

鲍曼不动杆菌铁离子摄取机制与基于抑制铁摄取的抗菌策略

张芷萌, 游雪甫*, 庞晶*

(中国医学科学院、北京协和医学院医药生物技术研究所, 抗感染北京市重点实验室, 北京 100050)

摘要: 细菌耐药一直是抗感染药物研究领域亟待攻克的难题。鲍曼不动杆菌作为引起院内感染的重要病原菌, 严重威胁患者的生命健康。近年来, 多重耐药、泛耐药, 甚至全耐药鲍曼不动杆菌的检出率不断升高, 因此开发新的治疗鲍曼不动杆菌感染的策略迫在眉睫。铁是鲍曼不动杆菌生存必需的基本元素, 也是参与感染进程的重要物质。细菌为了应对宿主铁饥饿现象, 发展了一系列铁摄取手段, 如分泌铁载体螯合铁、摄取血红素、利用Feo系统转运亚铁等。开发相应的抗菌策略以抑制鲍曼不动杆菌的铁摄取, 是应对鲍曼不动杆菌感染的有效手段。本文将从鲍曼不动杆菌铁摄取机制以及基于此机制发展的抗菌策略两个方面进行综述。

关键词: 宿主铁饥饿; 铁摄取; 鲍曼不动杆菌; 细菌耐药; 抗菌策略

中图分类号: R966 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2024)05-1113-13

Mechanisms of *Acinetobacter baumannii* iron acquisition and antimicrobial strategies based on the inhibition of iron uptake

ZHANG Zhi-meng, YOU Xue-fu*, PANG Jing*

(Beijing Key Laboratory of Antimicrobial Agents, Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: Bacterial resistance has always been a challenge in the field of antibacterials research. As one of the most problematic pathogens causing nosocomial infections, *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) was a severe threaten to public health. In recent years, as the rate of multidrug-resistant, extensively drug-resistant, and even pan drug-resistant *A. baumannii* has been increasing, there is an urgent need to develop new strategies to combat this pathogen. Iron is an essential element for the survival and the infection process of *A. baumannii*. Bacteria have developed a series of iron uptake strategies to survive in conditions of the host iron starvation, including the secretion of siderophore for iron chelation, the uptake of ferroheme, and the transport of ferrous by Feo system. Developing antibacterial strategies to inhibit the iron uptake is an effective way to deal with *A. baumannii* infection. This article will review the mechanisms of iron uptake by *A. baumannii* and the antimicrobial strategies developed based on them.

Key words: host iron starvation; acquisition of iron; *Acinetobacter baumannii*; bacterial resistance; antimicrobial strategy

抗生素耐药性目前是全球十大威胁之一, 涉及动物和人类健康、粮食安全并影响整个社会的发展。2017年, 基于严重的抗生素耐药现状, 世界卫生组织

(WHO) 公布了亟待开发新型抗生素的重点病原体清单, 其中耐碳青霉烯的鲍曼不动杆菌 (carbapenem-resistant *Acinetobacter Baumannii*, CRAB) 位列榜首^[1]。

鲍曼不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*) 是一种革兰阴性条件致病菌^[2]。相较于普通人群而言, 鲍曼不动杆菌对危重症患者等免疫力低下人群的感染性更强, 院内感染为其主要感染途径, 在重症监护环境中

收稿日期: 2023-10-15; 修回日期: 2023-11-06.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (32141003).

*通讯作者 Tel: 86-10-67098991, E-mail: xuefuyou@imb.pumc.edu.cn;

pangjing@imb.pumc.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2023-1166

为常见^[3]。鲍曼不动杆菌可导致多种感染性疾病,从肺炎、尿路感染到严重的血液或伤口感染、败血症、软组织感染和继发性脑膜炎等,严重时危及感染者生命^[4,5]。20世纪70年代,鲍曼不动杆菌曾对多种抗生素较为敏感,单独或联合使用庆大霉素、米诺环素、萘啶酸、氨苄西林等对治疗鲍曼不动杆菌感染均有良好的效果。然而,到20世纪90年代,碳青霉烯类成为控制鲍曼不动杆菌感染唯一有效且安全的药物^[6,7],随着碳青霉烯耐药的鲍曼不动杆菌的检出和流行^[2,4,8]对临床治疗提出了严峻的挑战,开发更有效的抗鲍曼不动杆菌的策略刻不容缓。

铁是细菌生存必需的基本金属元素之一^[7],它参与很多重要的生命过程,如呼吸链电子传递、DNA与蛋白质的生物合成、DNA复制、表达和修复过程,同时它也参与代谢过程,作为多种酶的辅助因子参与酶反应的激活,如细胞色素酶、琥珀酸脱氢酶和过氧化氢酶等^[6,9]。除此之外,铁可以介导抗生素诱导的自由基DNA损伤,这一机制先前已被证明可以促进耐药突变体的形成^[7]。可见铁是鲍曼不动杆菌感染进程中的必要物质,对铁的限制也可以作为对抗细菌感染的手段^[10]。宿主体内游离铁的浓度通常低于微生物生长所需,部分原因是受限于铁在生理条件下的溶解度;同时也是宿主为了抑制病原体的生存,对机体环境中的铁

含量进行严格调控^[11],主要手段包括:使游离铁与红细胞中血红蛋白结合、与高亲和力铁结合蛋白如转铁蛋白、乳铁蛋白等结合、使用钙卫蛋白结合铁诱导等产生铁饥饿,此现象称为宿主的“营养免疫”^[12-14]。为了在铁饥饿条件下获取足够的铁以维持生存,病原菌进化出一整套从宿主中摄取铁的机制^[15]。

鲍曼不动杆菌铁离子的摄取与细菌的生存和感染性密切相关,因此针对鲍曼不动杆菌铁离子摄取开发相应的抗菌策略,对应对这种细菌的感染和耐药现状具有重要的意义^[16,17]。本文将从鲍曼不动杆菌铁摄取机制与基于此的抗菌应对策略两个方面进行综述。

1 鲍曼不动杆菌摄取铁的主要机制

人体内的大多数铁储存在细胞内,可以与血红蛋白中的血红素络合或与铁蛋白结合储存,从而保护宿主免受铁毒性。同时,细胞外铁与转铁蛋白或乳铁蛋白等铁结合蛋白结合^[18,19],它们控制着血液中的游离铁水平^[12,20,21]。因此,血清中只存在少量游离铁^[22]。这些蛋白质的协同作用使得缺乏高亲和力铁摄取途径或系统的细菌基本无法获取生存所需的铁^[4,9]。鲍曼不动杆菌为了应对宿主铁饥饿现象,进化出一系列铁摄取机制(图1),如:通过分泌铁载体螯合 Fe^{3+} 、利用血红素摄取系统摄取亚铁血红素、利用Feo系统转运亚铁等方式维持生存^[23]。其中,通过分泌铁载体和通过血

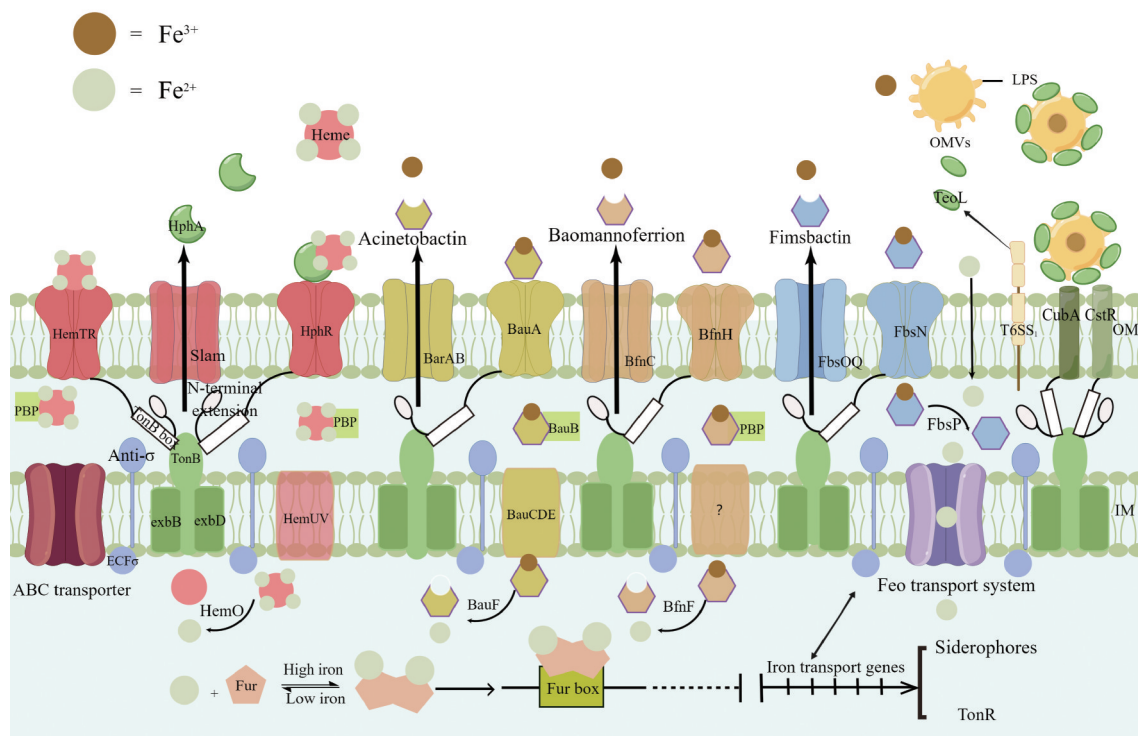


Figure 1 Mechanism of iron uptake by *Acinetobacter baumannii*. OM: Outer membrane; IM: Inner membrane; T6SS: Type VI secretion system; PBP: Periplasmic binding protein; OMVs: Outer membrane vesicles; LPS: Lipopolysaccharide; ECFσ: Extra-cytoplasmic function sigma factor. By Figdraw

