

DOI:10.20176/j.cnki.nxdz.20260705

Tet(X)家族介导的四环素耐药性 及其抑制剂的研究进展

薛津晶¹, 田丽芝¹, 王丽¹, 孟佳琪², 周永林^{1*}

(1.宁夏大学 生命科学学院, 宁夏 银川 750021; 2.宁夏大学 新华学院, 宁夏 银川 750021)

摘要:四环素类抗生素是临床治疗多重耐药革兰氏阴性菌感染的核心药物之一。替加环素作为第三代四环素类药物,是临床应对耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌(CRE)、多重耐药鲍曼不动杆菌(MDR-Ab)、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)和耐万古霉素肠球菌(VRE)等多重耐药菌感染的“最后一道防线”。既往研究普遍认为,Tet(X)家族黄素依赖型单加氧酶仅存在于环境微生物中,且仅介导细菌对四环素类抗生素产生低水平耐药。然而2019年,我国科研团队首次发现了由质粒介导的四环素降解酶Tet(X3)和Tet(X4),二者可使革兰氏阴性菌对包括替加环素在内的所有四环素类抗生素产生高水平耐药。目前,Tet(X3)、Tet(X4)及其突变体已在全球快速扩散,临床菌株检出率逐年升高,极大削弱了四环素类药物的临床治疗效果,给临床抗感染诊疗及全球公共卫生安全带来严峻挑战。论文全面归纳总结了各类Tet(X)耐药酶的分子结构特征、催化机制、传播流行规律及其抑制剂的研究进展。同时剖析当前抑制剂研发面临的核心瓶颈,包括成药性差、靶点选择性低、体内药效不明确、临床转化进程滞后等问题,并从优化抑制剂分子结构优化、新型筛选技术开发等角度,系统展望该领域后续研究方向与耐药防控策略,以期临床防控Tet(X)介导的四环素类耐药菌感染提供文献依据与研究思路。

关键词:Tet(X);四环素;替加环素;抑制剂;耐药菌

分类号:(中图)R978.1;Q939.92

文献标志码:A

四环素类抗生素是一类具有氢化并四苯母核结构的广谱抗菌药物,自20世纪40年代四环素首次应用于临床以来,土霉素、金霉素、多西环素、米诺环素等系列药物相继研发上市,凭借抗菌谱广、口服吸收良好、给药方式多样、生产成本低廉、安全性良好等诸多优势,迅速在人类临床医疗、畜禽养殖业、水产养殖业、宠物诊疗等领域得到广泛应用^[1-3]。在临床治疗中,四环素类药物可覆盖革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、支原体、衣原体、立克次体、螺旋体等多种致病菌,常用于治疗呼吸道感染、泌尿系统感染、皮肤软组织感染、腹腔感染。此外,四环素类药物还可用于辅助治疗布鲁菌病、鼠疫、恙虫病等特殊病原体感染,同时也是青霉素

过敏患者的重要替代治疗药物^[1-4]。但长期不合理的使用,直接导致细菌对四环素类药物的耐药性持续增强,使得传统四环素类药物因普遍耐药将逐渐退出临床一线,仅保留局部外用制剂。为应对严峻的耐药问题,科研人员通过对四环素母核进行结构修饰,成功研发出替加环素、依拉环素和奥马环素等新一代四环素类药物,此类药物通过结构改造有效规避了细菌主动外排泵、核糖体保护蛋白介导的传统四环素耐药机制,对多重耐药革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌均展现出强效抗菌活性,成为临床治疗CRE、MDR-Ab等超级细菌感染的最后一道防线,极大地弥补了临床重症抗感染用药的缺口^[4-6]。

收稿日期:2026-05-18

基金项目:宁夏自然科学基金资助项目(2025AAC050040);国家自然科学基金资助项目(32560874);宁夏青年科技托举人才培养项目

作者简介:薛津晶(2000—),女,硕士研究生,主要从事天然化合物抗耐药菌感染研究,(电子信箱)12023131006@stu.nxu.edu.cn。

***通信联系人:**周永林(1992—),男,副教授,博士,主要从事多策略抗耐药病原菌感染的分子机制研究,(电子信箱)zhouyonglin333@nxu.edu.cn。

引用格式:薛津晶,田丽芝,王丽,等.Tet(X)家族介导的四环素耐药性及其抑制剂的研究进展[J].宁夏大学学报(自然科学版中英文),2026,47(4):381-392.

然而,随着新一代四环素类药物在临床和畜禽养殖领域的应用范围不断扩大,细菌耐药机制持续发生适应性进化,新型四环素耐药机制不断涌现。其中,Tet(X)家族酶介导的四环素酶促灭活耐药,逐渐成为全球抗感染领域关注的焦点。与传统耐药机制不同,该耐药机制通过酶促反应直接破坏四环素类药物的核心化学结构,使其完全丧失抗菌活性,且耐药基因可通过质粒、插入序列等可移动遗传元件在不同菌种间水平传播或垂直传播,导致新一代四环素类药物的抗菌疗效显著降低,导致临床多重耐药菌感染治疗方案屡屡失败,感染患者病死率显著升高,给全球公共卫生安全带来了前所未有的挑战^[7-8]。在此背景下,全球科研人员围绕 Tet(X)家族酶的生物学特性、耐药机制、传播规律及靶向抑制剂开展了大量研究,积累了丰富的研究成果,为该领域的深入发展奠定了坚实基础。

1 Tet(X)酶介导四环素耐药的基础研究进展

1.1 Tet(X)酶的发现

Tet(X)家族酶的研究历程可分为早期阶段、同源基因拓展阶段、突破性发现与全面深入研究阶段

3个关键时期(图1)。其研究热度和临床重要性与 Tet(X)亚型水解新型四环素类抗生素的能力密切相关。1991年,美国学者 Speer 等^[9]首次对环境微生物厌氧脆弱拟杆菌中发现并克隆了 *tet(X)* 耐药基因,该基因编码一种 NADP 依赖的氧化还原酶,可对传统四环素类药物进行弱氧化修饰,可介导低水平四环素耐药,这是 Tet(X)家族酶的首次学术报道,也是学术界对四环素灭活酶的初步认知。由于最初发现的 Tet(X)酶仅存在于环境微生物中,其催化活性低、耐药水平弱、传播能力有限,且未跨菌种传播至临床致病菌,因此在随后的二十年里,该耐药机制未受到全球抗感染领域的重点关注,相关研究进展较为缓慢。

2001年,科研人员在拟杆菌属菌株中相继发现 *tet(X1)*、*tet(X2)* 等同源耐药基因,通过基因序列比对与蛋白功能验证发现,*tet(X1)* 基因编码的蛋白酶无灭活四环素类抗生素的生物学活性^[10]。Tet(X2)酶的催化活性较原始 Tet(X)酶有所提升,可对传统四环素类药物产生较强的灭活作用,但对替加环素等新一代四环素类药物无显著催化灭活能力,仍未对临床四环素用药构成实质性威胁,相关研究仍局限于基础微生物学领域^[11]。

