

# AcrAB-TolC 外排泵在多重耐药肠杆菌中的作用研究进展

华炜聪<sup>1,2</sup> 邓在春<sup>1,2</sup> 张筠<sup>2</sup> 朱丹萍<sup>2</sup> 陈众博<sup>1,2▲</sup>

1.宁波大学医学院,浙江宁波 315020;2.宁波大学医学院附属医院呼吸内科,浙江宁波 315020

**[摘要]** 耐多药肠杆菌的出现严重威胁着人类健康。AcrAB-TolC 外排泵的过量表达是引起肠杆菌多重耐药的主要机制之一,其主要由周质融合蛋白 AcrA、外膜通道蛋白 TolC 和药物质子转运子 AcrB 构成,受整体调控因子、局部调控因子以及环境中的化学物质等调节。对 AcrAB-TolC 外排泵的研究,不仅有助于阐明相关耐药本质,还有助于研制有临床意义的外排泵抑制剂(EPIs),为解决肠杆菌多重耐药问题提供新思路。本文对 AcrAB-TolC 外排泵的结构、调控等方面的研究进展作一综述。

**[关键词]** AcrAB-TolC; 外排泵; 肠杆菌; 多重耐药

**[中图分类号]** R378.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-9701(2021)04-0184-05

## Research progress of AcrAB-TolC efflux pump in multidrug resistant enterobacteria

HUA Weicong<sup>1</sup> DENG Zaichun<sup>1,2</sup> ZHANG Yun<sup>2</sup> ZHU Danping<sup>2</sup> CHEN Zhongbo<sup>1,2</sup>

1.Ningbo University School of Medicine, Ningbo 315020, China; 2.Department of Respiratory Medicine, the Affiliated Hospital of Medical School of Ningbo University, Ningbo 315020, China

**[Abstract]** The emergence of multidrug-resistant enterobacteria poses a serious threat to human health. Overexpression of AcrAB-TolC efflux pump is one of the main mechanisms that causes multidrug resistance in enterobacteria. It is mainly composed of periplasmic fusion protein AcrA, outer membrane channel protein TolC and drug proton transporter AcrB, and is regulated by global regulatory factors, local regulatory factors and chemicals in the environment. The study of AcrAB-TolC efflux pump is not only helpful to clarify the nature of drug resistance, but also helpful to develop clinically significant efflux pump inhibitors(EPIs), providing new ideas for solving the problem of multiple drug resistant enterobacteria. This article makes a review on the research progress of the structure and regulation of AcrAB-TolC efflux pump.

**[Key words]** AcrAB-TolC; Efflux pump; Enterobacteria; Multidrug resistance

随着抗生素使用的日益增多,细菌多重耐药问题已成为全球公共卫生危机<sup>[1-2]</sup>。多重耐药是指细菌对三种及以上的抗生素同时耐药。目前临床观察到的重症细菌感染中,多重耐药的肠杆菌较多。药物外排泵是肠杆菌产生多重耐药的主要机制之一<sup>[1,3]</sup>,其化学本质为蛋白质。抗生素或有毒化合物存在时,外排作用可能是肠杆菌应激反应中最快和最有效的抵抗机制<sup>[3]</sup>。革兰阴性杆菌中最具临床意义的外排泵是耐药结节细胞分化(Resistance nodulation-cell division, RND)家族的成员,能识别广泛的底物,与多重耐药相关。这些外排泵以三聚体方式存在,横跨细菌内外膜;其中, AcrAB-TolC 系统是最经典的 RND 家族,多存在于肠杆菌科细菌<sup>[4]</sup>。肠杆菌中存在许多膜孔蛋白,可以根据