红素摄取系统摄取铁的过程是由特定的外膜受体介导的, 这些外膜受体利用 TonB 蛋白偶联细胞质膜提供的质子动力^[24]。鲍曼不动杆菌作为好氧细菌, 主要生存在富氧条件下, 因此在铁摄取的过程中, Fe^{3+} 比 Fe^{2+} 的吸收更具优势^[15,25]。

1.1 鲍曼不动杆菌铁摄取系统相关基因簇

通过鲍曼不动杆菌临床分离株的基因组比较分析发现共有 7 个与铁摄取系统相关的基因簇 (图 2)。其中包括 1 个亚铁离子转运系统 Feo 基因簇^[21,26]、2 个血红素摄取基因簇^[27] 和 4 个参与铁载体合成和利用的基因^[28-32]。

鲍曼不动杆菌的 Feo 转运系统基因簇由 *feoA*、*feoB*、*feoC* 3 个基因组成^[33], 负责从外界环境中摄取 Fe^{2+} , 在低氧偏酸性环境中, Fe^{2+} 的摄取占据主导地位^[34,35]。

鲍曼不动杆菌基因组中存在两种血红素摄取簇: *HemO* 基因簇和 *HemT* 基因簇。研究表明, 绝大多数临床分离菌株都编码 *HemT* 基因簇^[13], 而 *HemO* 基因簇只存在于约 60% 的临床分离株中, 但这个基因簇的存在

能够协助细菌更加有效地摄取血红素亚铁^[24]。编码 *HemO* 基因簇的多重耐药鲍曼不动杆菌 LAC-4 菌株与缺乏 *HemO* 基因簇的 ATCC 17978 菌株相比, 能够更有效地利用血红素亚铁作为铁源^[24,36]。

在 4 个与铁载体生物合成相关的基因簇中, 有 3 个基因簇可以编码 10 种不同结构的铁载体, 分别为儿茶酚型铁载体 [不动杆菌素 (acinetobactin) 与前不动杆菌素 (pre-acinetobactin)]、异羟肟酸型铁载体 [鲍曼铁蛋白 (baumannoferrion) A 和 B]、儿茶酚-羟基甲酸酯混合型铁载体 [丝膜蛋白 (fimsbactin) A~F]^[37], 另有一个基因簇用于合成 2,3-二羟基苯甲酸 (2,3-dihydroxybenzoic acid, DHBA), 它是儿茶酚型铁载体的前体, 也曾被认为是一种螯铁能力较弱的铁载体, 由 *entA* 和 *entB* 两个基因组成^[30], 可以在缺铁程度较轻的环境下维持细菌生存^[31,38]。

1.2 鲍曼不动杆菌摄取铁的能量转导系统

鲍曼不动杆菌的基于铁载体以及血红素的铁摄取过程是由 TonB 依赖的运输系统介导的, 该系统包括定位于外膜的受体蛋白 (*HemTR*、*HphR*、*BauA*、*BfnH*、

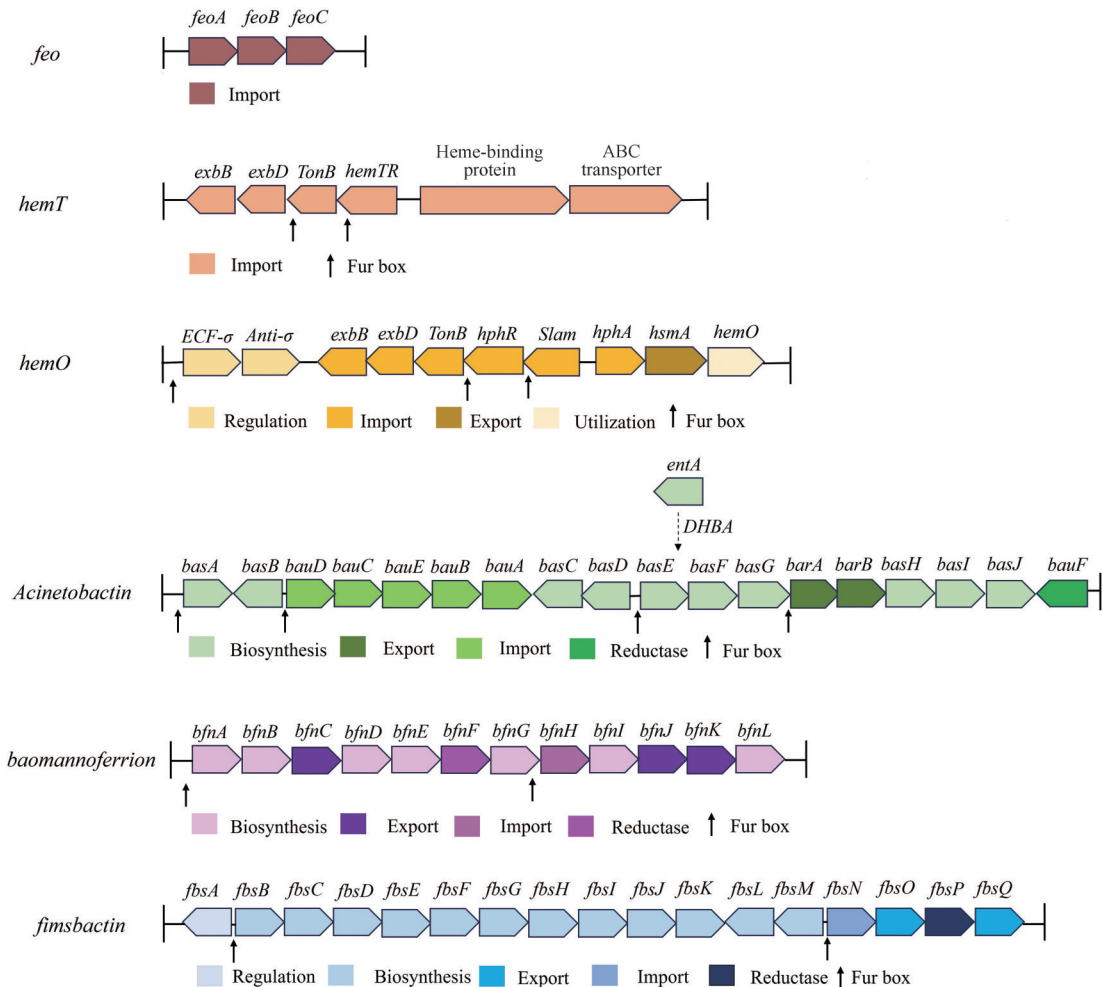


Figure 2 Gene cluster of *Acinetobacter baumannii*

FbsN 等, 见 1.4 和 1.5 相关部分), 以及定位于内膜的 TonB-ExbB-ExbD 蛋白复合体^[39,40]。TonB 依赖的外膜受体具有独特的结构特征, 其 C 端为 22 条反平行的 β 链形成的跨膜桶状结构域^[41], 便于铁的吸收; N 端的球状结构域阻碍其他胞外溶质的通过^[42]; 而位于 N 端的“TonB-box”能量耦合五肽基序 (ETVIV) 负责与 TonB 复合物建立识别^[3]。当外膜受体与底物 (与铁结合的血红素或铁载体) 结合时, 外膜受体上的 TonB-box 变成无序状态, 引起自身 N 端结构域变化, 从而使底物进入细菌周质空间^[40]。这个过程中, TonB 蛋白复合体中 ExbB/ExbD 蛋白将内膜上的质子动力 (proton motive force, PMF) 转导为能量, TonB 收集能量并将其传递给与其 C 端结构域建立识别的外膜受体^[43-46]。

已知确定的 TonB 编码基因有 3 种: *tonB*₁、*tonB*₂、*tonB*₃。实验发现, *tonB*₃ 基因在缺铁条件下比富铁条件下表达上调, 在 *tonB*₃ 基因缺失的细菌胞内铁浓度显著下降, 已被证明是鲍曼不动杆菌在缺铁下生存的重要条件^[17]。鲍曼不动杆菌 ATCC 19606 中 *tonB*₁ 或 *tonB*₂ 单独缺失并不显著影响毒力, 而 *tonB*₁ 和 *tonB*₂ 双突变体的毒力明显低于野生株, 说明 *tonB*₁ 和 *tonB*₂ 在铁摄取过程中起着相对次要的作用^[9]。