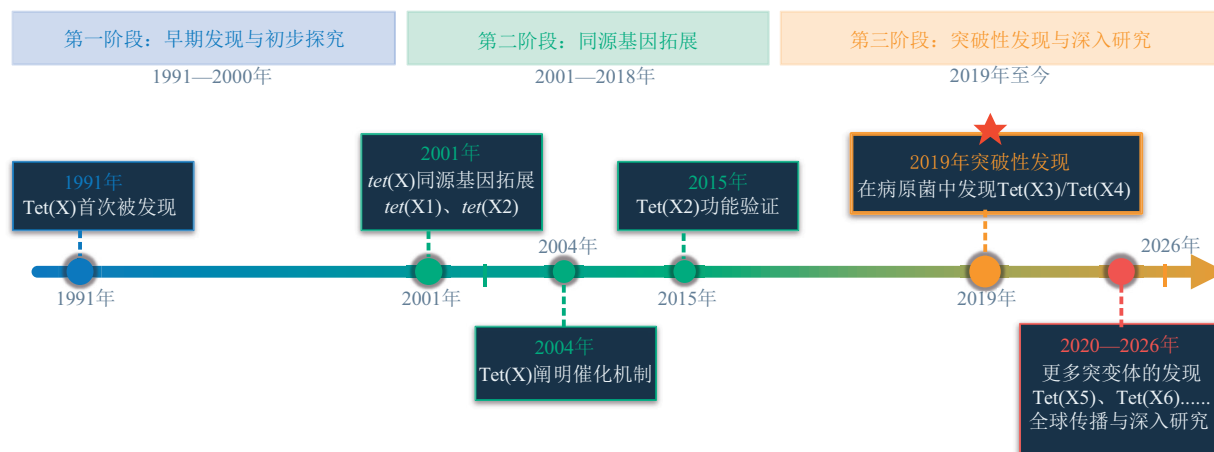


图1 Tet(X)酶的发现及进化时间线

Fig. 1 Timeline of the discovery and evolution of Tet(X) enzymes

2019年是 Tet(X)家族酶研究取得突破性进展的一年,中国农业大学沈建忠院士团队联合华南农业大学刘雅红教授团队,分别在国际顶级期刊 *Nature Microbiology* 发表研究成果,报道了首次在畜禽源大肠杆菌、鲍曼不动杆菌中发现质粒介导的高活性 *tet(X4)* 和 *tet(X3)* 耐药基因^[12-13]。功能验证结果表明,这两种新型基因编码的 Tet(X)亚型酶, Tet(X3)和 Tet(X4),可高效催化包括替加环素以及美国FDA最新批准的新型四环素类抗生素依拉

环素和奥马环素等在内的所有四环素类药物的氧化灭活,介导革兰氏阴性菌对四环素类抗生素产生高水平耐药,且 *tet(X4)* 和 *tet(X3)* 耐药基因可通过接合性质粒在大肠杆菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌和沙门氏菌等多种临床常见致病菌间水平转移,具备极强的传播扩散能力^[12-13]。上述研究成果彻底打破了“新一代四环素可规避所有四环素的耐药性”的临床认知^[12-14],引发全球抗感染、微生物耐药领域的高度关注,围绕 Tet(X)家族酶的研究迅速

展开,相关研究背景也进一步得到补充。

自首次报道以来,全球各国研究团队相继开展 *tet*(X) 家族耐药基因的流行病学监测与分子生物学研究。截至2026年,已在动物源、环境源和临床致病菌中陆续发现 *tet*(X5)、*tet*(X6)、*tet*(X7)、*tet*(X57) 等50余种变异亚型,其中 *tet*(X5)、*tet*(X6) 等高活性亚型在全球多地检出,其催化活性、传播能力较 *tet*(X3) 和 *tet*(X4) 进一步提升^[15-17]。同时,围绕 Tet(X) 酶的晶体结构、催化机制、传播途径、耐药防控及靶向抑制剂研发的研究成果呈爆发式增长,研究方向从基础生物学特性逐步转向临床应用转化,逐渐形成了较为完整、系统的研究体系^[18]。

1.2 Tet(X)酶分子结构特征

Tet(X) 家族酶本质上均属于黄素依赖性单加氧酶,是一类结构保守、功能专一的氧化还原酶。蛋白酶晶体结构与基因序列比对分析结果表明,该家族不同亚型酶的氨基酸序列同源性达65%以上,整体分子结构与功能结构域高度保守,其单体蛋白分子质量大小约40 ku,主要由3个核心保守结构域构成,包括N端结合结构域、中央底物结合结构域和C端结构域,各结构域分工明确,共同完成辅因子结合、底物识别与催化灭活过程^[18-19]。

N端结合结构域位于蛋白分子N端,由多个 β -折叠与 α -螺旋构成典型的Rossmann折叠构象,是结合辅因子的核心区域^[18]。该结构域含有高度保守的氨基酸基序GXGXXG,该基序可通过氢键与疏水作用精准识别并结合辅因子的核糖片段,保证辅因子结合的稳定性。序列分析显示,N端结合结构域在Tet(X)家族各亚型中保守性极高,氨基酸变异率小于10%,是维持Tet(X)酶催化活性的基础结构,其结构完整性直接决定酶对辅因子的结合能力与催化循环的启动^[19]。

中央底物结合结构域是Tet(X)家族酶的核心功能区域,由多个疏水氨基酸残基构成封闭式疏水催化口袋,是底物四环素结合、特异性羟基化修饰的关键位点。研究表明,Tet(X)家族高活性亚型(Tet(X3)、Tet(X4)和Tet(X5)等)与低活性亚型(Tet(X)、Tet(X1)和Tet(X2))的结构差异、催化活性差异主要集中于该结构域^[18-20]。晶体结构比对发现,高活性Tet(X)酶在底物结合口袋区域存在多个关键氨基酸突变^[21],包括I108T、L284V、N371K、V321A等,这些突变位点可有效扩大底物结合口袋的空间体积^[22],增强口袋对替加环素、依拉环素等新型四环素药物的包容度与结合亲和力,同时优化底物与酶催化中心的空间构象,大幅提升酶的催化

效率。而低活性Tet(X)酶的底物结合口袋空间狭小,仅能结合传统小分子四环素类药物,无法容纳或识别新一代四环素药物。

C端结构域由2个反向平行的 α -螺旋构成,主要起到连接N端结合结构域与中央底物结合结构域的作用,同时通过分子内氢键、疏水作用稳定整体蛋白构象,调控底物进入催化口袋的通道开合,保证催化反应的高效进行。此外,C端结构域还参与酶与核糖体、细胞膜的相互作用,对Tet(X)酶在细菌胞内的定位与功能发挥具有辅助作用^[18-19]。

