

• 综述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.22.045

金黄色葡萄球菌对喹诺酮类药物耐药研究进展*

刘敏¹, 刘秀芬¹, 于慧²综述, 王占黎^{1,2△}审校

1. 内蒙古自治区包头医学院公共卫生学院, 内蒙古包头 014040; 2. 内蒙古自治区疾病相关生物标志物重点实验室, 内蒙古包头 014030

关键词: 金黄色葡萄球菌; 喹诺酮类; 耐药

中图分类号: R446.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2020)22-3363-04

喹诺酮类抗菌药物具有广谱活性和多种临床适应证, 口服吸收和组织渗透良好, 在人体中的药代动力学参数优良, 在治疗多种感染中具有较高的临床效力, 成为了世界上应用最广泛的抗菌药物之一。随着喹诺酮类药物在临床上大范围、不规范地使用, 金黄色葡萄球菌(以下简称“金葡菌”)耐药问题越来越严重。为有效解决这一问题, 本文从金葡菌的耐药现状、耐药机制及应对措施等方面进行综述和展望。

1 耐药现状

金葡菌是临床最常见的革兰阳性菌, 具有多种毒力因子, 并具有对大多数抗菌药物产生耐药性的能力。近年来, 由于抗菌药物的滥用, 导致金葡菌耐药情况严峻, 有研究发现耐甲氧西林金葡菌(MRSA)不仅对β-内酰胺类抗菌药物耐药, 而且对喹诺酮类同样具有耐药性^[1-2]。据中国细菌耐药监测网(CHINET)2018 年对全国 44 所三级甲等医院监测结果显示, MRSA 对喹诺酮类药物中的环丙沙星耐药率为 36.7%, 对左氧氟沙星耐药率高达 41.3%, MRSA 平均检出率为 34.0%, 同时监测结果显示 MRSA 对喹诺酮类抗菌药物耐药程度远远高于甲氧西林敏感金葡菌(MSSA)。统计调查显示^[3-4], 孟加拉国 2004 年至 2018 年期间金葡菌对环丙沙星的耐药率高达 41.4%~68.3%。埃塞俄比亚 2015—2018 年金葡菌对环丙沙星耐药率为 13.5%~23.7%。

2 药物发展史及作用机制

喹诺酮类抗菌药物的开发历史源于 1962 年科学家开发的萘啶酸(NA), 由此诞生第 1 代喹诺酮类药物, 但由于其仅具有对革兰阴性菌的适度活性且口服吸收率低, 所以仅用于治疗单纯性尿路感染^[5]。此后直至 20 世纪 70 年代, 一系列第 2 代喹诺酮类药物相继被开发问世, 最具代表的是吡哌酸(PPA), PPA 将哌嗪基团引入作为喹诺酮核的 C7 位的碱性部分。与第 1 代相比, 药物的活性谱范围广得多, 药代动力学得到改善, 改善了对革兰阴性菌的活性, 使抗菌谱扩大并包括铜绿假单胞菌。此外, PPA 基本的哌嗪环,

可以与 C3 位的羧酸形成两性离子, 增加药物渗透细菌细胞的能力, 从而提高对革兰阳性菌的活性。20 世纪 80 年代初, 通过支架药物设计和基本侧链突破的第一个氟喹诺酮类药物诺氟沙星(NFLX)成为第 3 代喹诺酮类药物的代表, NFLX 是一种六氟化喹诺酮, 在 C7 位具有哌嗪基, 与以往喹诺酮类药物有显著的差异, 其抗菌谱更广且具有更强的杀菌及细胞穿透能力^[6], 在治疗多种感染方面具有很高的临床疗效。20 世纪 90 年代至今, 以莫西沙星、氨氟沙星等为代表的第 4 代喹诺酮类药物在原有基础上, 提高了抗厌氧菌活性以及对光的耐受性, 其抗菌效果及抗菌谱均有所增加。目前, 奥泽沙星、非那沙星等新开发的喹诺酮类药物被证实, 在 pH 值降低的环境下对包括耐喹诺酮类药物的 MRSA 在内的 7 类菌株具有较强的抗菌活性^[7]。

研究表明喹诺酮类药物通过破坏细菌 DNA 合成过程中具有解旋作用的拓扑异构酶 II 型酶(即 DNA 促旋酶和拓扑异构酶 IV)的活性来阻断 DNA 复制以达到抑菌的效果。前者有 A、B 两个亚单位, A-亚单位在合成过程中切开染色体 DNA 一条后链从而形成切口, B-亚单位催化产生 ATP 使 DNA 前链后移, A-亚单位再将切口封闭形成负超螺旋结构。喹诺酮类药物通过非碱基配对的方式与 A-亚单位结合, 使 DNA 超螺旋结构不能封口, 单链暴露, 细菌染色体出现不可逆损伤, 进而致使细菌死亡^[8]。后者为解链酶, 是喹诺酮类药物作用于金葡菌的主要细胞毒性靶标, 药物与之结合形成喹诺酮类药物-DNA-拓扑异构酶三元复合物, 阻断细菌 DNA 复制, 从而起到杀菌作用。

3 耐药机制

3.1 药物靶酶及编码基因的突变 两种药物靶酶分别由 gyr A、gyr B 和 grl A、grl B 基因编码。通常由于靶酶中的 gyr A 和 grl A 基因局部结构域中产生一种或两种的抗性突变, 致使药物与酶-DNA 复合物的结合能力降低, 不能有效切断金葡菌 DNA 的复制和