1.3 鲍曼不动杆菌摄取铁的转录调控系统

fur 是一种转录因子, 又称铁摄取调节因子, 是细菌铁离子代谢中最重要的调节子^[4,47,48]。铁含量充足时, 铁摄取调节蛋白 (ferric uptake regulator, Fur) 的金属离子结合位点处于激活状态, Fur 以 holo-Fur (蛋白结合态) 的形式存在, 与亚铁结合产生 Fur-Fe(II) 复合物, 以二聚体形式特异结合靶基因启动子 A/T 丰富的回文序列 Fur box 区域, 从而阻碍了 RNA 聚合酶的结合^[49], 阻碍了由 *fur* 基因控制的启动子转录与铁摄取相关基因的表达; 铁含量较低时, Fur 金属离子结合位点未与金属离子结合, Fur 以 apo-Fur (蛋白非结合态) 的形式存在, 与启动子分离, 铁摄取相关基因的转录得以恢复^[50]。

鲍曼不动杆菌铁摄取还受胞外功能 σ 因子 (extra-cytoplasmic function sigma factor, ECF σ) 的调控^[6]。ECF σ 因子使 RNA 聚合酶结合到铁摄取相关基因的启动子区域, 启动基因转录^[24]; 而抗 σ 因子能够与 ECF σ 因子特异性结合, 抑制 ECF σ 因子与 RNA 聚合酶的相互作用, 抑制相关基因的转录。在缺铁条件下, 抗 σ 因子释放出 ECF σ 因子, 鲍曼不动杆菌铁摄取相关基因的转录得以恢复^[6]。

1.4 Fe³⁺的摄取

1.4.1 分泌铁载体摄取铁

分泌铁载体是细菌在缺铁条件下获得竞争优势的

关键策略之一, 鲍曼不动杆菌可以通过合成和释放高亲和力的铁载体与宿主的铁隔离蛋白如转铁蛋白、乳铁蛋白竞争获得铁, 逃避宿主营养免疫^[51,52]。研究表明, 在多类菌株中阻断一种铁载体的合成途径不会显著影响所有铁载体的数量, 并且只需表达其中一种铁载体就足以细菌提供足够的铁螯合能力, 这说明不同的铁载体之间存在功能冗余^[7]。

铁载体在细菌胞内生物合成, 分泌到胞外空间螯合铁后, 复合物被细菌表面的 TonB 依赖性外膜受体识别, 主动运输到周质, 通过周质结合蛋白 (periplasmic binding protein, PBP) 定位到内膜转运体, 通过内膜转运体摄取进入细菌胞质内^[53,54]。

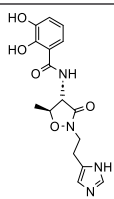
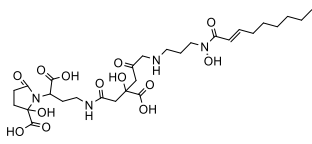
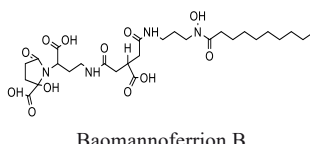
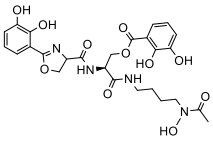
鲍曼不动杆菌分泌的铁载体主要有 3 种 (表 1): 不动杆菌素、鲍曼铁蛋白与丝膜蛋白^[55], 不动杆菌素和丝膜蛋白均是经过非核糖体肽合成酶 (nonribosomal peptide synthetase, NRPS) 生物合成装配路径产生, 而鲍曼铁蛋白是经由 NRPS-非依赖性的铁载体 (NRPS-independent siderophore, NIS) 合成路径合成^[19]。

1.4.1.1 不动杆菌素 不动杆菌素属于儿茶酚型铁载体, 由 2,3-二羟基苯甲酸、苏氨酸和 *N*-羟组胺片段组成^[1,19], 此类铁载体有两种不同的形式: 前不动杆菌素和不动杆菌素。同源分析确定了编码前不动杆菌素和不动杆菌素 (在此统称为不动杆菌素) 的 3 个系统: *basA~J* 负责不动杆菌素生物合成 (其中, 不动杆菌素的前体 2,3-二羟基苯甲酸是由 *entA*、*entB* 基因组成的基因簇表达^[56])、*barAB* 负责向胞外释放不动杆菌素、*bauA~E* 负责将螯合铁的不动杆菌素摄取回胞内^[57]。此类铁载体在酸性条件下以含有异噁唑烷酮环的前不动杆菌素形式存在, 释放到胞外时^[58], 在中性与碱性条件下进行立体化学翻转, 非酶异构化为噁唑啉环形式, 称为不动杆菌素^[58-60], 不动杆菌素以 2:1 的形式结合铁离子^[58,60,61]。

分泌到胞外的不动杆菌素结合铁后, 通过外膜受体蛋白 BauA 重新摄回细菌周质空间。在周质中, 铁载体结合蛋白 BauB 将与铁结合的不动杆菌素转运至由 2 个渗透酶蛋白 BauC 和 BauD 和 1 个 ATP 结合蛋白 BauE 组成的转运蛋白复合物, 利用 ATP 水解产生的能量使铁-不动杆菌素复合物进入细菌胞质^[4,60]。BauF 将络合的 Fe³⁺ 还原为 Fe²⁺, 从而导致铁与不动杆菌素的亲和力降低, Fe²⁺ 得以释放^[62]。

实验发现, 在小鼠菌血症模型中, 不动杆菌素生物合成突变株 Δ *basG* 在宿主体内的存活能力显著变弱, 而鲍曼铁蛋白 (见 1.4.1.2 部分) 和丝膜蛋白 (见 1.4.1.3 部分) 生物合成突变株 Δ *bfnL fbsE* 并没有表现出生存缺陷。说明尽管 3 种铁载体都有助于鲍曼不动杆菌获

Table 1 Structures of the siderophores of *Acinetobacter baumannii*

Siderophore	Type of the siderophore	Chemical structure
Acinetobactin	Catechol	
Baomannoferrion	Hydroxamic acid	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;">  <p>Baomannoferrion A</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Baomannoferrion B</p> </div> </div>
Fimsbactin	Catechol-hydroxycarbamate	

取铁, 但不动杆菌素是这种病原体在体内所需的最关键的铁载体^[58-60]。

1.4.1.2 鲍曼铁蛋白 鲍曼铁蛋白属于异羟肟酸型铁载体, 由柠檬酸、1,3-二氨基丙烷、2,4-二氨基丁酸、癸烯酸和 α -酮戊二酸组成^[61]。目前发现12个基因参与了鲍曼铁蛋白及其相关功能的编码, *bfnA*、*B*、*D*、*E*、*G*、*I*和*L*负责鲍曼铁蛋白生物合成, *bfnC*、*J*和*K*负责向环境中释放鲍曼铁蛋白, *bfnH*负责将与铁结合的鲍曼铁蛋白摄取回胞质^[27]。研究发现, 鲍曼不动杆菌表达两种类型的鲍曼铁蛋白, 鲍曼铁蛋白A和B, 二者之间只差一个双键^[28], 都能够以1:1的形式与铁离子结合^[58]。

释放到外环境中的鲍曼铁蛋白获取铁后通过BfnH外膜受体进入到周质空间, 目前尚不清楚其通过何种转运机制进入胞质。在胞质中, 螯合的 Fe^{3+} 被BfnF还原为 Fe^{2+} 而得以释放^[27,62]。

鲍曼铁蛋白是在研究鲍曼不动杆菌AYE时首次发现的^[7]。鲍曼AYE菌株虽然只合成鲍曼铁蛋白, 无法合成不动杆菌素^[56,63], 却仍然可以在低铁条件下生存, 提示鲍曼铁蛋白的表达在某些鲍曼不动杆菌菌株的存活和致病性中发挥着重要的作用^[64,65]。

1.4.1.3 丝膜蛋白 丝膜蛋白A~F是儿茶酚-羟基甲酸酯型混合铁载体, 目前仅在包括ATCC 17978和ADP1在内的少数鲍曼不动杆菌中发现^[19]。其中*fsbB*~*M*负责鲍曼铁蛋白生物合成, *fsbO*、*Q*负责向环境中释放鲍曼铁蛋白, *fsbN*负责将与铁结合的鲍曼铁蛋白摄取回细菌^[27]。丝膜蛋白基因两侧有转座酶, 这表明它可能是通过水平基因转移获得^[30]。丝膜蛋白能够以1:1的形式与铁离子结合^[66], 其中丝膜蛋白A是

主要载体, 丝膜蛋白B到F可能是丝膜蛋白A生物合成中间产物^[37]。

螯合的铁丝膜蛋白利用FbsN外膜受体进入周质空间, 不同于不动杆菌素与鲍曼铁蛋白, 丝膜蛋白结合的 Fe^{3+} 在周质空间即被FbsP还原为 Fe^{2+} , 通过Feo转运系统将亚铁离子运输到细菌胞质内供利用^[62]。

1.4.2 内化宿主转铁蛋白获取铁

GAPDH作为人体转铁蛋白与乳铁蛋白的受体, 存在于金黄色葡萄球菌、结核分枝杆菌等细菌的表面, 细菌可以通过内化GAPDH与转铁蛋白或乳铁蛋白的复合物达到对铁的摄取目的^[25]。最新发现, E4PDH是鲍曼不动杆菌表面的人类转铁蛋白受体, 与GAPDH具有高度的同源性, 与转铁蛋白具有较高的亲和力($K_d = 64.3 \pm 0.71 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$), 可以通过结合宿主转铁蛋白并将其内化至细菌内而利用铁^[67]。