除核心结构域外,Tet(X)酶还存在多个保守功能氨基酸位点,包括结合位点Pro26、Gly28、Glu46、Arg47,底物结合位点Gln192、Arg213、Phe224、His234,催化活性位点Asp101、Asn135等,这些位点在所有亚型中高度保守,是维持Tet(X)酶催化活性、底物识别能力的关键,任意位点的突变均会导致酶催化活性显著下降甚至完全丧失^[20-22]。

1.3 Tet(X)酶介导耐药的催化机制

研究人员通过生化检测、晶体结构解析与计算生物学等试验证实,Tet(X)酶对四环素类药物的催化灭活是一个严格依赖辅因子的分步氧化催化反应,整个过程需要黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)、还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)、分子氧和 Mg^{2+} 这四种关键辅因子共同参与,缺一不可,其具体催化灭活机制分为5个连续步骤(图2)^[11, 23]。

第一步为辅因子结合与还原:Tet(X)酶首先通过N端结合结构域,与氧化型辅因子FAD稳定结合,形成无活性的酶-辅因子复合物;随后,细菌胞内的还原型辅酶II(NADPH)作为电子供体,向酶-FAD复合物传递2个电子,将氧化型FAD还原为还原型 $FADH_2$,完成催化反应的启动准备,该过程是整个催化循环的限速步骤。第二步为分子氧活化:还原型 $FADH_2$ 具有高度化学活性,可快速与环境中的分子氧结合,形成不稳定的高活性过氧黄素中间体,该中间体具有强亲电子性,是实现四环素底物羟基化修饰的核心活性物质,其形成效率直接决定Tet(X)酶的催化速率。第三步为四环素底物结合:Tet(X)酶通过中央底物结合结构域,识别并结合四环素类药物分子,利用 Mg^{2+} 介导的螯合作用,将四环素母核固定于催化口袋内,使药物C11a位碳原子精准对准过氧黄素中间体的亲电攻击位点,保证催化反应的特异性。第四步为特异性羟基化修饰:高活性过氧黄素中间体对四环素母核C11a位碳原子发起亲电攻击,将一个羟基(-OH)转移

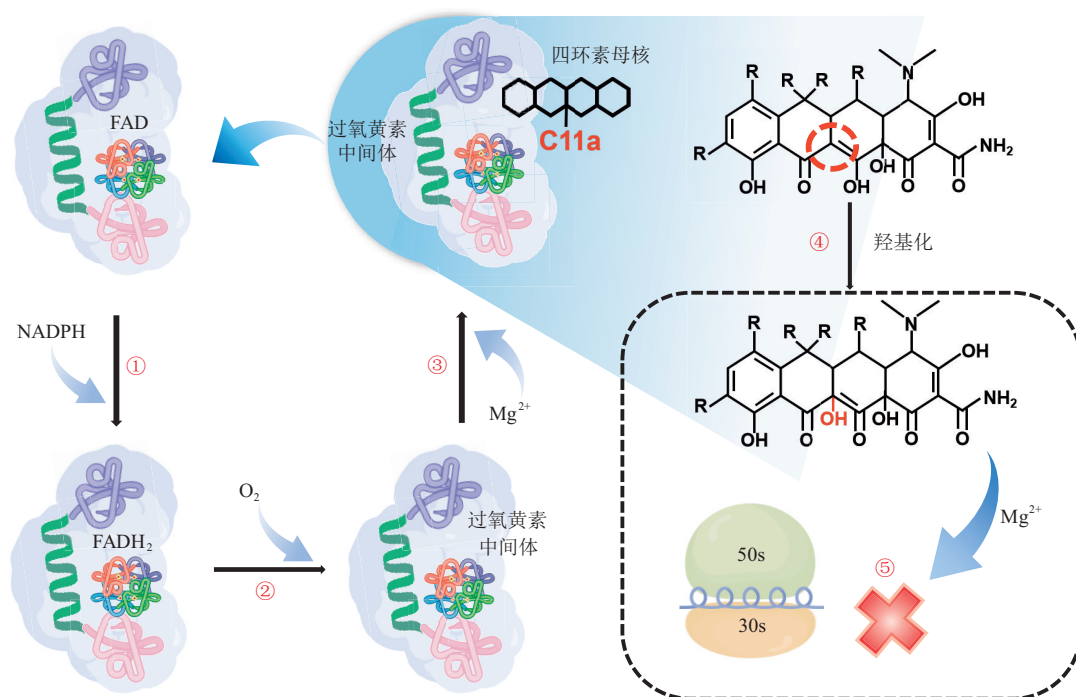


图 2 Tet(X)酶催化灭活四环素类药物机制图

Fig. 2 Mechanism of Tet(X)-mediated inactivation of tetracycline antibiotics

至该碳原子上,完成四环素底物的特异性羟基化修饰,同时过氧黄素中间体转化为氧化型FAD,重新进入下一轮催化循环。第五步为药物失活与耐药形成:经C11a位羟基化修饰后的四环素类药物,其化学结构发生根本性改变,无法通过 Mg^{2+} 螯合作用结合细菌核糖体30S亚基靶点,彻底丧失抑制细菌蛋白质合成的抗菌活性。携带 $tet(X)$ 基因的细菌由此获得高水平四环素耐药性,可在四环素类药物存在的环境中正常生长繁殖,最终导致临床抗感染治疗失败^[21, 23]。

与其他四环素耐药机制相比,Tet(X)酶(主要只存在于致病菌中的Tet(X3)、Tet(X4)和Tet(X5)等)介导的耐药具有特异性强、效率高和全谱覆盖的特点,可对所有四环素类药物实现完全灭活,且催化反应不可逆,一旦发生修饰,药物无法恢复抗菌活性,这也是该耐药机制对临床威胁极大的核心原因^[24]。

1.4 $tet(X)$ 耐药基因的传播与流行特征

$tet(X)$ 家族耐药基因能够广泛传播的核心原因在于可移动遗传元件质粒介导的水平转移,而非垂直传播,这也是其快速全球扩散的关键原因。目前研究证实,介导 $tet(X)$ 基因传播的可移动遗传元件主要包括接合型质粒、插入序列、转座子3种类型。结合型质粒是最主要的传播载体,包括IncQ、IncX1、IncFII、IncHI1、IncA/C2等多种质粒亚型

(图3),其中IncX1、IncFII型质粒的接合转移效率最高,可携带 $tet(X)$ 基因在大肠杆菌、肺炎克雷伯菌、阴沟肠杆菌等肠杆菌科细菌间高效转移^[25]。ISCR2插入序列是 $tet(X)$ 基因移动的核心驱动元件,可通过滚动环复制机制,携带 $tet(X)$ 基因在不同质粒、染色体之间发生转移,实现耐药基因的多载体传播。Tn4351、Tn6693、IS26等转座子,可辅助 $tet(X)$ 基因整合至细菌染色体或耐药质粒,增强耐药基因的稳定性,提升细菌的耐药水平^[26]。