* 基金项目: 国家自然科学基金(81660048)。

△ 通信作者, E-mail: Wang.zhanli@hotmail.com。

转录过程,进而导致耐药的产生。SANFILIPPO 等^[9] 研究显示突变主要位于酶的 *gyrA* 或 *grlA* 的氨基末端结构域上。徐洁等^[10]关于金葡菌对环丙沙星耐药与 *gyrA*、*grlA* 基因突变相关性的研究显示 *gyrA* 和 *grlA* 突变是金葡菌对环丙沙星耐药的重要原因,同时研究表明当 *gyrA* 和 *grlA* 同时发生多点突变时,则会导致菌株高水平耐药。有研究显示喹诺酮类药物对金葡菌作用的首要靶酶是拓扑异构酶 IV^[11],其 *grlA* 基因最为常见的突变位点是 Ser-80→Phe 和 Glu-84→Lys。也有研究发现一些对喹诺酮类药物耐药的金葡菌株中存在 *grlB* 和 *gyrB* 基因突变,但仅在 *gyrA* 和 *grlA* 发生突变的情况下出现^[12],故这些突变与菌株耐药性的关系尚不明确。

3.2 外排泵基因的过度表达 金葡菌无外膜及膜孔蛋白,其摄入喹诺酮类药物的主要方式是脂质膜的简单扩散,因此有效的外向转运蛋白是降低细胞药物浓度的主要手段。研究显示 Nor A、Nor B 和 Nor C 外排泵的过表达是导致药物在菌体内累积浓度过低的主要原因^[13-14]。Nor A 外排泵是由 Nor A 蛋白介导,其编码基因 *norA* 普遍存在于金葡菌染色体中,属于内源性结构基因。研究显示^[13]当细胞环境中喹诺酮类药物长期反复存在时,可使 *norA* 基因表达过度,进而致使 Nor A 蛋白表达明显增强,外排功能增加,导致如诺氟沙星、环丙沙星等亲水性喹诺酮类药物在菌体内蓄积量过少而产生耐药性。Nor B 外排泵是由 *norB* 基因编码的一个分子质量约为 49 ku 的蛋白质,当 Nor B 过表达时可将诺氟沙星和环丙沙星泵出,除此之外,它还可以识别莫西沙星和司帕沙星导致这两种抗菌药物的最小抑菌浓度(MIC)值增加。Nor C 外排泵与 NorB 具有基本同源性,其外排作用由 Nor C 蛋白介导。研究证实^[14]*norC* 基因过度表达可使诺氟沙星和莫西沙星的 MIC 值增加四倍,环丙沙星和司帕沙星的 MIC 值增加两倍,从而导致菌体对喹诺酮类药物产生一定程度耐药。

3.3 质粒介导的耐药 质粒介导的喹诺酮耐药性(PMQR)发现相对较晚。目前已经发现的 PMQR 机制有三种:第一种是喹诺酮抗性蛋白基因家族(*qnr*)。*qnr* 基因编码的 Qnr 蛋白可优先结合到靶酶上,使药物结合位点构象改变从而不能有效地与之结合,保护细菌免受药物的攻击。同时还通过减少染色体靶酶数量来避免细菌被药物抑制^[15]。第二种是氨基糖苷乙酰转移酶[*aac(6')-Ib-cr*]。它是由 Trp-102→Arg 和 Asp-179→Tyr 突变产生的衍生物,对卡那霉素、妥布霉素等氨基糖苷有活性,同时也能够在哌嗪基环上用氨基氮将氟喹诺酮类药物乙酰化^[16]。第三种是质粒介导外排泵(Qep A 和 OqxAB)。QepA 可降低亲水性喹诺酮类药物的易感性,特别是环丙沙星和诺氟沙星。OqxAB 可介导低水平的喹诺酮耐药,同时

还可帮助细菌在低浓度的喹诺酮下存活,进而促进细菌向高水平耐药发展^[17]。据目前检测报道显示携带 OqxAB 基因主要是肠杆菌科,尚未在革兰阳性菌株中发现该基因。王丽华等^[18]在动物源金葡菌中首次发现质粒介导的喹诺酮类耐药基因 *qnrS1*、*qnrD*、*aac(6')-Ib-cr* 和 *oqxA*,同时说明耐药基因可在不同菌种之间传播,加大控制菌株耐药传播的难度。

4 应对措施

喹诺酮类药物作为继头孢菌素类药物之后临床使用最广泛的抗菌药物之一,在治疗感染性疾病中发挥了巨大的作用。据统计,目前全球使用过喹诺酮疗法的患者超 10 亿人次。但过量使用抗菌药物是耐药性的主要驱动力,随着喹诺酮类药物的大量使用,金葡菌对喹诺酮类药物的耐药情况严重,因此寻求有效途径控制细菌耐药性是我们一直在解决的全球问题。

4.1 合理使用抗菌药物 合理使用抗菌药物无疑是最根本的解决途径,可通过制订和落实抗菌药物临床管理规范及相关政策来控制抗菌药物的使用量进而遏制细菌耐药性的产生。2011 年卫生部在全国范围内发起合理使用抗菌药物运动,并于 2012 年颁布实施了包括抗菌药物选择、采购、使用及监测等在内的综合性法规《抗菌药物临床应用管理办法》,同时更新了公立医院临床实践中抗菌药物使用的国家指南,有效地降低了公立医院的抗菌药物使用量及患者的医疗负担,但在基层医疗机构和县级医院并未产生明确的效果。在对全国抗菌药物管理行动的评估结果显示 65 家公立医院住院和门诊患者的抗菌药物处方率分别从 62.9%和 26.4%降低至 35.3%和 12.9%^[19],抗菌药物的使用密度从 76.6 DDD/100 床日降低至 35.9 DDD/100 床日,患者的抗菌药物费用显著降低。此外有研究显示^[20]我国某三级医院总抗菌药物使用密度由 2014 年的 50.66 DDD/100 床下降到 2018 年的 44.28 DDD/100 床,同时表明抗菌药物使用率与耐药性存在正相关关系。