1.4.3 通过外膜囊泡捕获铁

外膜囊泡 (outer membrane vesicles, OMVs) 是各种革兰阴性菌外膜分泌的囊泡, 由外膜、质周蛋白、磷脂和脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 组成^[3]。研究发现铁摄取所需的TonB能量转导系统也在外膜囊泡中富集, 说明外膜囊泡能够从附近环境中捕获铁^[17]。在缺铁环境下, 细菌VI型分泌系统 (type VI secretion system, TS66) 能够分泌识别LPS的受体蛋白TeoL, 捕获外环境中的含铁外膜囊泡, 通过TonB依赖的外膜受体蛋白CubA和CstR进行识别和转运入胞^[68]。

1.5 Fe^{2+} 的摄取

1.5.1 摄取血红素铁

血红素是宿主体内发现的最大的铁库, 在血红素

的卟啉结构中螯合了人体中约70%的铁,是鲍曼不动杆菌的重要铁源之一^[19,69]。

鲍曼不动杆菌的大多数菌株的基因组均含有 *plc1* 和 *plc2* 基因,它们能够编码具有裂解宿主红细胞功能的磷脂酶C。在低铁条件下,除直接结合游离血红素外,鲍曼不动杆菌还可以通过 *plc1* 和 *plc2* 表达上调^[68],裂解红细胞而释放血红素^[6]。

鲍曼有两类血红素摄取系统: HemO 系统依赖于细菌分泌到胞外的血红素结合蛋白,而 HemT 系统不依赖于细菌分泌的血红素结合蛋白。鲍曼不动杆菌直接捕获结合 Fe^{2+} 的血红素的 HemT 系统包括: TonB 依赖性外膜受体 HemTR、质周空间血红素结合蛋白及内膜 ABC 结合转运蛋白^[3,69]。HemT 摄取系统的摄取效率较低,具体摄取机制还有待进一步阐明^[36]。HemO 系统包括 HphA、Slam、HphR、HsmA 和 HemO 蛋白以及 σ 因子和其同源的抗 σ 因子^[24],其摄取铁过程如下:在血红素摄取调控蛋白 HsmA 的调控下,血红素结合蛋白 HphA 穿过内膜进入周质,通过 Slam 蛋白分泌到宿主环境中,从磷脂酶C参与裂解的红细胞中摄取血红素,形成血红素 HphA 复合物,与 TonB 依赖性的外膜受体蛋白 HphR 结合后,被转运到鲍曼不动杆菌胞质内,经血红素加氧酶 HemO 催化裂解成胆绿素和一氧化碳并释放亚铁供细菌利用。 σ 因子与抗 σ 因子负责相关基因的转录调控^[6,70,71]。

1.5.2 通过 Feo 系统摄取

Feo 为革兰阴性菌吸收 Fe^{2+} 的主要系统,鲍曼不动杆菌的 Feo 转运系统由 FeoA、FeoB 和 FeoC 3 种蛋白组成^[72]。FeoA 对鲍曼不动杆菌的生存与感染能力至关重要,敲除 *feoA* 基因会显著降低鲍曼不动杆菌生存能力与毒力^[26]; FeoB 是最重要的亚铁离子转运蛋白。 Fe^{2+} 通过被动扩散穿过菌外膜上的孔蛋白进入周质空间,再与定位于细菌内膜 FeoB 蛋白结合形成稳定配合物,利用 FeoA 与 FeoB 相互作用激活 G 蛋白酶水解 GTP 释放的能量,将 Fe^{2+} 从周质空间转运通过细胞内膜,供细菌利用; FeoC 作为转录调控子表达^[9]。

2 基于抑制鲍曼不动杆菌铁摄取机制的抗菌策略

随着鲍曼不动杆菌耐药性的迅速发展,传统的抗生素疗法逐渐失效。《CHINET 中国细菌耐药监测结果》显示,2023 年 CRAB 检出率已上升至 79.5%,对美罗培南的耐药率高达 99.8%,因此,新治疗策略的开发十分紧要。铁是鲍曼不动杆菌感染进程中不可或缺的营养物质,阻遏鲍曼不动杆菌的铁摄取过程能够抑制细菌生存,降低其感染性。因为有别于传统抗生素疗法,该策略能够有效应对严峻的抗生素耐药现状,具有重要的临床意义和社会价值。

2.1 基于铁转运系统的抗体和疫苗

刺激宿主细胞产生免疫应答是机体应对病原微生物的基本途径之一^[57]。由于与铁载体转运相关的组分是鲍曼不动杆菌重要的毒力因子,它们有望作为开发鲍曼不动杆菌疫苗的抗原。BauA 是铁载体——不动杆菌素介导的铁摄取过程中依赖的外膜受体蛋白,研究发现预防性注射 3 剂重组 BauA 后,对受到致死剂量鲍曼不动杆菌攻击的小鼠的保护率为 100%;将 BauA 蛋白的单个或几个暴露结构域展示于支架蛋白而产生的亚结构域杂交抗原,保护率也可达到 50%~100%,并且可以在一定程度上克服重组外膜蛋白大规模工业化生产的障碍,提示开发基于 BauA 的疫苗的可能性^[6,73,74]。通过生物信息学研究发现,另一个铁载体——鲍曼铁蛋白依赖的外膜受体蛋白 BfnH 蛋白具有潜在的免疫原性作用,可作为亚单位疫苗候选物^[22,73];注射重组 BfnH 蛋白后,对感染致死剂量鲍曼不动杆菌的小鼠保护作用约为 40%^[75]。TonB₃ 对鲍曼不动杆菌铁摄取必不可少,基于 TonB₃ 突变株开发减毒疫苗也被视为基于宿主免疫提供保护的有效方案之一,有待进一步研究^[9]。Ramezanalizadeh 等^[76]报道,用由 BauA-HemTR 或 CsuA/B-FimA 抗原组成的二价疫苗以及由 CsuA/B-FimA-BauA-HemTR 组成的四价疫苗对小鼠进行免疫接种后,在鲍曼不动杆菌微致死和亚致死模型中,对小鼠都表现出部分保护作用,与单价疫苗相比,多价疫苗可能可以覆盖更广泛的毒株^[22,76,77]。

然而,鲍曼不动杆菌感染的患者病情危重时,免疫功能低下,无法产生充分的抗体激活反应,这可能是开发针对鲍曼不动杆菌的治疗性疫苗最大的挑战。TonB 依赖的铁转运系统对血红素和铁载体介导的铁摄取必不可少,宿主针对该系统产生的抗体通常能够有效抑制铁的摄取。因此,直接注射保护性抗体(如抗 BauA 抗体或抗血清)的被动免疫,可能是鲍曼不动杆菌感染免疫治疗的一种更优选择^[60]。

2.2 针对鲍曼不动杆菌铁载体的抗菌策略

分泌铁载体摄取铁对于鲍曼不动杆菌在缺铁条件下的存活至关重要,此外其在细菌生物膜的形成中也发挥着重要的作用,因此靶向铁载体对治疗鲍曼感染有巨大的潜力^[78]。铁载体合成与表达系统是新抗菌剂的重要靶点^[79-82]。

2.2.1 抑制铁载体的生物合成

破坏参与不动杆菌素生物合成和利用的任何因素都可能导致细菌在缺铁环境生长受阻^[83,84]。

BasE 是一种芳基腺苷酸化酶 (aryl adenylate enzyme, AAAE),这类酶普遍参与儿茶酚或含酚铁载体的生物合成^[85]。BasE 通过催化 2,3-二羟基苯甲酸和

ATP的缩合形成活化中间体,并将其结合到BasF上,该复合体参与前不动杆菌素的产生。因此开发BasE酶抑制剂能够有效破坏不动杆菌素的生物合成^[82]。Neres等^[85]从市售化合物库中筛选出6-苯基-1-(吡啶-4-甲基)-1*H*-吡唑啉[3,4-*b*]吡啶-4-羧酸(图3),这种吡唑啉吡啶化合物与BasE活性位点亲和力 K_d 值低至 $2.14 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$,可以与BasE底物竞争结合到活性位点上,从而阻断BasE酶的活性,抑制不动杆菌素的合成^[6,82]。然而,这种化合物实际对鲍曼不动杆菌的生长几乎没有抑制作用,具体原因有待进一步研究^[60]。

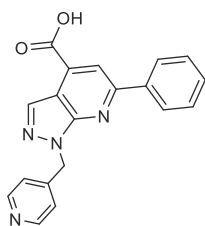


Figure 3 Structure of 6-phenyl-1-(pyridin-4-methyl)-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-4-carboxylic acid

2.2.2 竞争铁载体的结合位点

2.2.2.1 不动杆菌素修饰

Bohac等^[86]将前不动杆菌素氧化为结构更具刚性和稳定性的氧化前不动杆菌素(OxPreAcb,图4)。刚性的OxPreAcb不容易异构成不动杆菌素,干扰铁载体的运输。此外,它与不动杆菌素竞争转运蛋白BauB的结合位点,抑制携带铁的不动杆菌素的转运。研究发现,OxPreAcb以剂量依赖的方式抑制鲍曼不动杆菌的生长, $1.56 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时可以完全抑制细菌生长^[60,86]。