自2019年高活性 $tet(X3)$ 和 $tet(X4)$ 基因被发现以来,全球已有超过20个国家和地区检出 $tet(X)$ 家族耐药基因阳性菌株,涵盖亚洲、欧洲、美洲、非洲和大洋洲,呈现全球性流行趋势^[10, 27-28]。从地域分布来看,中国是 $tet(X3)$ 和 $tet(X4)$ 基因的主要流行区域,在畜禽源、环境源、临床致病菌中的检出率均居全球首位,其中猪、鸡等畜禽源大肠杆菌中 $tet(X4)$ 基因检出率高达30%~50%^[27-28];其次为东南亚地区(泰国、越南、老挝)、南亚地区(印度、巴基斯坦),该地区畜牧养殖发达,四环素类药物使用量较大,Tet(X)阳性菌株检出率逐年上升;德国、法国、英国、美国、加拿大等欧美国家,主要在临床致病菌、进口畜禽产品中检出Tet(X)阳性菌株;非洲、大洋洲部分国家也在环境水体、野生动物体内检出该耐药基因,证实其已实现全球性扩散^[29-30]。

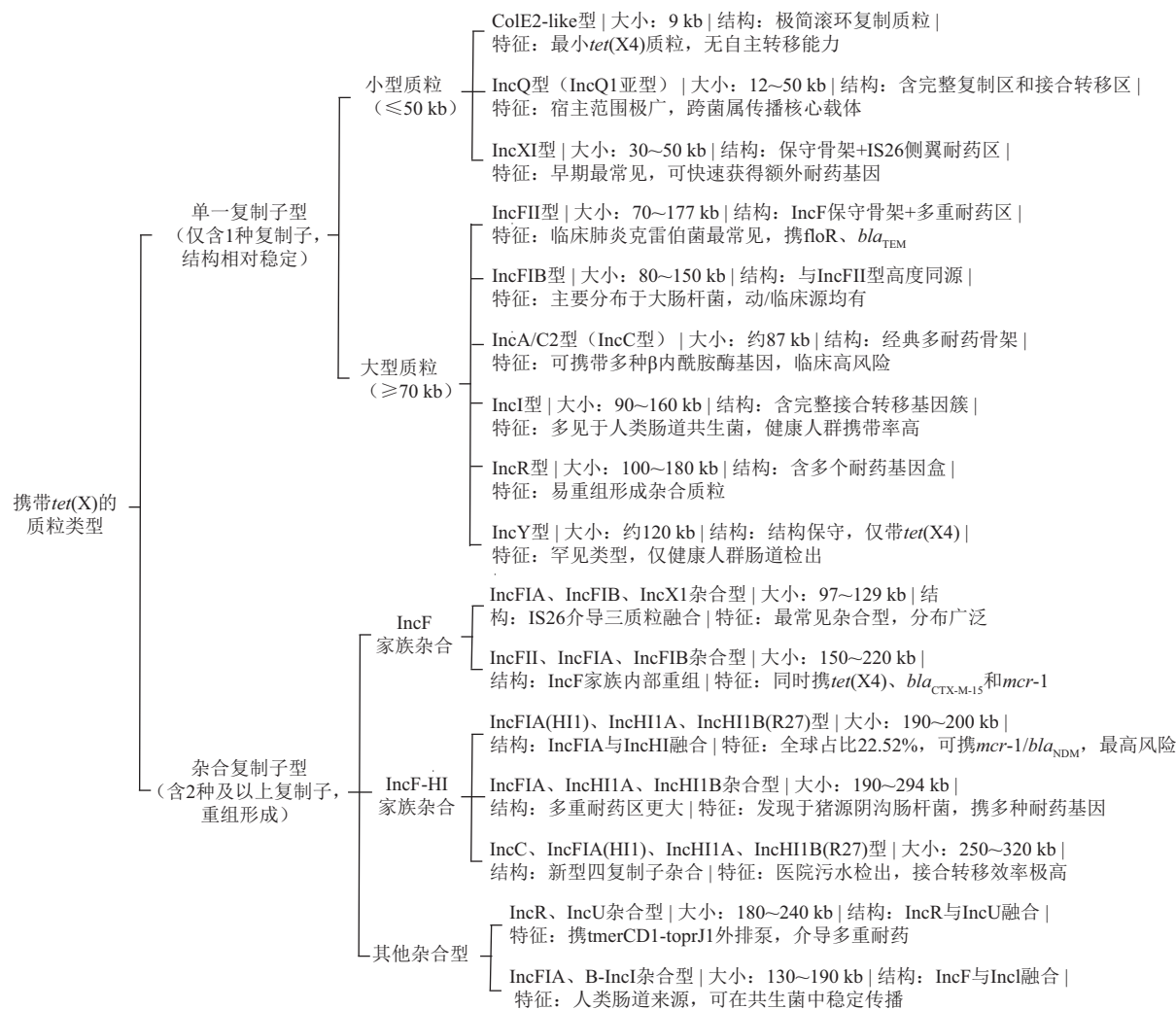


图3 介导*tet(X)*基因传播的常见质粒类型

Fig. 3 Common plasmid types mediating the dissemination of the *tet(X)* gene

*tet(X)*家族耐药基因的宿主菌范围不断扩大, 已从最初的拟杆菌属, 拓展至多种临床常见致病菌与条件致病菌。其中, 肠杆菌科细菌是最主要的宿主菌, 包括大肠杆菌、肺炎克雷伯菌、阴沟肠杆菌、沙门氏菌、变形杆菌等, 占 *Tet(X)* 阳性菌株的 80% 以上。其次为不动杆菌属, 包括鲍曼不动杆菌、印度不动杆菌等^[31]。此外, 在假单胞菌属、肠球菌属、葡萄球菌属、鸭疫里氏杆菌等菌种中也有检出, 宿主菌的广泛性进一步加剧了该耐药基因的传播风险。

*tet(X)*家族耐药基因的传播遵循“One Health”(同一健康)理念, 呈现“畜禽养殖-环境介质-人类临床”的跨物种传播链条。首先, 畜牧养殖环节四环素类药物的不合理使用, 产生强烈的耐药选择压力, 导致畜禽肠道内细菌产生 *tet(X)* 耐药基因, 使其成为耐药基因的主要储存库^[32-33]。其次, 畜禽粪便、养殖污水排放至土壤、水体等环境中, *tet(X)* 基因通过环境微生物在环境中持续存活、传播, 污染生鲜

食品、饮用水源^[32-33]。最后, 人类通过直接接触畜禽、食用污染食品、饮用污染水源等途径, 使 *Tet(X)* 阳性菌株进入人体肠道, 进而在人体致病菌中传播, 最终导致临床感染病例的发生, 形成完整的跨物种传播闭环^[32-34]。