4.2 研发新药 研发新型药物亦是控制金葡菌的有效途径之一。近年来,大批新型喹诺酮类药物相继问世,如德拉沙星作为新型氟喹诺酮类药物对金葡菌具有较强的抗菌活性,已于 2017 年 6 月批准上市^[21];苹果酸奈诺沙星是 TaiGen 生物技术公司研发的新型不含氟的喹诺酮类药物,研究显示对金葡菌具有抗菌活性,已于 2016 年 6 月批准上市^[22];新型非氟化喹诺酮类药物奥泽沙星被证实对耐那地沙星或左氧氟沙星的 MRSA 保持有效的抗菌活性,于 2017 年 12 月获得美国 FDA 批准上市。除此之外,中药治疗由于安全性高、成本低成为对抗耐药菌株的新思路,复方黄连制剂对耐药金葡菌的 *gyrA* 基因突变具有回复突变作用。实验证明黄芩提取物、香青兰乙酸乙酯提取物对多重耐药金葡菌具有良好的抑菌作用^[23-24]。REU-

VEN 等^[25]证实金缕梅和绿茶提取物具有抗金葡菌的作用,且二者组合可增强其抗菌作用。

4.3 联合用药 使用两种或两种以上抗菌药物可以利用多种抗菌机制的相加或协同作用有效抑制细菌对喹诺酮类药物产生耐药性。同时,带有辅助剂的抗菌药物也可以有效抑制耐药菌株,因为辅助剂可以增加抗菌药物对目标物的接触^[26]。NASTARAN 等^[27]经实验证明 Fe₃O₄@Ag 纳米复合材料可以作为一种有效的药物耐药抑制剂。Fe₃O₄@Ag 纳米复合材料与抗菌药物在降低 MIC 方面具有协同作用,同时在该纳米复合材料存在的情况下,norA 和 norB 基因的表达较对照降低了两倍以上。PEDRO 等^[28]研究发现噻唑(NJ)16 和 NJ17 联合诺氟沙星能够完全恢复诺氟沙星对耐药金葡菌的抗菌活性。ABD EL-BAKY 等^[29]研究发现酮康唑对金葡菌无抑菌作用,但与左氧氟沙星联用可通过体外抑制外排泵和生物膜的形成来抑制 norA 基因表达,进而增强氟喹诺酮类药物对多重耐药金葡菌的抗菌活性。研究显示菘蓝、黄芩与环丙沙星联合使用可产生协同作用有效对抗金葡菌,苋菜提取物具有抑制耐喹诺酮类药物的金葡菌 norA 外排泵过表达的作用,可作诺氟沙星的活性增强剂用于对抗耐氟喹诺酮金葡菌引起的感染^[30]。

5 展 望

抗菌药物的非理性使用致使金葡菌对喹诺酮类药物耐药形势严峻。近年来,随着卫生系统改革的不断深入,我国抗菌药物管理工作取得一定成效,有效地降低了公立医院抗菌药物的使用率,但对于基层医疗机构和县级医院效果甚微,仍应进一步规范抗菌药物的临床使用。此外,探索新型抗菌药物同样至关重要,越来越多的草本植物被证实具有抗菌作用,但对其作用机制尚未明确不能有效地应用于临床,因此,仍需进一步深入研究和探索。

参考文献

[1] GUO Y Z, CUI X Y, ZHAO J R, et al. Potent anti-MRSA activity and synergism with aminoglycosides by flavonoid derivatives from the root barks of *Morus alba*, a traditional Chinese medicine[J]. Medl Chem Res, 2019, 28(9): 1547-1556.

[2] OKWU M U, OLLEY M, AKPOKA A O, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and anti-MRSA activities of extracts of some medicinal plants: A brief review[J]. AIMS Microbiol, 2019, 5(2): 117-137.

[3] IFTEKHAR A, BODIUZZAMAN R, SAKINA S. Antibiotic resistance in Bangladesh: a systematic review[J]. Int J Infect Dis, 2019, 80(1): 54-61.

[4] MEKONNEN S, FITSUM W, TEWODROS T, et al. Resistance profile of clinically relevant bacterial isolates against fluoroquinolone in Ethiopia: a systematic review

and meta-analysis [J]. BMC Pharmacol Toxicol, 2018, 19(1): 86.

[5] 盛利君, 陈小乐, 张燕等. 喹诺酮类药物的研究与应用进展[J]. 山东化工, 2018, 47(13): 42-43.

[6] 汪阿鹏, 冯连顺. 氟喹诺酮类抗菌药的最新研究进展[J]. 国外医药(抗生素分册), 2019, 40(3): 171-179.

[7] BELA K, DOMOKOS J, SZABO D. Chemical structure and pharmacokinetics of novel quinolone agents represented by avarofloxacin, delafloxacin, finafloxacin, zabofloxacin and nemonoxacin[J]. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2016, 15(1): 34.

[8] TAKAHASHI H, HAYAKAWA I, AKIMOTO T. The history of the development and changes of quinolone antibacterial agents[J]. Yakushigaku Zasshi, 2003, 38(2): 161-179.