**[基金项目]** 浙江省宁波市自然科学基金项目(2017A610250)

▲通讯作者

分子的大小、形状和电荷等选择性地允许分子(包括抗生素)被动扩散<sup>[5]</sup>。当细胞内的药物浓度聚集达到一定数值时, AcrAB-TolC 外排泵以质子驱动力为能力将其泵出,从而增强了细菌在不良环境中的生存能力。因此,细胞内的药物浓度也是药物流入和流出之间的平衡点。AcrAB-TolC 系统可能在细菌耐药质粒传播方面有一定的推动作用<sup>[6]</sup>。此外,其也是大多肠杆菌毒力和生物膜形成所必需的<sup>[7-8]</sup>。对部分细菌来说,该泵表达水平决定多重耐药表型,泵失活则菌株可从多重耐药变回敏感。所以,进一步研究 AcrAB-TolC 泵对临床具有重要意义。若能研制出有临床价值的外排泵抑制剂,将极大帮助临床医生的用药,恢复现有抗生素的临床疗效,降低多重耐药细菌感染所致的死亡率,是细菌多重耐药问题上的重大突破。

## 1 AcrAB-TolC 外排泵的结构

### 1.1 AcrAB-TolC 外排泵结构蛋白的组成

AcrAB-TolC 外排泵主要由周质融合蛋白 AcrA、外膜通道蛋白 TolC 和药物转运子 AcrB 构成。外排功能的实现需要三者共同参与,缺一不可。否则,即使存在其他能够增强外排泵功能的机制,细菌仍然不会产生耐药性。不过,Saw 等<sup>[9]</sup>的实验侧面印证了 Doumith 等实验结论“在耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌分离株中 *acrB* mRNA 转录物的表达没有增加”,说明 AcrAB-TolC 系统可能并不是肠杆菌必需的耐药机制。

AcrA、AcrB 和 TolC 蛋白以三聚体的形式存在。其中 AcrA 蛋白被认为在膜融合中起到了一定作用,其位于周质间隙中,其 C 端肽链连接着内膜上 AcrB, N 端肽链则在 C 端的协助下与外膜通道蛋白 TolC 相互作用<sup>[10]</sup>。AcrA 近膜端结构域的构象变化对 AcrAB-TolC 的组装至关重要,可以作为开发新型泵抑制剂的靶点<sup>[11]</sup>。AcrA 蛋白缺失时,可由其同源周质融合蛋白 AcrE 补充,两者同源率为 68.5%,功能相似。相关实验证明,若要以周质融合蛋白为泵抑制剂的药物靶点,必须同时作用于 AcrA 和 AcrE 蛋白才有效<sup>[12]</sup>。AcrB 蛋白位于细胞内膜,其能捕获来自细胞周质的物质,并将有害的物质排出细胞,称为细菌的“吸尘器”<sup>[13]</sup>。有研究发现,AcrB 蛋白缺失后,与其同源的 RND 外排泵系统如 AcrD、AcrF 蛋白会代偿性产生,这样既可以保证细菌细胞膜的结构完整,又能维持外排功能<sup>[14]</sup>。但若 AcrB 蛋白只是处于失活状态,则不会发生以上蛋白的代偿性生成。不过,AcrD 和 AcrF 蛋白的生成水平低至无法检测,这意味着实际上,AcrD 和 AcrF 蛋白无法补救 AcrB 蛋白缺失致外排功能丧失后所带来的影响<sup>[5]</sup>。TolC 蛋白位于细胞外膜,为排出的药物和毒素提供了一条穿越细菌外膜的途径。有研究发现,细菌细胞的药敏性与 TolC 变异体的浓度变化不相匹配。无论实验组细胞的 TolC 蛋白浓度低于还是高于对照组的 TolC 蛋白浓度(浓度相差至少 10 倍),大部分常用抗生素的 MIC 仍保持不变,说明即使将 TolC 蛋白抑制到极低浓度,也无法限制外排泵的药物外排能力,从中可推测只有一小部分 TolC 蛋白参与外排作用<sup>[15]</sup>。所以对新药研发来说,TolC 蛋白并不是抑制多药外排的良好靶点。

### 1.2 AcrAB-TolC 外排泵的作用过程

革兰阴性杆菌由于有双膜结构,实现外排途径较复杂。Shi 等<sup>[16]</sup>认为,AcrA-TolC 泵的开启和抗生素的泵出是一个短暂的过程,大部分时间组件均处于封闭状态,而不是活跃状态。通过断层扫描数据进一步揭示 AcrAB-TolC 外排泵的组装顺序。首先,AcrB 与