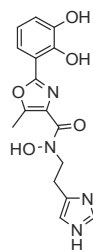


Figure 4 Structure of OxPreAcb

2.2.2.2 铁载体间的竞争拮抗

丝膜蛋白能够与铁形成1:1的配合物,在热力学性质上比2:1的不动杆菌素铁配合物更为稳定^[19]。研究发现,不动杆菌素和丝膜蛋白单独存在时都能促进鲍曼不动杆菌的生长,但同时存在时却抑制细菌的生长。可能是因为这两个铁载体结构相似,都具有儿茶酚的结构片段,竞争结合铁载体转运蛋白BauB^[71],这种竞争也可以解释为什么大多数鲍曼不动杆菌临床分离株只保留了不动杆菌素生物

合成和利用相关基因簇而放弃了产生丝膜蛋白^[66],这也说明冗余的铁载体整合铁反而会诱导铁饥饿。研究表明,与不动杆菌素单独存在相比,不动杆菌素与丝膜蛋白联用反而使鲍曼不动杆菌细菌密度下降,细菌生长30 h后,联用组与不动杆菌素组相比 A_{600} 值低0.5以上^[61]。可以根据以上现象对丝膜蛋白及其衍生物进行开发,使其与原生铁载体产生竞争性拮抗,抑制铁摄取^[61]。

2.2.3 利用铁载体向细菌输送有毒载荷

通过使用“特洛伊木马”策略,利用细菌对铁的需求,迷惑细菌铁摄取系统,将不利因素带入细菌胞内是针对鲍曼不动杆菌感染的有效手段^[87]。铁载体可以与抗生素或铁模拟物(如镓 Ga^{3+})结合,进入细菌后抗生素会通过抑制细菌DNA复制、蛋白质合成或细胞壁合成而发挥抗菌活性;而镓等铁模拟物则导致细胞内铁金属蛋白的错误金属化,影响感染进程。

2.2.3.1 铁载体与抗菌药物拼接

将天然或合成的抗菌药物与铁载体共价连接,并利用细菌的铁载体摄取系统帮助这种化合物内化,能够有效提高抗生素进入细菌胞内的水平,降低抗菌药物剂量,克服细菌耐药性^[87]。这种治疗细菌感染的“特洛伊木马”策略随着头孢地尔(cefiderocol,图5)的开发而备受关注。头孢地尔是一种儿茶酚-头孢菌素结合物,是由日本盐野义公司开发的新型抗菌药物,于2019年11月经美国食品药品监督管理局(USFDA)批准上市,可用于治疗由革兰阴性杆菌引起的复杂性尿路感染和院内获得性细菌性肺炎/呼吸机相关细菌性肺炎,成为USFDA批准的第一种具有铁载体功能的抗菌药物^[88]。头孢地尔通过邻苯二酚结构螯合铁离子后被铁载体受体转运至胞内,通过作用于青霉素结合蛋白3(penicillin binding protein 3, PBP3)抑制肽聚糖的合成进而发挥抗菌活性。相比于前几代的老头孢菌素,头孢地尔对耐药革兰阴性菌的抗菌活性更具优势^[89]。目前,头孢地尔临床耐药株的总体分离率较低,但一项基于2020至2023年间的78项研究的荟萃分析显示,在鲍曼不动杆菌中头孢地尔非敏感菌株的分离率也已升至8.8%^[90]。研究发现,使用酶抑制剂如阿维巴坦能够有效恢复耐药菌株对头孢地尔的敏感性,因此细菌对头孢地尔的耐药机制并非归因于细菌铁转运系统的下调,而是主要与细菌 β -内酰胺酶(如ADC型AmpC酶)的过表达有关^[91]。

此外,丝膜蛋白A和丝膜蛋白类似物结合达托霉素或头孢菌素后(图6),在体外对鲍曼不动杆菌的杀伤具有高度的有效性和选择性, $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时对感染致死剂量鲍曼不动杆菌的小鼠保护率可达80%^[60,92]。这

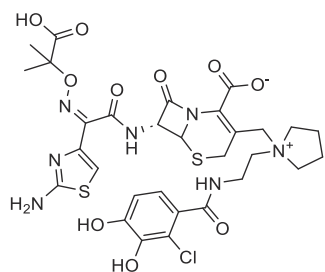


Figure 5 Structure of cefiderocol

也表明,只对革兰阳性菌有效的抗生素(如达托霉素)也可以通过结合铁载体,进入革兰阴性菌的周质,从而发挥对革兰阴性菌的抗菌活性^[93,94]。

铁载体偶联抗生素是一个具有研究前景的抗鲍曼不动杆菌策略,同时也为解决革兰阴性菌耐药提供了一种思路。不动杆菌素作为鲍曼不动杆菌重要的铁载体之一,目前还没有基于它的特洛伊木马策略报道,有待开发^[60]。

2.2.3.2 使用铁模拟物抑制铁摄取 镓(Ga)与铁的原子半径、化合价相似, Ga^{3+} 可以“迷惑” Fe^{3+} 结合蛋白,与铁竞争摄取系统,与铁形成代谢拮抗^[95]。镓不具有铁的生物活性,可以使铁依赖的酶失活,抑制鲍曼不动杆菌的生长和生物膜的形成,从而抑制感染进程^[1,75]。研究发现,硝酸镓 [$\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$]可以抑制铁载体途径的铁摄取,体外表现出较好的抗鲍曼不动杆菌的活性(最低抑菌浓度 $\text{MIC} = 4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)^[95]。黏菌素是一种多肽类抗生素,具有强力抗菌效果,但由于其肾毒性较大,通常仅用于急重症用药,作为抵抗多重耐药革兰阴性细菌的最后一道防线,然而随着全耐药鲍曼不动杆菌的出现,最后一道防线也逐渐被突破^[84]。Antunes等^[64]通过棋盘实验发现,硝酸镓和黏菌素在体外联合药敏实验中分级抑菌浓度(fractional inhibitory concentration, FIC)值范围为0.13~0.5,具有协同抗鲍

曼不动杆菌的作用,二者的联合使用是一种有潜力的治疗策略,使用这种产生协同作用的药物组合也是应对细菌耐药的一种常见思路^[78]。

2.3 抑制血红素铁摄取途径

卟啉、血红素模拟物等与非铁金属络合能够迷惑铁血红素摄取系统,干扰细菌铁摄取,发挥抗鲍曼不动杆菌的活性^[96]。

镓卟啉(Gallium porphyrin, GaPP)作为一种血红素模拟复合物,能够与血红素竞争与受体的结合,而干扰鲍曼不动杆菌对含铁血红素的摄取^[87]。还有研究将镓卟啉与上文提到的硝酸镓联用,破坏了细菌铁离子摄取的不同途径,双重抑制基于铁载体和血红素途径的铁摄取^[95],在体外抗菌联合药敏实验中显示出协同作用(FIC = 0.5),抗菌活性显著提升^[95]。

HemO是鲍曼不动杆菌摄取血红素铁的重要系统,血红素加氧酶能够使血红素释放与之结合的铁供细菌利用。因此,开发HemO抑制剂可能也是有效抑制细菌对血红素中铁的利用的潜在策略,但有待进一步研究^[34]。

2.4 使用铁螯合剂抑制铁摄取

2.4.1 外源性铁螯合剂抑制铁摄取

使用铁螯合剂可以对宿主铁进行隔离^[17,94,97]。DIBI(图7)是一种外源性特异性铁螯合剂,能够抑制鲍曼不动杆菌在铁补充条件下的生长,对鲍曼不动杆菌临床分离株的最低抑菌浓度低至 $2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,还可抑制抗生素用药后存活菌群的恢复生长^[1]。此外,DIBI在小鼠肺炎模型中也显示出对鲍曼不动杆菌清除作用,低剂量的鼻内给药($11 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$)可将肺部的细菌负荷降低为对照组的约1%,并减少鲍曼不动杆菌向脾脏等其他脏器的转移^[6]。可见,外源性铁螯合剂对细菌铁摄取有良好的抑制效果。

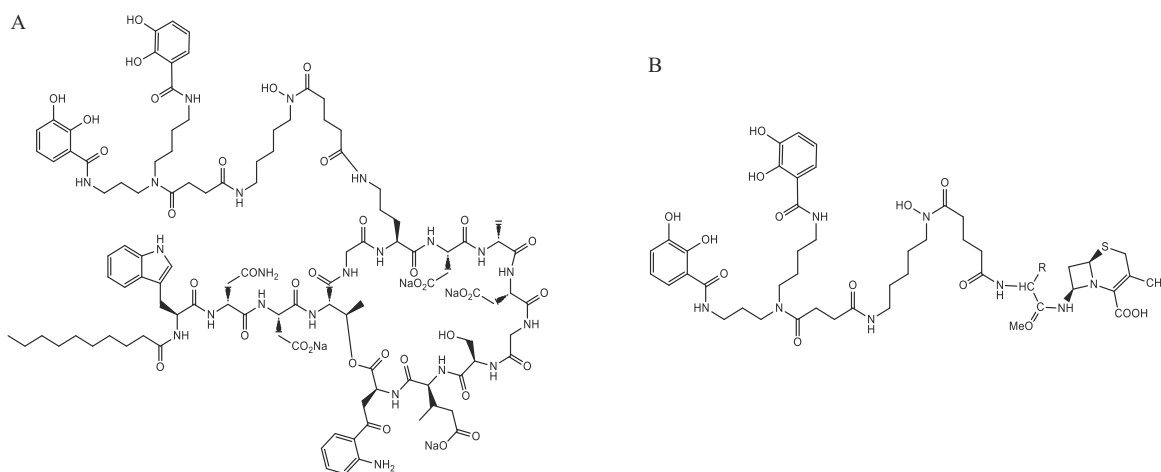


Figure 6 Structures of fimsbactin conjugates with daptomycin (A) and cephalosporins (B)