[9] SANFILIPPO C M, HESJE C K, HAAS W, et al. Topoisomerase mutations that are associated with high-level resistance to earlier fluoroquinolones in *Staphylococcus aureus* have less effect on the antibacterial activity of besifloxacin [J]. Chemotherapy, 2011, 57(4): 363-371.

[10] 徐洁, 施春雷, 许学斌, 等. 上海市食源性金黄色葡萄球菌环丙沙星耐药性的形成与 gyrA, grlA 基因突变的相关性[J]. 中国食品学报, 2015, 15(11): 148-153.

[11] LEV O, RACHEL F K, JAMES R J, et al. Analysis of mutational patterns in quinolone resistance-determining regions of GyrA and ParC of clinical isolates[J]. Int J Antimicrob Agents, 2019, 53(3): 318-324.

[12] CORREIA S, POETA P, HEBRAUD M, et al. Mechanisms of quinolone action and resistance: where do we stand? [J]. J Med Microbiol, 2017, 66(5): 551-559.

[13] MANJUSHA L, PARVATHI A, JONES A, et al. Modulation of antimicrobial efflux pumps of the major facilitator superfamily in *Staphylococcus aureus*[J]. AIMS Microbiol, 2018, 4(1): 1-18.

[14] 孟圆, 孔德民, 罗红. 金黄色葡萄球菌耐药基因及新型抗菌药物的研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2019, 31(5): 595-600.

[15] LI X J, ZHANG Y J, ZHOU X T, et al. The plasmid-borne quinolone resistance protein QnrB, a novel DnaA-binding protein, increases the bacterial mutation rate by triggering DNA replication stress [J]. Mol Microbiol, 2019, 111(6): 1529-1543.

[16] MATTHEW W V, CHI H P, SUBRAY S H, et al. Mechanistic and structural analysis of aminoglycoside N-acetyltransferase AAC(6')-Ib and its bifunctional, fluoroquinolone-active AAC(6')-Ib-cr variant [J]. Biochemistry, 2008, 47(37): 9825-9835.

[17] 牟豪, 王豪举, 丁红雷. 喹诺酮外排泵耐药基因 oqxAB 的耐药机制及其流行情况[J]. 微生物学通报, 2019, 46(6): 1510-1519.

[18] 王丽华, 吕殿红, 张荟, 等. 质粒介导的喹诺酮耐药基因在动物源金黄色葡萄球菌的流行分布[J]. 中国兽医学报, 2014, 34(4): 606-612.

- [19] ZENG S S, XU Z J, WANG X, et al. Time series analysis of antibacterial usage and bacterial resistance in China: observations from a tertiary hospital from 2014 to 2018 [J]. *Infect Drug Resist*, 2019, 12(20):2683-2691.
- [20] BAO L D, PENG R, WANG Y, et al. Significant reduction of antibiotic consumption and patients costs after an action plan in China, 2010-2014 [J]. *PLoS One*, 2015, 10(3):e0118868.
- [21] 李双, 王琳, 杨君义, 等. 抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的新型氟喹诺酮类药物德拉沙星[J]. *中国新药杂志*, 2018, 27(19):2227-2231.
- [22] 陈静. 新型无氟喹诺酮——苹果酸奈诺沙星[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2018, 41(4):320.
- [23] 王鑫, 秦宇宁, 曹雪莹等. 黄芩提取物对耐药性金黄色葡萄球菌的抑菌效果[J]. *科技资讯*, 2018, 16(8):204.
- [24] YU H, LIU M, LIU Y, et al. Antimicrobial activity and mechanism of action of dracocephalum moldavica l. extracts against clinical isolates of *Staphylococcus aureus* [J]. *Frontiers in microbiology*, 2019, 10(10):1249-1251.
- [25] REUVEN R, ADEL M, HWANG Y C, et al. In-Vitro inhibition of staphylococcal pathogenesis by witch-hazel and green tea extracts[J]. *Antibiotics*, 2019, 8(4):244-246.
- [26] GUPTA V, DATTA P. Next-generation strategy for treating drug resistant bacteria: antibiotic hybrids[J]. *In-dian J Med Res*, 2019, 149(2):97-106.
- [27] NASTARAN S, ZEINAB M S, AKRAM S N, et al. Biosynthesis of Fe₃O₄@Ag nanocomposite and evaluation of its performance on expression of nora and norb efflux pump genes in ciprofloxacin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *Bio Trace Elem Res*, 2019, 191(2):522-530.
- [28] PEDRO S P, MARIA C A, PEDRO P M, et al. Thiazolidinedione and thiazole derivatives potentiate norfloxacin activity against NorA efflux pump over expression in *Staphylococcus aureus* 1199B strains[J]. *Bio Amp Med Chem*, 2019, 27(17):3797-3804.
- [29] ABD EL-BAKY R M, SANDLE T, JOHN J, et al. A novel mechanism of action of ketoconazole: inhibition of the NorA efflux pump system and biofilm formation in multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Infect Drug Resist*, 2019, 12(15):1703-1718.
- [30] YANG Z C, WANG B C, YANG X S, et al. The synergistic activity of antibiotics combined with eight traditional Chinese medicines against two different strains of *Staphylococcus aureus* [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2005, 41(2/3):79-81.