AcrA 蛋白结合形成二聚体 AcrAB。然后,AcrA 改变构象以嵌合 TolC。一旦 TolC 与 AcrAB 二聚体结合,组装完全的外排泵保持静止状态。当 AcrB 遇到药物分子时,该泵开放通道,沿通道长轴收缩,使底物(药物)通过通道排出细胞,待底物排出后立即关闭<sup>[13,17]</sup>。不同于寻常那些狭小、紧密贴合的结合位点,AcrAB-TolC 外排泵转运蛋白结合药物分子的位点通常较宽大,以允许用更少的自由能去容纳更多的底物<sup>[18]</sup>。AcrAB-TolC 外排泵大多为非特异性的,可以排出多种不同作用机制和不同作用位点的抗生素,但也有少数是特异性的,如四环素外排泵。

## 2 AcrAB-TolC 外排泵的调控因子

AcrAB-TolC 外排泵的调控分为整体调控和局部调控两种,整体调控因子有 MarA、RamA、Rob、SoxS 等,局部调控因子主要有 AcrR,本文主要对整体正调控因子 MarA 和 RamA 及局部负调控因子 AcrR 作一综述。

### 2.1 MarA 蛋白对 AcrAB-TolC 外排泵的正向调节

MarA 蛋白是一种整体转录激活子,增加 AcrAB-TolC 泵的外排作用,属于 AraC/XylS 家族蛋白的成员。在操纵子 *mar* 家族中,除 *marA* 外,参与多重耐药机制的还有 *marR*、*marB*。*marA* 基因虽然总是被 MarR 抑制,但其编码的 MarA 蛋白能够与 *marR* 基因阻遏位点上游的 DNA 序列(即 *marbox*)结合以发挥正反馈作用,从而抑制 *marR* 基因并激活 *marA* 基因。MarR 蛋白除了可以抑制 *acrAB* 基因表达,在没有任何环境信号影响时,也可阻止自身转录。*marB* 基因可增加 *marA* 基因的表达水平,在转录后起作用,具体机制不明<sup>[19]</sup>。

至今,仍有不少学者认为,Mar 突变体仅仅是通过促使 AcrAB-TolC 外排泵系统过度表达而引起多重耐药。其实不然,*mar* 系统对其他基因也有调节作用,有些还参与了对特定药物的耐药机制。Sharma 等<sup>[20]</sup>通过实验鉴定了 33 个受 MarA 蛋白调控的靶基因,发现除 *acrAB* 和 *tolC* 基因外,MarA 蛋白还能上调在脂质转运、DNA 损伤修复和转录调控中起作用的基因,从而减少抗生素渗入和 DNA 损伤。

### 2.2 RamA 蛋白对 AcrAB-TolC 外排泵的正向调节

RamA 蛋白是 MarA 蛋白的同系物,也属于 AraC/XylS 家族。与 MarA 一样,RamA 通过直接结合 *acrAB* 和 *tolC* 基因位点上游的退化核苷酸序列(即 *rambox*)而激活 *acrAB* 和 *tolC*<sup>[5]</sup>。*ramR* 基因位于 *ramA* 的上游,其能抑制 *ramA* 的转录,同样,RamA 蛋白也能抑制 RamR 蛋白的结合。当 *ramR* 基因缺失或失活时,RamA 蛋白则会过量表达,引起多重耐药<sup>[21-23]</sup>。多数 AcrAB-TolC 外排泵的底物无法诱导 RamA 蛋白的表达,

而当 AcrB 蛋白失活后, RamA 可呈四倍速增长。当 AcrAB-TolC 泵部分失活或加入外排泵抑制剂时, RamA 的表达量明显升高<sup>[19,24]</sup>。沙门氏菌在 RamA 蛋白缺失的情况下, 筛选出 MDR 突变体很困难, 这意味着, RamA 在沙门菌多重耐药机制中是主要的调控因子<sup>[25]</sup>。不过少数肠杆菌中不存在 RamA 蛋白, 如大肠埃希菌。

