTUH-K2044[J]. PLoS One, 2012, 7(4): e33777. DOI: [10.1371/journal.pone.0033777](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033777).
- 51 Srinivasan VB, Venkataramaiah M, Mondal A, et al. Functional characterization of a novel outer membrane porin KpnO, regulated by PhoBR two-component system in *Klebsiella pneumoniae* NTUH-K2044[J]. PLoS One, 2012, 7(7): e41505. DOI: [10.1371/journal.pone.0041505](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041505).
- 52 Worthington RJ, Blackledge MS, Melander C. Small-molecule inhibition of bacterial two-component systems to combat antibiotic resistance and virulence[J]. Future Med Chem, 2013, 5(11): 1265–1284. DOI: [10.4155/fmc.13.58](https://doi.org/10.4155/fmc.13.58).
- 53 Milton ME, Minrovic BM, Harris DL, et al. Re-sensitizing

- multidrug resistant bacteria to antibiotics by targeting bacterial response regulators: characterization and comparison of interactions between 2-aminoimidazoles and the response regulators BfmR from *Acinetobacter baumannii* and QseB from *Francisella* spp[J]. *Front Mol Biosci*, 2018, 5: 15. DOI: [10.3389/fmolb.2018.00015](https://doi.org/10.3389/fmolb.2018.00015).
- 54 Bem AE, Velikova N, Pellicer MT, et al. Bacterial histidine kinases as novel antibacterial drug targets[J]. *ACS Chem Biol*, 2015, 10(1): 213–224. DOI: [10.1021/cb5007135](https://doi.org/10.1021/cb5007135).
- 55 Huang J, Li C, Song J, et al. Regulating polymyxin resistance in gram-negative bacteria: roles of two-component systems PhoPQ and PmrAB[J]. *Future Microbiol*, 2020, 15(6): 445–459. DOI: [10.2217/fmb-2019-0322](https://doi.org/10.2217/fmb-2019-0322).
- 56 Zhang K, Liu L, Yang M, et al. Reduced porin expression with EnvZ–OmpR, PhoPQ, BaeSR two-component system down-regulation in carbapenem resistance of *Klebsiella pneumoniae* based on proteomic analysis[J]. *Microb Pathog*, 2022, 170: 105686. DOI: [10.1016/j.micpath.2022.105686](https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105686).

收稿日期: 2023 年 05 月 31 日 修回日期: 2023 年 07 月 26 日  
本文编辑: 李 阳 黄 笛

引用本文: 杨文丽, 王东亮, 冯钧帅, 等. 双组分调节系统对肺炎克雷伯菌多黏菌素耐药机制影响的研究进展[J]. 数理医药学杂志, 2023, 36(10): 779–786. DOI: [10.12173/j.issn.1004-4337.202305200](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-4337.202305200)  
Yang WL, Wang DL, Feng JS, et al. Research progress of the effect of two-component regulatory systems on the polymyxin resistance mechanism of *Klebsiella pneumoniae*[J]. *Journal of Mathematical Medicine*, 2023, 36(10): 779–786. DOI: [10.12173/j.issn.1004-4337.202305200](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-4337.202305200)