(收稿日期:2020-03-07 修回日期:2020-08-27)

• 综述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.22.046

儿童重症肌无力血清相关抗体研究进展

范杨谨伊 综述, 洪思琦[△] 审校

重庆医科大学附属儿童医院神经内科/儿童发育疾病研究教育部重点实验室/

国家儿童健康与疾病临床医学研究中心/儿科发育重大疾病国家国际科技合作基地/认知发育与学习记忆障碍转化医学重庆市重点实验室, 重庆 400014

关键词:重症肌无力; 血清相关抗体; 儿童**中图分类号:**R746.1**文献标志码:**A**文章编号:**1672-9455(2020)22-3366-04

重症肌无力(MG)是累及神经-肌肉接头的自身免疫系统疾病。位于神经-肌肉接头突触后膜中的乙酰胆碱受体是MG产生的关键。MG受到乙酰胆碱受体抗体调节,免疫复合物会影响神经-肌肉接头传递,属于T细胞免疫的多补体、抗体参与的疾病^[1]。流行病学研究发现,我国MG患病人群为100万,每年新增MG患者占千分之八,女性和男性的比例为3:2,发病年龄具有不确定性,MG患者在5岁以下为高发群体,部分MG患者会出现胸腺异常^[2]。多数MG患者发病原因与遗传因素有关,部分患者发病与机体免疫、感染等因素相关。MG临床主要表现为部分或全身骨骼肌群出现无力现象,活动后症状加重,休息后可缓解。最常见的首发症状是由于眼外肌无力引发的上睑下垂或复视,严重时可能出现发音困难、

饮水呛咳等,也会引起其他并发疾病出现。目前,临床治疗MG的方法逐渐增多,血清相关抗体的检测在该病的诊治中发挥重要作用,可以作为MG分型的生物学标志物。因此,本文对儿童MG血清相关抗体的研究进行如下综述。

1 儿童MG血清相关抗体

1.1 抗乙酰胆碱受体抗体(AChR-Ab) AChR-Ab主要分布于血清免疫球蛋白(Ig)G1和IgG3亚群,通过与突触后膜中的乙酰胆碱受体(AChR)结合,活化补体瀑布式反应,增加突触后膜损伤,削弱信号传导能力,导致肌无力发生。有研究发现,MG患者血清AChR-Ab阳性率高达82.40%,合并胸腺异常的MG患者AChR-Ab阳性率为96.11%,特异度为100.00%^[3]。作用于AChR-Ab的 α 亚群抗体与其他

[△] 通信作者, E-mail: siqihong@hotmail.com。

亚群抗体相比, MG 病情更严重, 提示 AChR-Ab 亚群类型与 MG 病情具有相关性, 而 AChR-Ab 滴度水平与 MG 病情无相关性。NOVELLA-NAVARRO 等^[4]采用利妥昔单抗治疗 AChR-Ab 抗体阳性 MG 患者, 能够高效降低 AChR-Ab 水平。HOWARD 等^[5]采用依库丽单抗治疗全身性的 AChR-Ab 阳性 MG 患者, 能够有效改善患者肌无力等临床症状, 且安全性高。对 MG 患者进行随机试验, 采用单剂量的 Tiraseptiv 治疗 AChR-Ab 阳性的 MG 患者, 缓解率高于安慰剂组患者。在动物实验中, 研究者采用 AChR-Fc 治疗 AChR-Ab 阳性的 MG 大鼠, 能改善大鼠的肌无力, 并具有浓度依赖性^[6]。目前, 采用放射性免疫沉淀法和酶联免疫吸附试验法均可以检测 AChR-Ab, 特异度和准确率均较高。

1.2 肌肉特异性酪氨酸激酶抗体 (MuSK-Ab) 肌肉特异性酪氨酸激酶 (MuSK) 属于神经-肌肉接头发育的必备神经源性蛋白受体之一, 常表达在发育较好的神经-肌肉接头处, 对蛋白有聚合作用, 可将 AChR 介导至突触后膜内。MuSK-Ab 主要是通过降低突触后膜数量, 减少自身信号进行传导进而诱发 MG 产生。MuSK-Ab 的阳性率为 1%~10%, 多数患者 MuSK-Ab 阳性表达属于 IgG4 类。MuSK-Ab 阳性以青年女性为主, 儿童阳性率较低, 呈现波动性肌无力, 可累及脊髓和面部, 重者可出现呼吸困难^[7]。于慧丹^[8]研究表明, 对 MuSK-Ab 阳性 MG 患者进行乙酰胆碱抑制和免疫球蛋白治疗效果往往不佳, 而采用激素及血浆置换术进行治疗效果较好, 且应用抗淋巴瘤的环磷酰胺药物和治疗恶性肿瘤的利妥昔单抗治疗效果均较好。有文献发现, ColQ-MuSK 之间相互作用是导致胆碱酯酶抑制剂应用效果较差的原因之一^[9]。利妥昔单抗治疗血清抗 MuSK-Ab 抗体阳性的难治性 MG 的临床症状改善率为 73%^[10]。王化冰等^[11]研究认为, 糖皮质激素和静脉丙种球蛋白治疗反应较好, 半年后随访肌肉萎缩率及 MuSK-Ab 阳性率降低。目前, 对 MuSK-Ab 的检测方法为放射免疫沉淀法。

1.3 低密度脂蛋白 4 抗体 (LRP4-Ab) 低密度脂蛋白 4 (LRP4) 是跨膜蛋白, 有较长的胞外域, 包含多种低密度脂蛋白, 在骨骼肌及突触后膜中存在。LRP4-Ab 是 MuSK 和聚合蛋白的受体, 能够激活 LRP4-MuSK 信号, 促进 AChR 聚集及突触后膜分化。研究表明, LRP4-Ab 是 MG 致病性的抗体, 会导致神经和肌肉功能障碍^[12]。LRP4-Ab 阳性率为 1%~5%, 在 AChR、MuSK 均是阴性的前提下检测出的阳性率为 10%~15%。LRP4-Ab 阳性的 MG 患者主要的临床症状为四肢无力和慢性进展性的脊髓麻痹, 但尚无 MG 及胸腺异常等报道^[13]。KONECZNY 等^[14]研究发现, 当机体出现呼吸不畅但是均未出现四