氯丙嗪能以浓度依赖的方式诱导 RamA 蛋白, Ricci 等<sup>[26]</sup>先通过氯丙嗪诱导 RamA 蛋白过量表达, 再去掉氯丙嗪, 发现 RamA 蛋白的量立刻恢复至诱导前的水平, 推测过高水平的 RamA 蛋白或过量的 AcrAB-TolC 系统可能对细菌有害, 且认为有另一种调节机制在维持平衡。外排泵的高能量需求是其不过度表达的可能因素。进一步的实验表明, RamA 蛋白的量能够恢复到诱导前的水平是通过 Lon 蛋白酶的调节。该酶可以水解 RamA、MarA 蛋白等, 若 Lon 突变可导致 AcrAB 蛋白和多重耐药的增加<sup>[19]</sup>。

### 2.3 AcrR 蛋白对 AcrAB-TolC 外排泵的负向调控

局部调控因子 AcrR 抑制 *acrAB* 基因的过表达<sup>[27]</sup>。*acrR* 基因位于 *acrAB* 操纵子的上游, 与 *acrAB* 基因转录方向相反。AcrR 蛋白 N 端存在 DNA 结合的螺旋-转角-螺旋结构基序, C 端存在特异性配体结合序列。毒性化合物能与 AcrR 蛋白的 C 端结构域结合, 引起其 N 端结构域的构象改变, AcrR 蛋白从 DNA 中释放, 使靶基因(即 *acrAB* 基因)得以转录<sup>[28]</sup>。反之, AcrR 蛋白再与 *acrAB* 基因调控区特异性结合发挥抑制作用。有研究发现, AcrR 蛋白缺失除了增加耐药性, 还可提高细菌的活性、黏附、毒力, 促进生物膜的形成等<sup>[27]</sup>。同 MarR 蛋白一样, AcrR 蛋白也能抑制自身的合成。

### 3 环境因素对外排泵的调控作用

大量环境因素也能调控外排泵系统。肠杆菌大多存在于宿主消化道中, 常与胆汁、脂肪酸和阳离子肽等环境诱导因子接触, 这些环境诱导因子与 Rob 蛋白结合从而诱导 AcrAB 蛋白过表达, 以助肠杆菌生存<sup>[19]</sup>。Urdaneta 等<sup>[29]</sup>实验证明, 亚致死浓度的胆盐诱导 *acrAB* 基因转录的上调, 对肠杆菌早期适应宿主环境至关重要。进一步实验发现, 在缺少单个或多个外排泵系统的沙门氏菌突变体中, 只有 AcrAB 蛋白缺失的突变体无法在亚致死浓度的胆盐环境下生长, 揭示了 AcrAB 蛋白对细菌胆汁耐受的重要性。另有研究证实, 大量环境刺激可以增加 *ramA* 基因的表达以激活 AcrAB 蛋白, 如细菌代谢产物吡啶<sup>[30]</sup>、苯噻嗪、血清素摄取抑制剂、氯丙嗪等抗精神药物、生物杀菌剂、某些抗生素和温度<sup>[24]</sup>。

### 4 药物治疗后的细菌外排作用可能更强

Adler 等<sup>[31]</sup>将大肠埃希菌暴露于美罗培南或厄他培南中进行 60 次传代, 通过基因组测序后发现, AcrAB-TolC 介导的外排作用较前增强。不止体外研究结果如此, 临床中亦有文献报道, 来源于同一患者的沙门氏菌, 抗感染治疗失败后的菌株较治疗前的菌株外排泵功能更强, AcrB 蛋白的表达更多。Blair 等<sup>[32]</sup>进一步对 AcrB 蛋白基因测序发现, 药物诱导株中甘氨酸替代了第 288 位的天门冬氨酸, 推测该突变使 AcrB 蛋白结合位点结构发生改变。虽然这不能代表此种突变的菌株对所有抗生素的外排功能都增强, 但也提示不合理的抗感染治疗可能会加重耐药问题。