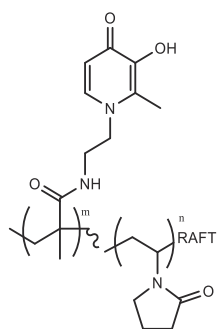


Figure 7 Structure of DIBI

2.4.2 内源性钙卫蛋白 (calprotectin)

先天免疫系统表达的内源性钙卫蛋白具有金属隔离功能,能够结合包括亚铁离子在内的多种必需营养元素。钙卫蛋白是人类宿主营养免疫功能的关键蛋白^[6]。

钙卫蛋白^[98]属于S100蛋白家族,由两个亚单位即移动抑制因子相关蛋白8型和14型(MRP8和MRP14,又被称为S100A8和S100A9)所构成的异二聚物。当有过剩的 Ca^{2+} 存在时,钙卫蛋白由 $\alpha\beta$ 异二聚体形式变换为 $\alpha_2\beta_2$ 型,在界面上形成位点1(His3Asp)和位点2(His6)两个过渡金属结合位点,对金属进行结合^[99,100]。其中,位点1与锌离子之间存在高亲和力,而位点2对 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 和 Zn^{2+} 均具有高亲和力。在感染过程中,钙卫蛋白从宿主细胞中释放出来,隔离微生物可利用的亚铁离子,以阻止微生物获取铁。

钙卫蛋白能够通过稳定富氧溶液中的亚铁离子来改变铁氧化还原平衡,从而在富氧与缺氧环境中隔离铁。钙卫蛋白与 Fe^{2+} 的配位能力超过了其他已知的 Fe^{2+} 结合蛋白。钙卫蛋白提供了一种以前很少受到关注的营养免疫形式:宿主和微生物之间对亚铁离子的争夺。它的 Fe^{2+} 隔离功能能够影响细菌的毒力和代谢,进而抑制鲍曼不动杆菌的生存,是值得研究的抗菌策略^[96,101-103]。

3 总结与展望

为应对鲍曼不动杆菌耐药性的快速发展,延缓抗生素后时代的来临,开发新的抗菌策略势在必行,抑制鲍曼不动杆菌铁摄取是切实有效的治疗方案。本文对鲍曼不动杆菌的一系列铁摄取机制与如何针对这些铁摄取机制采取有效措施这两方面进行了综述。对于鲍曼不动杆菌的铁转运系统、铁载体、血红素铁摄取途径的铁摄取机制,本文列举了一系列正在使用的或者仍在基础研究阶段的对该病原菌的策略,为鲍曼不动杆菌感染的防控提供了新思路。

目前,鲍曼不动杆菌铁摄取的详细机制仍在研究中,一些新技术手段的开发也为研究过程提供了方法,

如开发用于检测 Fe^{2+} 及heme的小分子荧光探针作为有效监测工具,可能应用于HemT系统铁摄取机制的深入探究^[104]。

而基于铁摄取的抗菌策略的有效性和安全性方面也存在以下值得注意或尚需解决的问题:①由于铁获取系统的多重性,单独抑制某个铁载体获取系统可能会导致其他铁摄取途径更为活跃^[28],产生补偿机制。因此,同时靶向多个铁获取系统,可能更有效地抑制细菌铁摄取,如镓卟啉与硝酸镓的联用,可双重抑制基于铁载体和血红素途径的铁摄取。然而考虑到安全性的问题,基于多个细菌特异性的靶点的抗菌策略更为稳妥^[97,105]。②使用外源性铁螯合剂干扰细菌铁摄取策略也存在一定的弊端,一些铁摄取能力更强的病原体能够利用螯合物中的铁,获得相对于初始病原体的竞争优势,导致使用铁螯合剂治疗后的继发性感染。因此,开发具有抗多种病原体活性的铁螯合剂至关重要^[78]。③铁螯合剂和镓基化合物发挥对细菌铁摄取干扰的同时,对于宿主影响也是不可避免的,因此存在潜在毒性。目前报道的铁螯合剂都具有良好的耐受性,但是改变它们的浓度或代谢方式可能对宿主细胞和组织产生不利影响,因此对它们的使用方法要进行深入的研究并进行严格的规定^[97,106,107]。

作者贡献: 张芷萌负责文章的构思撰写及文献资料的收集整理;庞晶和游雪甫负责文章的选题、内容讨论并对文章进行了细致的修改和校对。

利益冲突: 所有作者均声明无利益冲突。

References

- [1] Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis [J]. *Lancet Infect Dis*, 2018, 18: 318-327.
- [2] Parquet MDC, Savage KA, Allan DS, et al. Antibiotic-resistant *Acinetobacter baumannii* is susceptible to the novel iron-sequestering anti-infective DIBI *in vitro* and in experimental pneumonia in mice [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2019, 63: 373.
- [3] McConnell MJ, Actis L, Pachón J. *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models [J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2013, 37: 130-155.
- [4] Law SKK, Tan HS. The role of quorum sensing, biofilm formation, and iron acquisition as key virulence mechanisms in *Acinetobacter baumannii* and the corresponding anti-virulence strategies [J]. *Microbiol Res*, 2022, 260: 127032.
- [5] Selvaraj A, Valliammai A, Muthuramalingam P, et al. Proteomic and systematic functional profiling unveils citral targeting

- antibiotic resistance, antioxidant defense, and biofilm-associated two-component systems of *Acinetobacter baumannii* to cucumber biofilm and virulence traits [J]. *mSystems*, 2020, 5: e00986-20.
- [6] Cook-Libin S, Sykes EME, Kornelsen V, et al. Iron acquisition mechanisms and their role in the virulence of *Acinetobacter baumannii* [J]. *Infect Immun*, 2022, 90: e0022322.
- [7] Sheldon JR, Skaar EP. *Acinetobacter baumannii* can use multiple siderophores for iron acquisition, but only acinetobactin is required for virulence [J]. *PLoS Pathog*, 2020, 16: e1008995.
- [8] Kongthai P, Thummeepak R, Leungtongkam U, et al. Insight into molecular epidemiology, antimicrobial resistance, and virulence genes of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* in Thailand [J]. *Microb Drug Resist*, 2021, 27: 350-359.
- [9] Runci F, Gentile V, Frangipani E, et al. Contribution of active iron uptake to *Acinetobacter baumannii* pathogenicity [J]. *Infect Immun*, 2019, 87: e00755-18.
- [10] Luna BM, Ershova K, Yan J, et al. Adjunctive transferrin to reduce the emergence of antibiotic resistance in Gram-negative bacteria [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2019, 74: 2631-2639.
- [11] Ratledge C. Iron metabolism and infection [J]. *Food Nutr Bull*, 2007, 28: S515-S523.
- [12] Weinberg ED. Nutritional immunity. Host's attempt to withhold iron from microbial invaders [J]. *JAMA*, 1975, 231: 39-41.
- [13] Pontual L. Iron and susceptibility to infections [J]. *Arch Pediatr*, 2017, 24: 5S14-5S17.
- [14] Kochan I. The role of iron in bacterial infections, with special consideration of host-tubercle bacillus interaction [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 1973, 60: 1-30.
- [15] Ramirez MS, Penwell WF, Traglia GM, et al. Identification of potential virulence factors in the model strain *Acinetobacter baumannii* A118 [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 1599.
- [16] de Oliveira DMP, Forde BM, Kidd TJ, et al. Antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2020, 33: 00181-19.
- [17] Dhurve G, Madikonda AK, Jagannadham MV, et al. Outer membrane vesicles of *Acinetobacter baumannii* DS002 are selectively enriched with TonB-dependent transporters and play a key role in iron acquisition [J]. *Microbiol Spectr*, 2022, 10: e0029322.
- [18] Schryvers AB. Targeting bacterial transferrin and lactoferrin receptors for vaccines [J]. *Trends Microbiol*, 2022, 30: 820-830.
- [19] Mortensen BL, Skaar EP. The contribution of nutrient metal acquisition and metabolism to *Acinetobacter baumannii* survival within the host [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2013, 3: 95.
- [20] Skaar EP. The battle for iron between bacterial pathogens and their vertebrate hosts [J]. *PLoS Pathog*, 2010, 6: e1000949.
- [21] Hood MI, Skaar EP. Nutritional immunity: transition metals at the pathogen-host interface [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2012, 10: 525-537.
- [22] Ramezanalizadeh F, Rasooli I, Owlia P. Protective response against *Acinetobacter baumannii* with ferric iron receptors HemTR-BauA in a murine sepsis model [J]. *Future Microbiol*, 2021, 16: 143-157.
- [23] Pimentel C, Le C, Tuttobene MR, et al. Human pleural fluid and human serum albumin modulate the behavior of a hypervirulent and multidrug-resistant (MDR) *Acinetobacter baumannii* representative strain [J]. *Pathogens*, 2021, 10: 471.
- [24] Giardina BJ, Shahzad S, Huang W, et al. Heme uptake and utilization by hypervirulent *Acinetobacter baumannii* LAC-4 is dependent on a canonical heme oxygenase (abHemO) [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2019, 672: 108066.
- [25] Sheldon JR, Laakso HA, Heinrichs DE. Iron acquisition strategies of bacterial pathogens [J]. *Microbiol Spectr*, 2016. DOI: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0010-2015.
- [26] Álvarez-Fraga L, Vázquez-Ucha JC, Martínez-Gutián M, et al. Pneumonia infection in mice reveals the involvement of the *feoA* gene in the pathogenesis of *Acinetobacter baumannii* [J]. *Virulence*, 2018, 9: 496-509.
- [27] Penwell WF, DeGrace N, Tentarelli S, et al. Discovery and characterization of new hydroxamate siderophores, baumannoferrin A and B, produced by *Acinetobacter baumannii* [J]. *ChemBiochem*, 2015, 16: 1896-1904.
- [28] Antunes LC, Imperi F, Towner KJ, et al. Genome-assisted identification of putative iron-utilization genes in *Acinetobacter baumannii* and their distribution among a genotypically diverse collection of clinical isolates [J]. *Res Microbiol*, 2011, 162: 279-284.
- [29] Yue HX, Cheng AC, Liu MF. The Structure and regulation of ECF sigma factor in iron acquisition of some Gram-negative bacteria [J]. *Chin J Biochem Mol Biol (中国生物化学与分子生物学报)*, 2017, 33: 108-115.
- [30] Eijkelkamp BA, Hassan KA, Paulsen IT, et al. Investigation of the human pathogen *Acinetobacter baumannii* under iron limiting conditions [J]. *BMC Genomics*, 2011, 12: 126.
- [31] Dorsey CW, Tolmasky ME, Crosa JH, et al. Genetic organization of an *Acinetobacter baumannii* chromosomal region harbouring genes related to siderophore biosynthesis and transport [J]. *Microbiology (Reading)*, 2003, 149: 1227-1238.
- [32] Echenique JR, Arienti H, Tolmasky ME, et al. Characterization of a high-affinity iron transport system in *Acinetobacter baumannii* [J]. *J Bacteriol*, 1992, 174: 7670-7679.
- [33] Lau CK, Ishida H, Liu Z, et al. Solution structure of *Escherichia coli* FeoA and its potential role in bacterial ferrous iron transport [J]. *J Bacteriol*, 2013, 195: 46-55.
- [34] Heinzl GA, Huang W, Yu W, et al. Iminoguanidines as allosteric inhibitors of the iron-regulated heme oxygenase (HemO) of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *J Med Chem*, 2016, 59: 6929-6942.
- [35] Nogbou ND, Ramashia M, Nkawane GM, et al. Whole-genome sequencing of a colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* strain