肢无力时, 应考虑为 LRP4-Ab 阳性 MG。宋道阳^[15]发现, 对于高度怀疑 MG 患者应该采用 LRP4-Ab 检测。LRP4-Ab 阳性 MG 患者与 MuSK-Ab 阳性部分相似, 采用胆碱酯酶及免疫蛋白治疗疗效一般。采用激素及免疫抑制剂他克莫司效果较好。李媛^[16]研究表明, 对 LRP4-Ab 阳性 MG 患者进行胸腺异常治疗后, 患者四肢无力及呼吸不畅症状显著改善。有研究报道, 在肌肉萎缩的患者中检测血液指标也发现 LRP4-Ab 水平升高。LRP4-Ab 还需要进一步研究^[17], 临床可采用酶联免疫吸附试验法和细胞因子微球检测技术 (CBA) 法检测 LRP4-Ab。

1.4 连接素抗体 (Titin-Ab) Titin-Ab 连接分子中的 MGT-30 分子, 可加快四肢无力现象。通过检测血清中的 Titin-Ab 阳性表达发现, MG 患者阳性率在 30% 左右。在出现胸腺病理改变的 MG 患者 Titin-Ab 阳性率为 50%~55%, 并在 MG 病情较晚的患者血清检测 Titin-Ab 表达率能够达到 55%~60%。在早期 MG 患者中, Titin-Ab 阳性表达升高可能与患者发生胸腺病理改变相关^[18]。张昕婷^[19]研究发现, Titin-Ab 能够用来诊断和鉴别 MG 患者是否出现胸腺异常。方琪等^[20]研究发现, Titin-Ab、RyR-Ab 同时表现为阳性的 MG 患者伴随胸腺异常的概率增加, 预后往往不佳, 需要采用免疫抑制剂进行治疗。检测方法主要有 Titin-Ab 试剂盒或放射免疫沉淀法。

1.5 兰尼碱受体抗体 (RyR-Ab) RyR-Ab 是一种跨膜型的钙通道蛋白, 该蛋白在 Ca^{2+} 增多和骨骼肌兴奋中具有关联性。RyR-Ab 能够减少兰尼碱与兰尼碱受体 (RyR) 结合, 并关闭 RyR 通道, 减少 Ca^{2+} 释放, 导致骨骼肌不能发挥收缩作用, 导致肌肉无力出现^[21]。MG 患者血清中 RyR-Ab 阳性率为 25% 左右, 晚发 MG 患者 RyR-Ab 阳性率为 33%, 但是出现胸腺异常的 MG 患者的 RyR-Ab 阳性率高达 45%。杨维丽^[22]研究发现, 对具有胸腺瘤和非胸腺瘤的 MG 患者进行检测, RyR-Ab 阳性率差距较小。董礼全等^[23]研究证实, 多数 RyR-Ab 阳性 MG 老年患者为晚发型, 此类患者发病较严重, 需要进行长期免疫抑制剂治疗, 检测方法为酶联免疫吸附试验法。

1.6 聚蛋白抗体 (Agrin-Ab) 聚蛋白 (Agrin) 能够诱导 MuSK 活化和 AChR 聚集, 但是发挥上述聚集过程需要 LRP4 的介入。Agrin-Ab 能够对乙酰胆碱进行干扰使之保留在突触处, 导致神经-肌肉信号传导失败。刘云等^[24]研究认为, 聚蛋白能够对神经-肌肉接头具有保护和修复再生作用, 而 Agrin-Ab 会导致保护和再生受限。Agrin-Ab 仅在少数 MG 患者中可以检测到, 属于新发现的 MG 抗体的靶点蛋白。毕文静等^[25]研究发现, 抑制 Agrin-Ab 能够减少聚蛋白活化和乙酰胆碱聚集, 提示 Agrin-Ab 检测有利于帮助 MG 患者检测, 并具有一定的特异性。检测方法为

CBA 法、酶联免疫吸附试验法等。

1.7 皮层蛋白抗原(cortactin-Ab) 皮层蛋白(cortactin)属于骨骼肌细胞内微丝肌动蛋白的结合蛋白,在神经-肌肉处水平较高,能够作为一种信号蛋白进行传导,并参与聚蛋白、Agrin 介导 AChR 的聚集。陈美兰等^[26]研究发现,对多例 AChR 阴性及多例 Musk-Ab 阴性 MG 患者检测血清自身抗原标志物,有 6.67% 的患者的血清中检测到 cortactin-Ab 阳性表达,提示 cortactin-Ab 阳性表示 MG 病情较轻。cortactin-Ab 阳性在眼肌型的 MG 患者中比较常见,多存在于神经-肌肉膜内蛋白。ASHRAF 等^[27]研究发现,cortactin-Ab 在 MG 患者早期阳性率较高,在 70% 以上。检测方法为酶联免疫吸附试验法和免疫印迹法,需要进行免疫调节进行治疗。