### 5 外排泵抑制剂的研发意义

在新型药物的研制中, 外排泵是一个有潜力的突破点<sup>[33]</sup>。经典的抗耐药菌药物  $\beta$ -内酰胺酶抑制剂, 虽在临床上应用价值很大, 但只针对于产  $\beta$ -内酰胺酶的细菌。而外排泵抑制剂(Efflux pump inhibitors, EPIs)可能同时增加多种细菌对多种抗生素的敏感性, 这是因为外排泵绝大多数是非特异性的, 广泛存在于各种生物体中。EPIs 还可以减少细菌筛选耐药突变体的机会<sup>[34]</sup>。有实验<sup>[8]</sup>证明, EPIs 具有阻止药物排出和干扰生物膜形成的能力, 从而增强抗生素作用, 逆转细菌的耐药性。理想的 EPIs 能够抑制存在于各种病原体且来自不同家族的外排泵, 但这极具挑战性。因此, 针对特定的外排泵家族来设计窄谱 EPIs 可能是最佳的选择。不过, 有临床价值的 EPIs 除了能有效抑制外排泵的功能, 还需满足毒性低、与抗生素具有协同作用、不对缺乏外排泵的敏感菌株产生影响等条件。

EPIs 可通过干扰外排泵的表达和组装、阻断能量来源、阻碍底物通过外排通道等机制发挥作用。最早研发的可以对抗革兰阴性菌中 RND 家族泵的抑制剂是 PA $\beta$ N(Phe-Arg- $\beta$ -naphthylamide, 又称 MC-207110), 其机制是竞争性结合外排泵相应位点以阻止其他底物与该位点的结合, 但因毒性问题和低稳定性限制了其临床的应用<sup>[7]</sup>, 与其相同机制的还有喹啉衍生物、MBX2319<sup>[34]</sup>等; CsrA 可以作为抑制剂, 使 *acrAB* 基因转录不稳定, 影响 AcrAB-TolC 系统的功能<sup>[5]</sup>; 反义技术如肽结合磷酸二胺酯吗啡低聚物(PPMOs)可以抑制外排泵的表达, 可能对大环内酯类或氟喹诺酮类药物的治疗有利<sup>[35]</sup>; 预设计锚蛋白重复蛋白(Designed ankyrin repeat proteins, DARPins)可抑制 AcrA 和 AcrB 蛋白的相互作用<sup>[11]</sup>; 羰基氰间氯苯腈(CCCP)主要通过阻断外排泵的能量来源发挥抗耐药作用<sup>[36]</sup>; 还有一些偶然发现的天然 EPIs, 如糖碱中提取的富酚枫糖浆提

取物<sup>[34]</sup>,目前机制不明。此外,已在临床上应用的药物也是 EPIs 的来源。其中,抗癌药物有望成为 EPIs 的候选药物。因细菌细胞和癌细胞均能产生对有毒化合物的抗性,而这种抗性通常是由于外排泵的过表达造成的<sup>[37]</sup>。尽管发现了大量潜在的外排泵抑制剂,不幸的是,尚没有一种被批准用于临床<sup>[38]</sup>,故 EPIs 的研发工作仍任重而道远。

需要注意的是外排泵抑制剂不能滥用。Saw 等<sup>[9]</sup>发现,加入外排泵抑制剂 PA $\beta$ N 反而会增加细菌对某些抗生素的耐药。所以今后临床上对外排泵抑制剂的合理应用十分重要,应仔细评估后再选择,以确保不会适得其反。

肠杆菌为适应不良环境,通过外排泵以排出有毒物质或代谢产物,形成多重耐药现象。尽管临床上可使用的抗菌药物有数百种,但针对多重耐药甚至全耐药菌,仍常面临着无药可用的境地,且这种情况随着抗菌药物的广泛使用愈发常见。众所周知,一款新型抗菌药物的研制及推广需要花费的时间和经费是庞大的。如果换种思路,将研究放在泵抑制剂的研发上,辅助现有抗生素的抗菌作用,可以恢复多种抗菌药物的临床疗效,也极大节省了紧张的医疗资源。尽管对 AcrAB-TolC 系统已进行不少的研究,但有价值的临床应用尚未发现,故仍需要更多的深入研究。