2 *Tet(X)*酶抑制剂研究进展

针对 *Tet(X)* 酶介导的四环素类抗生素耐药问题难以解决的困境, 研发高效、安全、高选择性的 *Tet(X)* 酶抑制剂, 恢复四环素类药物的临床抗菌活性, 是当前应对该耐药机制的最有效策略之一。科研人员基于 *Tet(X)* 酶的分子结构、催化机制, 通过理性设计、高通量筛选、虚拟筛选等多种技术手段, 开展了大量抑制剂研发工作, 根据抑制剂的来源、结构类型与作用机制, 将 *Tet(X)* 酶抑制剂分为五大类, 着重陈述各类抑制剂的研究现状、作用机制、体内外活性及成药性进展(表1)^[8]。

2.1 底物类似物类抑制剂

底物类似物抑制剂是目前研究最为深入、抑制效果最明确、临床转化潜力最大的一类 Tet(X) 酶抑制剂,其研发核心思路是模拟四环素类药物的化学结构,竞争性占据 Tet(X) 酶的底物结合口袋,阻断四环素底物与酶的结合,抑制 C11a 位羟基化催化反应,从而保护四环素类药物不被催化降解失活。

脱水四环素(aTC)是该类抑制剂中最早被发现、研究最透彻的代表性化合物^[35]。体外生化试验、酶动力学分析证实,脱水四环素与四环素底物结构高度相似,可特异性结合 Tet(X) 酶的底物结合口袋,结合亲和力远高于天然四环素底物^[35],能有效竞争性抑制 Tet(X) 酶对四环素、替加环素和依拉环素等的催化灭活,体外半抑制浓度(IC₅₀)处于微摩尔级别,与四环素类药物联用可显著恢复其抗菌活性,抑菌圈直径、最小抑菌浓度(MIC)均显著降低。但天然脱水四环素存在水溶性差、体内稳定性弱、口服生物利用度低、体内半衰期短等缺陷,直接限制了其临床应用。

为克服天然脱水四环素的成药性缺陷,国内外研究团队基于结构生物学技术,对其进行多位点结构修饰与优化,研发出一系列高活性衍生物^[36-39]。2025 年 *ACS Infectious Diseases* 刊发的研究表明,在脱水四环素 C10 位引入苯甲酸酯类基团,合成的 C10-苯甲酸酯类脱水四环素衍生物,水溶性较母体化合物提升 10 倍以上,体内稳定性大幅增强,对 Tet(X3) 和 Tet(X4) 等高活性亚型酶的 IC₅₀ 降至纳摩尔级别,抑制活性提升 5~8 倍^[36]。在小鼠腹腔感染模型中,无显著体内毒性的抑制剂与替加环素联用可有效清除 Tet(X4) 阳性肺炎克雷伯菌,降低小鼠脏器细菌载量,缓解感染损伤。C10-苯甲酸酯衍生物为开发四环素药物联合疗法以克服 Tet(X) 介导的抗生素耐药性提供了有希望的新线索。另有研究通过在脱水四环素 C9 位引入苯甲酰胺、氟取代烷基等基团,优化衍生物的脂溶性与蛋白结合率,提升其广谱抑制活性,对多种 Tet(X) 亚型酶均展现出良好抑制效果^[37, 40]。此外,美他环素、地美环素、赖甲环素等四环素类衍生物也可作为弱底物竞争性抑制剂。虽然单独使用时抑制活性较弱,但与替加环素、依拉环素等新一代四环素药物联用时,可通过竞争性结合 Tet(X) 酶,发挥协同增效作用,显著降低四环素药物的 MIC,是临床联合用药的潜在选择。目前,底物类似物类抑制剂凭借其明确的作用机制、优异的抑制活性,被学界公认为最具临床转化价值的 Tet(X) 酶抑制剂,相关结构优化与临床

前研究仍在持续推进。

2.2 天然产物类抑制剂

天然化合物因结构多样性丰富、生物相容性好、毒副作用较低、来源广泛等多种优势,成为 Tet(X) 酶抑制剂筛选的重要资源库。目前主要是从植物、微生物、海洋生物次生代谢产物中筛选具有 Tet(X) 酶抑制活性的天然化合物,为抑制剂研发提供全新结构骨架^[41-44]。

白花丹醌是最早被发现并报道的天然产物类抑制剂,属于萘醌类植物次生代谢产物^[44]。体外药敏试验、分子动力学模拟结合分子互作分析技术等试验表明,白花丹醌可直接插入 Tet(X) 酶的底物催化口袋,通过氢键、疏水 π - π 堆积作用与酶活性中心稳定结合,改变酶的空间构象,阻断四环素底物进入催化位点,从而抑制酶的催化活性。白花丹醌对 Tet(X3) 和 Tet(X4) 的体外 IC₅₀ 处于 5~15 μ mol/L,与替加环素联用对 Tet(X) 阳性大肠杆菌和鲍曼不动杆菌均展现出良好的协同抗菌效果。在小鼠感染模型中,白花丹醌与四环素类抗生素联用可有效降低小鼠肝脏、脾脏、肾脏等脏器的细菌载量,缓解组织炎症损伤,具有一定的成药潜力^[44]。天然化合物 β -侧柏酚在体外可显著增强替加环素对 *tet*(X4) 阳性大肠杆菌的抗菌作用,且在抗菌浓度范围内无明显溶血和细胞毒性。同时, β -侧柏酚还能够显著增加细菌细胞膜的通透性,整合细菌细胞内铁离子,进而破坏细菌内的铁稳态,使得细菌胞内 ROS 水平显著增高^[45]。此外,研究人员筛选发现 2-甲氧基-1,4-萘醌和没食子酸丙酯等天然化合物的衍生物同样可显著抑制 Tet(X3) 或 Tet(X4) 酶活性^[46-47]。分子动力学模拟等揭示了没食子酸丙酯通过分子间作用力与 Tet(X4) 活性区域结合。氨基酸定点突变技术和荧光淬灭试验证实了关键残基在结合中的作用,且联合四环素对突变菌株的协同抗菌活性显著降低(FIC > 0.50)。进一步通过动物感染试验,验证了没食子酸丙酯联合四环素类抗生素的体内疗效。

同时,微生物代谢产物、海洋天然产物也成为新型天然抑制剂的筛选方向,已有研究从海洋藻类中筛选出多种萜类、生物碱类天然产物,这些天然产物对多种细菌耐药酶具有一定抑制活性,为天然先导化合物的挖掘提供了新方向。整体而言,天然产物类抑制剂虽多数抑制活性较为有限,但为 Tet(X) 酶抑制剂研发提供了丰富的结构资源,具有极高的优化潜力。