1.8 Kv1.4 抗体(Kv1.4-Ab) Kv1.4 在中枢神经系统表达广泛,主要分布在轴突膜和近轴膜中。Kv1.4-Ab 在 MG 患者的阳性率为 15%,并与重度 MG 及心脏相关疾病密切相关。通常采用免疫沉淀进行检测。WANG 等^[28]研究发现,对 65 例 MG 患者进行 Kv1.4-Ab 阳性检测,其中有 13 例患者呈阳性,而采用免疫印迹法和酶联免疫吸附试验法不能检测此 Kv1.4-Ab。目前对于 Kv1.4-Ab 的研究较少,LEE 等^[29]研究证实,Kv1.4-Ab 与 MG 患者发生心脏功能障碍和心肌炎密切相关。

1.9 CoLQ 抗体(CoLQ-Ab) CoLQ 属于乙酰胆碱复合体的一部分,能够通过 cortactin 将乙酰胆碱酶定在突触的基膜上。与乙酰胆碱能够组成 AChE/ColQ 复合体,该复合体能够通过 HSPBDs 进行结合并与 ColQ C 末端的 MuSK 进行结合。NIKOLIC 等^[30]研究发现,在多例 MG 患者中有 2.89% 的患者血清中存在 CoLQ-Ab 阳性。有研究发现,CoLQ 发生改变能够诱发先天性肌无力,所以 CoLQ 具有潜在致病性^[31-32]。CoLQ-Ab 是在健康人群中发现的,但是其病理机制还有待研究。检测方法为 CBA 方法。

1.10 CollagenQ 抗体(CollagenQ-Ab) CollagenQ-Ab 仅仅在神经-肌肉接头处出现,可浓聚乙酰胆碱酯酶。SOEBADI 等^[33]研究发现,CollagenQ-Ab 在 MG 患者的阳性率为 1%~5%,但是在健康人群血清中也可以发现 CollagenQ-Ab 阳性表达,但是关于 CollagenQ-Ab 与儿童型 MG 的研究较少,还需要进一步研究。

2 结 论

MG 是发生于神经-肌肉接头的自身免疫性系统疾病,目前发现的多种自身免疫性抗体与 MG 疾病的发生存在关联,通过对 MG 患者血清抗体的研究,丰富了对 MG 疾病的了解,为多种亚型的 MG 疾病提供精确有效的诊断。针对 MG 不同亚型如何精准治疗,对不同免疫抑制剂的疗效及安全性有待进一步研究,

对儿童 MG 不同亚型的预后有待进一步随访。

参考文献

- [1] IDIAQUEZJ F,GONZALEZ S,LASSO-PENAFIEL J, et al. Pharmacological treatment compliance and a description of its associated factors in patients with myasthenia gravis[J]. Rev Neurol,2018,66(1):15-20.
- [2] 李海峰,张翔,从志强.重症肌无力发生与发展的临床流行病学研究[J].临床神经病学杂志,2006,19(6):468-470.
- [3] 康晓萍,黄志.糖皮质激素对重症肌无力患者 T 细胞亚群、体液免疫的调控及其干预作用[J].实用儿科临床杂志,2010,25(18):1419-1421.
- [4] NOVELLA-NAVARRO M,SALVATIERRA-OSSORIO J,MUNOZ-GÓMEZ MDM, et al. Rheumatoid arthritis and ocular myasthenia gravis: Effectiveness of rituximab in the management of these two diseases[J]. Reumatologia Clinica,2018,14(3):179-180.
- [5] HOWARD JR J F,UTSUGISAWA K,BENATAR M, et al. Safety and efficacy of eculizumab in anti-acetylcholine receptor antibody-positive refractory generalised myasthenia gravis (REGAIN): a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre study [J]. Lancet Neurol,2017,16(12):976-986.
- [6] 王晓燕,吕福荣,钱立锋,等.自拟黄芪葛根汤合培元固本散对自身免疫性重症肌无力模型大鼠的影响[J].国际中医中药杂志,2018,40(9):849-853.
- [7] VIEGAS S,JACOBSON L,WATERS P, et al. Passive and active immunization models of MuSK-Ab positive myasthenia: electrophysiological evidence for pre and postsynaptic defects[J]. Exp Neurol,2012,234(2):506-512.
- [8] 于慧丹.乙酰胆碱受体抗体(AChR-Ab)及肌肉特异性酪氨酸激酶抗体(MuSK-Ab)与重症肌无力(MG)[D].石家庄:河北医科大学,2013.
- [9] TAKAHASHI Y,SUGIYAMA M,UEDA Y. Childhood-onset anti-MuSK antibody positive myasthenia gravis demonstrates a distinct clinical course [J]. BrainDev, 2012,34(9):784-786.
- [10] 储珊珊,陈邓,朱丽娜.利妥昔单抗治疗难治性重症肌无力有效性和安全性的 Meta 分析[J].中国现代神经疾病杂志,2018,18(7):494-500.
- [11] 王化冰,刘明生,管宇宙. V 型重症肌无力 5 例临床分析及文献复习[J].中国神经免疫学和神经病学杂志,2007,14(6):317-319.
- [12] MARINO M,SCUDERI F,SAMENGO D, et al. Flow cytometric analysis of anti-LRP4 (LDL receptor-related protein 4) autoantibodies in italian patients with myasthenia gravis[J]. PLoS One,10(8):e0135378.
- [13] 李媛.重症肌无力不同抗体检测及其临床意义[D].贵阳:贵阳医学院,2015.
- [14] KONECZNY IA,COSSINS J,WATERS PK, et al. MuSK myasthenia gravis IgG4 Disrupts the interaction of LRP4

with MuSK but both IgG4 and IgG1-3 can disperse preformed agrin-independent AChR clusters[J]. PLoS One, 2013, 8(11): e80695.