### [参考文献]

- [1] Wiercinska O, Chojecka A, Kanclerski K, et al. Significance of efflux pumps in multidrug resistance of Gram-negative bacteria[J]. *Med Dosw Mikrobiol*, 2015, 67(1): 55-62.
- [2] Viale P, Giannella M, Tedeschi S, et al. Treatment of MDR-Gram negative infections in the 21st century: A never ending threat for clinicians[J]. *Current Opinion in Pharmacology*, 2015(24): 30-37.
- [3] Du D, Wang-Kan X, Neuberger A, et al. Multidrug efflux pumps: Structure, function and regulation[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16(9): 523-539.
- [4] Wang-Kan X, Blair JMA, Chirullo B, et al. Lack of AcrB efflux function confers loss of virulence on salmonella enterica serovar typhimurium[J]. *mBio*, 2017, 8(4): e00968-17.
- [5] Piddock LJV. The 2019 Garrod Lecture: MDR efflux in Gram-negative bacteria-how understanding resistance led to a new tool for drug discovery[J]. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2019, 74(11): 3128-3134.
- [6] Nolivos S, Cayron J, Dedieu A, et al. Role of AcrAB-TolC multidrug efflux pump in drug-resistance acquisition by plasmid transfer[J]. *Science (New York, NY)*, 2019, 364(6442): 778-782.
- [7] Venter H, Mowla R, Ohene-Agyei T, et al. RND-type drug efflux pumps from Gram-negative bacteria: Molecular mechanism and inhibition[J]. *Front Microbiol*, 2015(6): 377.
- [8] Reza A, Sutton JM, Rahman KM. Effectiveness of efflux pump inhibitors as biofilm disruptors and resistance breakers in Gram-Negative (ESKAPEE) Bacteria[J]. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 2019, 8(4): e229.
- [9] Saw HT, Webber MA, Mushtaq S, et al. Inactivation or inhibition of AcrAB-TolC increases resistance of carbapenemase-producing enterobacteriaceae to carbapenems[J]. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2016, 71(6): 1510-1519.
- [10] Hayashi K, Nakashima R, Sakurai K, et al. AcrB-AcrA fusion proteins that act as multidrug efflux transporters[J]. *Bacteriol*, 2016, 198(2): 332-342.
- [11] Tikhonova EB, Yamada Y, Zgurskaya HI. Sequential mechanism of assembly of multidrug efflux pump AcrAB-TolC[J]. *Chemistry & Biology*, 2011, 18(4): 454-463.
- [12] Smith HE, Blair JM. Redundancy in the periplasmic adaptor proteins AcrA and AcrE provides resilience and an ability to export substrates of multidrug efflux[J]. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2014, 69(4): 982-987.
- [13] Zwama M, Yamaguchi A. Molecular mechanisms of AcrB-mediated multidrug export[J]. *Research in Microbiology*, 2018, 169(7-8): 372-383.
- [14] Alon Cudkowicz N, Schuldiner S. Deletion of the major Escherichia coli multidrug transporter AcrB reveals transporter plasticity and redundancy in bacterial cells[J]. *PLoS ONE*, 2019, 14(6): e0218 828.
- [15] Krishnamoorthy G, Tikhonova EB, Dhamdhere G, Zgurskaya HI. On the role of TolC in multidrug efflux; The function and assembly of AcrAB-TolC tolerate significant depletion of intracellular TolC protein[J]. *Molecular Microbiology*, 2013, 87(5): 982-997.
- [16] Shi X, Chen M, Yu Z, et al. In situ structure and assembly of the multidrug efflux pump AcrAB-TolC [J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 2635.
- [17] Wang Z, Fan G, Hrye CF, et al. An allosteric transport mechanism for the AcrAB-TolC multidrug efflux pump[J]. *Elife*, 2017(6): e24 905.