- isolated at a tertiary health facility in Pretoria, South Africa [J]. *Antibiotics* (Basel), 2022, 11: 594.
- [36] Bateman TJ, Shah M, Ho TP, et al. A Slam-dependent hemophore contributes to heme acquisition in the bacterial pathogen *Acinetobacter baumannii* [J]. *Nat Commun*, 2021, 12: 6270.
- [37] Proschak A, Lubuta P, Grün P, et al. Structure and biosynthesis of fimsbactins A-F, siderophores from *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter baylyi* [J]. *ChemBiochem*, 2013, 14: 633-638.
- [38] Artuso I, Poddar H, Evans BA, et al. Genomics of *Acinetobacter baumannii* iron uptake [J]. *Microb Genom*, 2023, 9: mgen001080.
- [39] Choi U, Lee CR. Distinct roles of outer membrane porins in antibiotic resistance and membrane integrity in *Escherichia coli* [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 953.
- [40] Yakkala H, Samantarrai D, Gribskov M, et al. Comparative genome analysis reveals niche-specific genome expansion in *Acinetobacter baumannii* strains [J]. *PLoS One*, 2019, 14: e0218204.
- [41] Ferguson AD, Deisenhofer J. TonB-dependent receptors-structural perspectives [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 1565: 318-332.
- [42] Usher KC, Ozkan E, Gardner KH, et al. The plug domain of FepA, a TonB-dependent transport protein from *Escherichia coli*, binds its siderophore in the absence of the transmembrane barrel domain [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98: 10676-10681.
- [43] Ahmer BM, Thomas MG, Larsen RA, et al. Characterization of the *exbBD* operon of *Escherichia coli* and the role of ExbB and ExbD in TonB function and stability [J]. *J Bacteriol*, 1995, 177: 4742-4747.
- [44] Larsen RA, Myers PS, Skare JT, et al. Identification of TonB homologs in the family Enterobacteriaceae and evidence for conservation of TonB-dependent energy transduction complexes [J]. *J Bacteriol*, 1996, 178: 1363-1373.
- [45] Noinaj N, Guillier M, Barnard TJ, et al. TonB-dependent transporters: regulation, structure, and function [J]. *Annu Rev Microbiol*, 2010, 64: 43-60.
- [46] Tuckman M, Osburne MS. *In vivo* inhibition of TonB-dependent processes by a TonB box consensus pentapeptide [J]. *J Bacteriol*, 1992, 174: 320-323.
- [47] Escolar L, Pérez-Martín J, de Lorenzo V. Opening the iron box: transcriptional metalloregulation by the Fur protein [J]. *J Bacteriol*, 1999, 181: 6223-6229.
- [48] Beauchene NA, Mettert EL, Moore LJ, et al. O₂ availability impacts iron homeostasis in *Escherichia coli* [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114: 12261-12266.
- [49] Yu C, Genco CA. Fur-mediated global regulatory circuits in pathogenic *Neisseria* species [J]. *J Bacteriol*, 2012, 194: 6372-6381.
- [50] Fillat MF. The Fur (ferric uptake regulator) superfamily: diversity and versatility of key transcriptional regulators [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2014, 54: 641-652.
- [51] Wilson BR, Bogdan AR, Miyazawa M, et al. Siderophores in iron metabolism: from mechanism to therapy potential [J]. *Trends Mol Med*, 2016, 22: 1077-1090.
- [52] Golonka R, Yeoh BS, Vijay-Kumar M. The iron tug-of-war between bacterial siderophores and innate immunity [J]. *J Innate Immun*, 2019, 11: 249-262.
- [53] Mortensen BL, Rathi S, Chazin WJ, et al. *Acinetobacter baumannii* response to host-mediated zinc limitation requires the transcriptional regulator Zur [J]. *J Bacteriol*, 2014, 196: 2616-2626.
- [54] Pham TN, Loupias P, Dassonville-Klimpt A, et al. Drug delivery systems designed to overcome antimicrobial resistance [J]. *Med Res Rev*, 2019, 39: 2343-2396.
- [55] Liu FT, Fan HN, Shen LX, et al. Iron acquisition by bacterial and adaptive immune responses [J]. *Microbiol China* (微生物学通报), 2019, 46: 3432-3439.
- [56] Penwell WF, Arivett BA, Actis LA. The *Acinetobacter baumannii* *entA* gene located outside the acinetobactin cluster is critical for siderophore production, iron acquisition and virulence [J]. *PLoS One*, 2012, 7: e36493.
- [57] Klebba PE, Newton MC, Six DA, et al. Iron acquisition systems of Gram-negative bacterial pathogens define TonB-dependent pathways to novel antibiotics [J]. *Chem Rev*, 2021, 121: 5193-5239.
- [58] Shapiro JA, Wencewicz TA. Acinetobactin isomerization enables adaptive iron acquisition in *Acinetobacter baumannii* through pH-triggered siderophore swapping [J]. *ACS Infect Dis*, 2016, 2: 157-168.
- [59] Yamamoto S, Okujo N, Sakakibara Y. Isolation and structure elucidation of acinetobactin, a novel siderophore from *Acinetobacter baumannii* [J]. *Arch Microbiol*, 1994, 162: 249-254.
- [60] Song WY, Kim HJ. Current biochemical understanding regarding the metabolism of acinetobactin, the major siderophore of the human pathogen *Acinetobacter baumannii*, and outlook for discovery of novel anti-infectious agents based thereon [J]. *Nat Prod Rep*, 2020, 37: 477-487.
- [61] Bohac TJ, Fang L, Giblin DE, et al. Fimsbactin and acinetobactin compete for the periplasmic siderophore binding protein BauB in pathogenic *Acinetobacter baumannii* [J]. *ACS Chem Biol*, 2019, 14: 674-687.
- [62] Sidonio RF Jr, Pipe SW, Callaghan MU, et al. Discussing investigational AAV gene therapy with hemophilia patients: a guide [J]. *Blood Rev*, 2021, 47: 100759.
- [63] Peleg AY, de Breij A, Adams MD, et al. The success of acinetobacter species; genetic, metabolic and virulence attributes [J]. *PLoS One*, 2012, 7: e46984.
- [64] Antunes LC, Imperi F, Carattoli A, et al. Deciphering the multifactorial nature of *Acinetobacter baumannii* pathogenicity