[15] 宋道阳. 重症肌无力患者肌细胞中 LRP4 胞内区和 SNX17 相互作用研究[D]. 郑州: 河南中医药大学, 2016.

[16] 李媛. 重症肌无力患者血清低密度脂蛋白受体相关蛋白 4 抗体的检测及其临床意义[J]. 中华神经科杂志, 2015, 48(11): 980-983.

[17] 李言, 刘卫彬, 罗传铭, 等. 胸腺手术治疗儿童重症肌无力的疗效随访及影响因素分析[C]//中华医学会. 中华医学会第十七次全国神经病学学术会议论文汇编(下), 2014: 1010.

[18] NAKATA R, MOTOMURA M, MASUDA T, et al. Thymus histology and concomitant autoimmune diseases in Japanese patients with muscle-specific receptor tyrosine kinase-antibody-positive myasthenia gravis [J]. Eur J Neurol, 2013, 20(9): 1272-1276.

[19] 张昕婷. Th17/Treg 及相关细胞因子对儿童重症肌无力的影响[D]. 济南: 山东大学, 2015.

[20] 方琪, 冉娟娟, 蔡秀英, 等. 重症肌无力患者 Foxp3⁺ CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞与 AChRAb、Titin-Ab 的相关研究[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2010, 17(5): 342-344.

[21] 戴俊杰, 曾庆意, 丁美萍. 重症肌无力患者血清 Titin 抗体和 RyR 抗体的临床研究[J]. 浙江医学, 2016, 38(12): 977-980.

[22] 杨维丽. 儿童重症肌无力免疫功能监测与预后相关性研究初探: 附 33 例临床资料分析及文献回顾[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2015.

[23] 董礼全, 刘艳萍, 徐东. 老年重症肌无力患者 Treg、APO-1、RyR-Ab、干扰素-αAb、AChR-Ab 的水平变化及意义[J]. 中国老年学杂志, 2017, 23(19): 7-13

[24] 刘云, 刘冉, 郝洪军, 等. 重症肌无力患者血清学标志物检测及临床意义[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2016, 16

(10): 9-13.

[25] 毕文静, 陈国洪. 环磷酰胺治疗儿童重症肌无力伴不同恶性程度胸腺瘤的疗效及安全性[J]. 中国医院用药评价与分析, 2019, 19(2): 155-157.

[26] 陈美秋, 楚兰, 张艺凡. 重症肌无力患者血清抗皮动蛋白抗体的检测及其临床意义[J]. 中华神经科杂志, 2018, 51(6): 438-443.

[27] ASHRAF V V, TALY A B, VEERENDRAKUMAR M, et al. Myasthenia gravis in children: a longitudinal study [J]. Acta Neurol Scand, 2006, 114(2): 119-123.

[28] WANG M G, HUANG X X, YAO D, et al. Effect of glucocorticoid combined with gamma globulin in treatment of children with myasthenia gravis and its effects on immune globulin and complement of children[J]. Eur Rev MedPharmacol Sci, 2016, 20(11): 2404.

[29] LEE H N, KANG H C, LEE J S, et al. Juvenile myasthenia gravis in Korea; subgroup analysis according to sex and onset age[J]. J Child Neurol, 2016, 31(14): 137-144.

[30] NIKOLIC A V, LAVRNIC D V, BASTA I Z, et al. A misdiagnosed myasthenia gravis with anti-muscle-specific tyrosine kinase antibodies with possible childhood onset [J]. Vojnosanit Pregl Mili Med Pharm Rev, 2015, 72(3): 39-42.

[31] 牛军伟, 张羽彤, 石强. 二例 COLQ 基因突变所致的先天性肌无力综合征临床分析[J]. 中华神经医学杂志, 2019, 18(7): 720-723.

[32] ZOLTOWSKA K M, BELAYA K, LEITE M, et al. Collagen Q-A potential target for autoantibodies in myasthenia gravis[J]. J Neurol Sci, 2015, 348(1/2): 241-244.

[33] SOEBADI A. Refractory myasthenia gravis treated with intravenous immunoglobulin[J]. Asia Oceania Cong Child Neurol, 2015, 43(5): 477-483.

(收稿日期: 2020-01-10 修回日期: 2020-05-02)

• 综述 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2020. 22. 047

儿童视神经炎的研究进展

卢 健 综述, 李秀娟[△] 审校

重庆医科大学附属儿童医院神经内科/儿童发育疾病研究教育部重点实验室/儿童发展重大疾病国际科技合作基地/儿科学重庆市重点实验室, 重庆 400014

关键词: 视神经炎; 发病机制; 儿童

中图分类号: R748

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2020)22-3369-05

视神经炎是累及视神经的各种炎性病变, 可造成视神经损伤或视觉信号传导障碍, 是青中年人最易罹患的致盲性视神经疾病。视神经炎在儿童中发病较成人少见, 但危害性较大, 是儿童亚急性视力损害的主要病因^[1]。目前, 关于儿童视神经炎的发病机制尚未完全阐明, 其流行病学特征、病因、临床表现及预后

等均与成人视神经炎存在较大差异。且由于缺乏大样本、多中心、前瞻性临床研究, 其治疗尚缺乏规范一致的方案。因此, 儿童视神经炎的诊断和治疗仍是困扰儿科医生的难题之一。本文对近年来儿童视神经炎的一系列研究进行总结, 综述其流行病学特点、临床特征、病因及发病机制、诊断及治疗进展, 为该病的

[△] 通信作者, E-mail: lixiujuan@hospital. cqmu. edu. cn.