2.3 合成小分子类抑制剂

合成小分子类抑制剂主要基于Tet(X)酶的晶体结构、保守功能位点,通过理性设计、高通量筛选、虚拟筛选、AI辅助筛选等技术手段获得小分子母核,进而对母核进行结构优化。该类抑制剂具有结构新颖、抑制活性高、选择性可控等优势。醌类衍生物如2-甲氧基-1,4-萘醌和2,3-二氯-1,4-萘醌被证实可显著抑制Tet(X)的活性,该类化合物是在天然醌类化合物的基础上通过化学合成方法获得的新型醌类化合物。其中2-甲氧基-1,4-萘醌被证实能结合Tet(X4)蛋白活性中心,显著抑制其催化四环素类抗生素羟基化的功能(IC_{50} 在微摩尔级别),并降低基因转录水平^[48]。此类化合物可高效结合Tet(X)酶的FAD结合位点,有效阻断酶的催化启动,且对人体黄素依赖单加氧酶无明显结合作用,选择性较好。

芳香羧酸与酰胺类化合物是另一类重要的合成小分子抑制剂,该类化合物可模拟四环素母核的 Mg^{2+} 配位基团,通过配位作用进入Tet(X)酶底物通道,竞争性阻断四环素底物结合,高通量筛选试验和体外协同试验等证实,该类化合物均具备良好的Tet(X)酶抑制活性,且结构简单、易于合成、成本低廉,适合大规模工业化生产^[36, 49]。

随着AI技术、分子动力学模拟技术在药物研发中的广泛应用,大量新型结构的合成小分子抑制剂被成功筛选。研究人员通过AI辅助虚拟筛选、分子对接技术,从百万级化合物库中筛选出吩噻嗪衍生物、吡咯并嘧啶类、吡啶类、喹啉类等新型小分子抑制剂,此类化合物具有全新的结合模式,可同时作用于Tet(X)酶的底物结合位点与催化活性位点,抑制活性较传统抑制剂大幅提升, IC_{50} 降至纳摩尔级别,且具备良好的水溶性与体内稳定性,为Tet(X)酶抑制剂的研发提供了全新结构骨架与研究思路,推动该领域进入精准化、高效化研发阶段^[50]。

2.4 老药新用类抑制剂

老药新用是指对已上市、人体安全性数据明确的药物进行体外筛选,挖掘其潜在的Tet(X)酶抑制活性,该研发路径具有研发周期短、安全性风险低、研发成本低、临床转化快等优势,是快速获得Tet(X)酶抑制剂的理想途径^[51-54]。

抗HIV药物叠氮胸苷(AZT)是老药新用的代表性药物,体外实验与动物模型研究证实,叠氮胸苷可通过双重机制发挥作用,一方面直接结合Tet(X4)酶的活性中心,抑制其催化灭活活性,另一方面下调细菌*tet(X4)*基因的表达水平,减少酶的合

成,同时还能阻断*tet(X4)*基因的质粒接合转移,与替加环素联用可有效恢复其对Tet(X4)阳性菌株的抗菌活性,在小鼠感染模型中展现出良好的治疗效果^[51]。吩噻嗪类抗精神病药物(如氯丙嗪、奋乃静),可通过非竞争性结合Tet(X)酶活性中心,改变酶的空间构象,发挥高效抑制作用,体外 IC_{50} 处于微摩尔级别,且该类药物已在临床应用数十年,人体安全性、药代动力学数据充分,无需进行前期安全性研究,可直接开展临床前联用研究^[52]。抗寄生虫药物甲氟喹也被成功筛选并鉴定出可有效抑制Tet(X4)酶的活性($IC_{50}=79.42\text{ }\mu\text{g/mL}$),体外药敏试验表明甲氟喹与四环素类抗生素联合对Tet(X4)阳性菌均具有显著的协同抑菌作用,通过分子动力学模拟和氨基酸残基突变测试证实了甲氟喹抑制Tet(X4)活性的互作分子机制^[53]。此外,降糖药物二甲双胍也被证实具有一定的间接抑制Tet(X)酶活性的作用^[54]。二甲双胍可通过破坏细菌膜电位、促进药物在细菌胞内的积累和抑制外排泵功能,从而间接导致Tet(X)酶的催化效率降低。二甲双胍虽然对Tet(X)的抑制活性较弱,但安全性极高,适合作为辅助联用药物,降低四环素类药物的使用剂量,延缓耐药性发展。

2.5 多肽及生物大分子类抑制剂

多肽及生物大分子类抑制剂具有靶向选择性强、毒副作用低、不易诱导细菌产生耐药等优势,是Tet(X)酶抑制剂的新型研发方向,目前相关研究多处于实验室基础研究与临床前探索阶段^[55-57]。

多肽类抑制剂主要通过噬菌体展示技术、理性设计技术获得,包括靶向环肽、线性肽、修饰肽等,此类多肽可特异性结合Tet(X)酶的底物结合域或FAD结合域,阻断辅因子或底物结合,发挥抑制作用。研究表明,经修饰的环肽类抑制剂对耐药细菌耐药酶具有高亲和力,体外抑制活性优异,且结构稳定、不易被蛋白酶降解,具备良好的研发前景^[20, 55-56]。此外,氨基酸是构成多肽的最小单元,研究人员通过代谢组学分析等技术手段,揭示了*tet(X)*阳性菌的半胱氨酸-蛋氨酸代谢通路显著下调,并首次发现外源性L-蛋氨酸(Met)能够增强*tet(X4)*基因启动子区的5mC甲基化,抑制*tet(X4)*的表达,从而恢复Tet(X)阳性菌对替加环素的敏感性^[57]。整体而言,多肽及生物大分子类抑制剂为Tet(X)酶靶向抑制提供了全新技术方向,但仍存在体内稳定性差、递送系统不完善、生产成本较高等问题,需进一步研究优化。此外,研究人员借助CRISPR-Cas等基因编辑工具的研究成果消除耐药

表 1 不同类型 Tet(X)抑制剂的 作用机制及特点
Tab. 1 Mechanisms and characteristics of different types of Tet(X) inhibitors

抑制剂类型	作用机制	抑制特点	代表性药物
底物类似物类抑制剂	模拟四环素结构,竞争性占据底物结合口袋,阻断 C11a 位羟基化。	靶向明确、抑制活性强、全谱覆盖	脱水四环素、四环素类衍生物
天然产物类抑制剂	插入催化口袋/结合通道入口,非竞争性阻断底物进入。	改变酶构象结构多样、毒性低、来源广	白花丹醌、 β -侧柏酚、没食子酸丙酯
合成小分子类抑制剂	模拟 FAD 辅因子/底物配位基团,竞争性结合结构域;AI 筛选新型多位点结合。	结构新颖、活性高、选择性可控	黄素类似物、酰胺类化合物、吩噻嗪衍生物
老药新用类抑制剂	结合活性中心+下调基因表达+阻断质粒转移,多重抑制。	安全性明确、研发快、成本低	叠氮胸苷、二甲双胍、甲氟喹
多肽及生物大分子类抑制剂	特异性结合底物/FAD 结合域,高选择性阻断催化。	靶向性极强、不易诱导耐药	环肽类、氨基酸