- [J]. PLoS One, 2011, 6: e22674.
- [65] Harris G, Kuo Lee R, Lam CK, et al. A mouse model of *Acinetobacter baumannii*-associated pneumonia using a clinically isolated hypervirulent strain [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2013, 57: 3601-3613.
- [66] Hamidian M, Hall RM. Dissemination of novel Tn7 family transposons carrying genes for synthesis and uptake of fimsbactin siderophores among *Acinetobacter baumannii* isolates [J]. Microb Genom, 2021, 7: 000548.
- [67] Nimma R, Kumar A, Gani Z, et al. Characterization of the enzymatic and multifunctional properties of *Acinetobacter baumannii* erythrose-4-phosphate dehydrogenase (E4PDH) [J]. Microb Pathog, 2023, 175: 105992.
- [68] Li C, Zhu L, Wang D, et al. T6SS secretes an LPS-binding effector to recruit OMVs for exploitative competition and horizontal gene transfer [J]. ISME J, 2022, 16: 500-510.
- [69] Choby JE, Skaar EP. Heme synthesis and acquisition in bacterial pathogens [J]. J Mol Biol, 2016, 428: 3408-3428.
- [70] Bateman M, Saunders B, Littlewood C, et al. Development of an optimised physiotherapist-led treatment protocol for lateral elbow tendinopathy: a consensus study using an online nominal group technique [J]. BMJ Open, 2021, 11: e053841.
- [71] Ayoub Moubareck C, Hammoudi Halat D. Insights into *Acinetobacter baumannii*: a review of microbiological, virulence, and resistance traits in a threatening nosocomial pathogen [J]. Antibiotics (Basel), 2020, 9: 119.
- [72] Cartron ML, Maddocks S, Gillingham P, et al. Feo--transport of ferrous iron into bacteria [J]. Biometals, 2006, 19: 143-157.
- [73] Fereshteh S, Abdoli S, Shahcheraghi F, et al. New putative vaccine candidates against *Acinetobacter baumannii* using the reverse vaccinology method [J]. Microb Pathog, 2020, 143: 104114.
- [74] Chaudhuri S, Rasooli I, Oskouei RH, et al. Hybrid antigens expressing surface loops of BauA from *Acinetobacter baumannii* are capable of inducing protection against infection [J]. Front Immunol, 2022, 13: 933445.
- [75] Aghajani Z, Rasooli I, Mousavi Gargari SL. Exploitation of two siderophore receptors, BauA and BfnH, for protection against *Acinetobacter baumannii* infection [J]. APMIS, 2019, 127: 753-763.
- [76] Ramezanalizadeh F, Rasooli I, Owlia P, et al. Vaccination with a combination of planktonic and biofilm virulence factors confers protection against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains [J]. Sci Rep, 2022, 12: 19909.
- [77] Ramezanalizadeh F, Owlia P, Rasooli I. Type I pili, CsuA/B and FimA induce a protective immune response against *Acinetobacter baumannii* [J]. Vaccine, 2020, 38: 5436-5446.
- [78] Post SJ, Shapiro JA, Wuest WM. Connecting iron acquisition and biofilm formation in the ESKAPE pathogens as a strategy for combatting antibiotic resistance [J]. Medchemcomm, 2019, 10: 505-512.
- [79] Wencewicz TA, Möllmann U, Long TE, et al. Is drug release necessary for antimicrobial activity of siderophore-drug conjugates? Syntheses and biological studies of the naturally occurring salmycin "Trojan Horse" antibiotics and synthetic desferridanoxamine-antibiotic conjugates [J]. Biometals, 2009, 22: 633-648.
- [80] Zheng T, Nolan EM. Enterobactin-mediated delivery of beta-lactam antibiotics enhances antibacterial activity against pathogenic *Escherichia coli* [J]. J Am Chem Soc, 2014, 136: 9677-9691.
- [81] Ross-Gillespie A, Weigert M, Brown SP, et al. Gallium-mediated siderophore quenching as an evolutionarily robust antibacterial treatment [J]. Evol Med Public Health, 2014, 2014: 18-29.
- [82] Neres J, Wilson DJ, Celia L, et al. Aryl acid adenylating enzymes involved in siderophore biosynthesis: fluorescence polarization assay, ligand specificity, and discovery of non-nucleoside inhibitors via high-throughput screening [J]. Biochemistry, 2008, 47: 11735-11749.
- [83] Mihara K, Tanabe T, Yamakawa Y, et al. Identification and transcriptional organization of a gene cluster involved in biosynthesis and transport of acinetobactin, a siderophore produced by *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606T [J]. Microbiology (Reading), 2004, 150: 2587-2597.
- [84] López-Rojas R, García-Quintanilla M, Labrador-Herrera G, et al. Impaired growth under iron-limiting conditions associated with the acquisition of colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* [J]. Int J Antimicrob Agents, 2016, 47: 473-477.
- [85] Neres J, Engelhart CA, Drake EJ, et al. Non-nucleoside inhibitors of BasE, an adenylating enzyme in the siderophore biosynthetic pathway of the opportunistic pathogen *Acinetobacter baumannii* [J]. J Med Chem, 2013, 56: 2385-2405.
- [86] Bohac TJ, Shapiro JA, Wencewicz TA. Rigid oxazole acinetobactin analog blocks siderophore cycling in *Acinetobacter baumannii* [J]. ACS Infect Dis, 2017, 3: 802-806.
- [87] Marazzato M, Scribano D, Sarshar M, et al. Genetic diversity of antimicrobial resistance and key virulence features in two extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates [J]. Int J Environ Res Public Health, 2022, 19: 2870.
- [88] FDA approves new antibacterial drug to treat complicated urinary tract infections as part of ongoing efforts to address antimicrobial resistance [EB/OL]. Silver Spring, Maryland: U.S. Food and Drug Administration, 2019-11-14. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-new-antibacterial-drug-treat-complicated-urinary-tract-infections-part-ongoing-efforts>.
- [89] Ito A, Nishikawa T, Matsumoto S, et al. Siderophore cephalosporin cefiderocol utilizes ferric iron transporter systems for antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60: 7396-7401.
- [90] Karakonstantis S, Rousaki M, Vassilopoulou L, et al. Global prevalence of cefiderocol non-susceptibility in *Enterobacteriales*,

- Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, and *Stenotrophomonas maltophilia*: a systematic review and meta-analysis [J]. Clin Microbiol Infect, 2024, 30: 178-188.
- [91] Asrat H, Samaroo-Campbell J, Ata S, et al. Contribution of iron-transport systems and β -lactamases to cefiderocol resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* endemic to New York city [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2023, 67: 0023423.
- [92] Ghosh M, Miller PA, Möllmann U, et al. Targeted antibiotic delivery: selective siderophore conjugation with daptomycin confers potent activity against multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* both *in vitro* and *in vivo* [J]. J Med Chem, 2017, 60: 4577-4583.
- [93] Moynié L, Luscher A, Rolo D, et al. Structure and function of the PiuA and PirA siderophore-drug receptors from *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2017, 61: 02531-16.
- [94] Wenciewicz TA, Miller MJ. Biscatecholate-monohydroxamate mixed ligand siderophore-carbacephalosporin conjugates are selective sideromycin antibiotics that target *Acinetobacter baumannii* [J]. J Med Chem, 2013, 56: 4044-4052.
- [95] Choi SR, Britigan BE, Narayanasamy P. Dual inhibition of *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* iron metabolism using gallium porphyrin and gallium nitrate [J]. ACS Infect Dis, 2019, 5: 1559-1569.
- [96] Choi SR, Britigan BE, Narayanasamy P. Iron/heme metabolism-targeted Gallium (III) nanoparticles are active against extracellular and intracellular *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2019, 63: 02643-18.
- [97] Ribeiro M, Sousa CA, Simoes M. Harnessing microbial iron chelators to develop innovative therapeutic agents [J]. J Adv Res, 2022, 39: 89-101.
- [98] Baker TM, Nakashige TG, Nolan EM, et al. Magnetic circular dichroism studies of iron(ii) binding to human calprotectin [J]. Chem Sci, 2017, 8: 1369-1377.
- [99] Damo SM, Feldkamp MD, Chagot B, et al. NMR studies of the interaction of calmodulin with IQ motif peptides [J]. Methods Mol Biol, 2013, 963: 173-186.
- [100] Zygiel EM, Nolan EM. Exploring iron withholding by the innate immune protein human calprotectin [J]. Acc Chem Res, 2019, 52: 2301-2308.
- [101] Zygiel EM, Nelson CE, Brewer LK, et al. The human innate immune protein calprotectin induces iron starvation responses in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. J Biol Chem, 2019, 294: 3549-3562.
- [102] Wang J, Lonergan ZR, Gonzalez-Gutierrez G, et al. Multi-metal restriction by calprotectin impacts *de novo* flavin biosynthesis in *Acinetobacter baumannii* [J]. Cell Chem Biol, 2019, 26: 745-755.e7.
- [103] Besold AN, Culbertson EM, Nam L, et al. Antimicrobial action of calprotectin that does not involve metal withholding [J]. Metallomics, 2018, 10: 1728-1742.
- [104] Chen C, Chen YX, Zhang CJ. Research progress of small molecule fluorescent probes for ferrous ion and heme [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2023, 58: 2250-2259.
- [105] Zhao XT, Li TL, Zhang WX, et al. Research progress on siderophore-antibiotic conjugates [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2021, 56: 3004-3013.
- [106] Vinuesa V, McConnell MJ. Recent advances in iron chelation and Gallium-based therapies for antibiotic resistant bacterial infections [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22: 2876.
- [107] Cappellini MD, Cohen A, Piga A, et al. A phase 3 study of deferasirox (ICL670), a once-daily oral iron chelator, in patients with beta-thalassemia [J]. Blood, 2006, 107: 3455-3462.