- [18] Li XZ, Plesiat P, Nikaido H. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2015, 28(2): 337-418.
- [19] Weston N, Sharma P, Ricci V, et al. Regulation of the AcrAB-TolC efflux pump in Enterobacteriaceae[J]. *Research in Microbiology*, 2018, 169(7-8): 425-431.
- [20] Sharma P, Haycocks JRJ, Middlemiss AD, et al. The multiple antibiotic resistance operon of enteric bacteria controls DNA repair and outer membrane integrity [J]. *Nature Communications*, 2017, 8(1): 1444.
- [21] Veleba M, Schneiders T. Tigecycline resistance can occur independently of the ramA gene in *Klebsiella pneumoniae*[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2012, 56(8): 4466-4467.
- [22] Molitor A, James CE, Fanning S, et al. Ram locus is a key regulator to trigger multidrug resistance in *Enterobacter aerogenes*[J]. *Journal of Medical Microbiology*, 2018, 67(2): 148-159.
- [23] Campos CB, Aepfelbacher M, Hentschke M. Molecular analysis of the ramRA locus in clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates with reduced susceptibility to tigecycline[J]. *The New Microbiologica*, 2017, 40(2): 135-138.
- [24] Lawler AJ, Ricci V, Busby SJ, et al. Genetic inactivation of *acrAB* or inhibition of efflux induces expression of *ramA*[J]. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2013, 68(7): 1551-1557.
- [25] Shen J, Yang B, Gu Q, et al. The role of AcrAB-TolC efflux pump in mediating fluoroquinolone resistance in naturally occurring salmonella isolates from China [J]. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2017, 14(12): 728-734.
- [26] Ricci V, Blair JM, Piddock LJ. RamA, which controls expression of the MDR efflux pump AcrAB-TolC, is regulated by the Lon protease[J]. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2014, 69(3): 643-650.
- [27] Subhadra B, Kim J, Kim DH, et al. Local repressor AcrR regulates AcrAB efflux pump required for biofilm formation and virulence in *Acinetobacter nosocomialis*[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2018(8): 270.
- [28] Kim YJ, Im SY, Lee JO, et al. Potential swimming motility variation by AcrR in *Escherichia coli*[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2016, 26(10): 1824-1828.
- [29] Urdaneta V, Casadesús J. Adaptation of *Salmonella enterica* to bile: Essential role of AcrAB-mediated efflux[J]. *Environmental Microbiology*, 2018, 20(4): 1405-1418.
- [30] Nikaido E, Giraud E, Baucheron S, et al. Effects of indole on drug resistance and virulence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium revealed by genome-wide analyses[J]. *Gut pathogens*, 2012, 4(1): 5.
- [31] Adler M, Anjum M, Andersson DI, et al. Combinations of mutations in *envZ*, *ftsI*, *mrdA*, *acrB* and *acrR* can cause high-level carbapenem resistance in *Escherichia coli*[J]. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2016, 71(5): 1188-1198.
- [32] Blair JM, Bavro VN, Ricci V, et al. AcrB drug-binding pocket substitution confers clinically relevant resistance and altered substrate specificity[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(11): 3511-3516.
- [33] Alibert S, N'Gompaza Diarra J, Hernandez J, et al. Multidrug efflux pumps and their role in antibiotic and antiseptic resistance: A pharmacodynamic perspective[J]. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 2017, 13(3): 301-309.
- [34] Blanco P, Sanz-Garcia F, Hernando-Amado S, et al. The development of efflux pump inhibitors to treat Gram-negative infections[J]. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 2018, 13(10): 919-931.
- [35] Sturge CR, Felder-Scott CF, Pifer R, et al. AcrAB-TolC inhibition by peptide-conjugated phosphorodiamidate morpholino oligomers restores antibiotic activity in vitro and in vivo[J]. *ACS Infectious Diseases*, 2019, 5(8): 1446-1455.
- [36] Baron SA, Rolain JM. Efflux pump inhibitor CCCP to rescue colistin susceptibility in *mcr-1* plasmid-mediated colistin-resistant strains and Gram-negative bacteria[J]. *Antimicrob Chemother*, 2018, 73(7): 1862-1871.
- [37] Baguley BC. Classical and targeted anticancer drugs: An appraisal of mechanisms of multidrug resistance[J]. *Methods in Molecular Biology (Clifton, NJ)*, 2016(1395): 19-37.
- [38] Opperman TJ, Nguyen ST. Recent advances toward a molecular mechanism of efflux pump inhibition [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015(6): 421.

(收稿日期: 2020-03-02)