基因,从而实现对抗由 Tet(X)酶等介导的细菌耐药性^[58]。

2.6 Tet(X)酶抑制剂研发存在的问题与不足

Tet(X)酶抑制剂研发虽在短短数年内取得了显著进展,不同类抑制剂均展现出不同程度的体外抑制活性与应用潜力,但距离临床实际应用、获批上市仍存在诸多关键瓶颈问题。

首先,抑制剂成药性缺陷突出。绝大多数抑制剂仅在体外试验中展现出良好抑制活性,进入体内后普遍存在水溶性差、口服生物利用度低、体内半衰期短、组织分布不佳等问题,无法达到体内有效抑菌浓度。

其次,抑制剂靶向选择性有待提升。Tet(X)酶属于黄素依赖单加氧酶,与人体细胞内的黄素依赖单加氧酶结构具有一定相似性,部分抑制剂可与人体同源酶发生非特异性结合,干扰人体正常的氧化还原代谢、药物代谢过程,引发潜在毒副作用。如何在保证抑制活性的前提下,实现对细菌 Tet(X)酶的高选择性抑制,避免对人体正常生理功能产生影响,是当前抑制剂研发的核心技术难题。

再次,体内系统研究数据匮乏。现有研究主要集中于体外酶活性筛选和协同效果验证,缺乏系统、完整的体内药代动力学、药效动力学、毒理学研究,抑制剂在生物体内的吸收、分布、代谢、排泄过程,与四环素类药物联用的体内协同效果、剂量相关性、长期用药安全性等关键数据均不明确,无法为临床用药提供科学支撑。

其四,临床转化进程严重滞后。目前全球范围

内尚无任何一种 Tet(X)酶抑制剂获批进入临床试验阶段,所有研究均停留在实验室基础研究与临床前研究阶段,研发进度远滞后于耐药性传播速度;同时,临床缺乏快速、精准、便捷的 tet(X)基因检测技术与试剂盒,难以实现 Tet(X)阳性耐药菌的早期筛查、精准分型,无法实现“精准用药,个体化治疗”,进一步阻碍了抑制剂的临床转化。

最后,抑制剂自身耐药风险尚未明确,长期使用 Tet(X)酶抑制剂,可能诱导 Tet(X)酶发生靶点氨基酸突变,导致抑制剂结合能力下降,产生抑制剂耐药,进而形成“抑制剂耐药”的恶性循环,但目前该领域关于抑制剂耐药风险、耐药机制、防控策略的研究完全处于空白状态,缺乏前瞻性研究布局。

3 总结

Tet(X)家族黄素依赖单加氧酶介导的四环素酶促灭活,是当前全球范围内威胁最大的四环素耐药机制,其可介导细菌产生对天然、半合成、全合成四环素类药物的高水平、全谱耐药,且耐药基因可通过可移动遗传元件实现跨菌种、跨地域水平传播^[11-12, 17]。目前疫情已在全球多个国家和地区广泛流行,严重威胁新一代四环素类药物的临床疗效,给全球公共卫生安全带来了极大挑战。

科研人员围绕 Tet(X)酶靶向抑制剂开展了大量研究,已形成底物类似物、天然产物、合成小分子、老药新用、多肽及生物大分子五大研发方向,各类抑制剂均展现出不同程度的体外抑制活性,可有

效恢复四环素类药物的抗菌活性,为应对 Tet(X)介导的四环素耐药提供了可行的解决方案。其中,底物类似物类抑制剂研究最为深入,临床转化潜力最大;天然产物、合成小分子类抑制剂为研发提供了全新结构骨架;老药新用为快速推进临床转化提供了便捷路径;多肽及生物大分子类抑制剂开辟了新型靶向抑制方向。

但目前 Tet(X)酶抑制剂研发仍面临成药性差、靶向选择性不足、体内系统研究匮乏、临床转化滞后、抑制剂耐药风险未知等诸多关键瓶颈,尚未有 Tet(X)抑制剂进入临床试验阶段,无法满足临床耐药防控的迫切需求。未来,全球科研人员需进一步加强多学科交叉协同研究,深化抑制剂结构优化、新型抑制剂筛选、临床转化应用、一体化耐药防控等方面的研究,加快研发高效、安全、高选择性的 Tet(X)酶抑制剂^[58-59]。针对抑制剂自身耐药风险,建议建立长期用药压力下的耐药演化评估模型和耐药监测预警体系,为抑制剂结构优化和临床精准用药提供依据^[60]。最终形成完善的全链条耐药防控体系,有效遏制 Tet(X)介导的四环素耐药传播,提升临床多重耐药菌感染治疗效果,为保障全球公共卫生安全提供有力支撑。

参考文献:

- [1] Laffont-Lozes P, Larcher R, Artiaga A, et al. Efficacy and safety of tetracyclines in bone and joint infections: A literature review[J]. *Infectious Diseases and Therapy*, 2026, 15(5): 1149-1174.
- [2] Nelson M L, Levy S B. The history of the tetracyclines [J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2011, 1241(1): 17-32.
- [3] 严剑芳. 四环素耐药菌和耐药基因在禽畜粪便、堆肥和土壤中的分布[D]. 上海:华东师范大学,2015:18-60.
- [4] 马兴换. 新型广谱四环素类抗生素依拉环素的研究[J]. *国外医药(抗生素分册)*, 2025, 46(1): 39-44.
- [5] 李智田,孙洪伟. 亚高原污水处理系统中微生物群落特征分析[J]. *宁夏大学学报(自然科学版)*, 2023, 44(2): 170-175.
- [6] Rose W E, Rybak M J. Tigecycline: First of a new class of antimicrobial agents [J]. *Pharmacotherapy*, 2006, 26(8): 1099-1110.
- [7] Pan Yu, Awan F, Ma Zhenbao, et al. Preliminary view of the global distribution and spread of the Tet(X) family of tigecycline resistance genes [J]. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2020, 75(10): 2797-2803.
- [8] Cui Chaoyue, Chen Qiwei, He Qian, et al. Transferability of tigecycline resistance: Characterization of the expanding Tet (X) family [J/OL]. *WIREs Mechanisms of Disease*, 2022, 14(1): e1538. <https://doi.org/10.1002/wsbm.1538>.
- [9] Speer B S, Bedzyk L, Salyers A A. Evidence that a novel tetracycline resistance gene found on two *Bacteroides* transposons encodes an NADP-requiring oxidoreductase [J]. *Journal of Bacteriology*, 1991, 173(1): 176-183.
- [10] Yao Chaoqun, Jin Longyang, Wang Qi, et al. Unraveling the evolution and global transmission of high level tigecycline resistance gene *tet(X)* [J/OL]. *Environment International*, 2025, 199: 109499. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2025.109499>.
- [11] Yang Wangrong, Moore I F, Koteva K P, et al. TetX is a flavin-dependent monooxygenase conferring resistance to tetracycline antibiotics [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(50): 52346-52352.
- [12] He Tao, Wang Ran, Liu Dejun, et al. Emergence of plasmid-mediated high-level tigecycline resistance genes in animals and humans [J]. *Nature Microbiology*, 2019, 4(9): 1450-1456.
- [13] Sun Jian, Chen Chong, Cui Chaoyue, et al. Plasmid-encoded *tet(X)* genes that confer high-level tigecycline resistance in *Escherichia coli* [J]. *Nature Microbiology*, 2019, 4(9): 1457-1464.
- [14] Sun Chengtao, Cui Mingquan, Zhang Shan, et al. Plasmid-mediated tigecycline-resistant gene *tet(X4)* in *Escherichia coli* from food-producing animals, China, 2008—2018 [J]. *Emerging Microbes & Infections*, 2019, 8(1): 1524-1527.
- [15] Haeili M, Aghajanzadeh M, Moghaddasi K, et al. Emergence of transferable tigecycline and eravacycline resistance gene *tet(X4)* in *Escherichia coli* isolates from Iran [J/OL]. *Scientific Reports*, 2025, 15: 16581. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-98206-6>.
- [16] Kim J S, Jin Y H, Kim J, et al. Emergence of a conjugative hybrid plasmid co-harboring *mcr-1.1*, *mcr-3.39*, and *tet(X4)* in *Escherichia coli* from wastewater in Seoul: A potential threat to last-line antibiotics [J/OL]. *Science of the Total Environment*, 2025, 994: 180039. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2025.180039>.
- [17] Ma Lan, Xie Miaomiao M, Yang Yongxin, et al. Prevalence and genomic characterization of clinical *Escherichia coli* strains that harbor the plasmid-borne *tet(X4)* gene in China [J/OL]. *Microbiological Research*, 2024, 285: 127730. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2024.127730>.
- [18] Volkers G, Palm G J, Weiss M S, et al. Structural basis for a new tetracycline resistance mechanism rely-

- ing on the TetX monooxygenase[J]. FEBS Letters, 2011, 585(7): 1061-1066.
- [19] Forsberg K J, Patel S, Wenciewicz T A, et al. The tetracycline destructases: A novel family of tetracycline-inactivating enzymes [J]. Chemistry & Biology, 2015, 22(7): 888-897.
- [20] 沈平华, 陈慧芬. 新型四环素灭活酶 tet(X) 致替加环素耐药的机制研究进展[J]. 诊断学理论与实践, 2023, 22(1): 75-79.
- [21] Cheng Qipeng, Cheung Y, Liu Chenyu, et al. Structural and mechanistic basis of the high catalytic activity of monooxygenase Tet (X4) on tigecycline [J/OL]. BMC Biology, 2021, 19(1): 262. <https://doi.org/10.1186/s12915-021-01199-7>.
- [22] Cui Chaoyue, He Qian, Jia Qiulin, et al. Evolutionary trajectory of the Tet (X) family: Critical residue changes towards high-level tigecycline resistance [J/OL]. mSystems, 2021, 6(3): e00050-21. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00050-21>.
- [23] Gasparrini A J, Markley J L, Kumar H, et al. Tetracycline-inactivating enzymes from environmental, human commensal, and pathogenic bacteria cause broad-spectrum tetracycline resistance [J/OL]. Communications Biology, 2020, 3: 241. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-0966-5>.
- [24] Korczak L, Majewski P, Iwaniuk D, et al. Molecular mechanisms of tigecycline-resistance among enterobacteriales [J/OL]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2024, 14: 1289396. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1289396>.
- [25] Cui Chaoyue, Li Xiaojie, Chen Chong, et al. Comprehensive analysis of plasmid-mediated tet(X4)-positive *Escherichia coli* isolates from clinical settings revealed a high correlation with animals and environments-derived strains [J/OL]. Science of the Total Environment, 2022, 806 (Pt 2): 150687. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150687>.
- [26] Liu Dejun, Wang Tao, Shao Dongyan, et al. Structural diversity of the ISCR2-mediated rolling-cycle transferable unit carrying tet(X4) [J/OL]. Science of the Total Environment, 2022, 826: 154010. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154010>.
- [27] Fan Xinyan, Jiang Yue, Wu Han, et al. Distribution and spread of tigecycline resistance gene tet (X4) in *Escherichia coli* from different sources [J/OL]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2024, 14: 1399732. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1399732>.
- [28] Li Changan, Peng Kai, Li Yingshan, et al. Genomic characterization and diversity of tet(X4)-positive bacteria in poultry-associated fecal environments across multiple regions in China [J/OL]. Journal of Hazardous Materials, 2026, 508: 141855. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154010>.
- [29] 王盼盼. 动物源 tet(X) 和 tmexCD-toprJ 阳性菌株的流行规律及质粒的进化特征[D]. 扬州: 扬州大学, 2025: 14-80.
- [30] Ainmani P, Inyawilert W, Niumsups P R, et al. Genetic characterization of tet(X4)-positive multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from weaning pigs in Thailand [J]. Microbial Drug Resistance, 2026, 32(3): 90-96.
- [31] Wang Qing, Dai Guonian, Qiu Yanhua, et al. Bovine-derived *Acinetobacter indicus* co-harboring chromosomal tet(X3) and plasmid-located tet(X4) isolated from Henan, China [J/OL]. Microorganisms, 2026, 14(3): 541. <https://doi.org/10.3390/microorganisms14030541>.
- [32] Fu Yulin, Chen Yiqiang, Liu Dejun, et al. Abundance of tigecycline resistance genes and association with antibiotic residues in Chinese livestock farms [J/OL]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 409: 124921. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124921>.
- [33] Liu Kaidi, Wang Minge, Zhang Yin, et al. Distribution of antibiotic resistance genes and their pathogen hosts in duck farm environments in south-east coastal China [J/OL]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2024, 108(1): 136. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12842-4>.
- [34] Zhai Wenshuai, Wang Tao, Yang Dawei, et al. Clonal relationship of tet (X4) -positive *Escherichia coli* ST761 isolates between animals and humans [J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2022, 77(8): 2153-2157.
- [35] Kumar H, Williford E E, Blake K S, et al. Structure of anhydrotetracycline-bound Tet (X6) reveals the mechanism for inhibition of type 1 tetracycline destructases [J/OL]. Communications Biology, 2023, 6: 423. <https://doi.org/10.1038/s42003-023-04792-4>.
- [36] Williford E E, Xue Yaopeng, Tang W K, et al. C10-benzoate esters of anhydrotetracycline inhibit tetracycline destructases and recover tetracycline antibacterial activity [J]. ACS Infectious Diseases, 2025, 11(3): 738-749.
- [37] Clark R B, Hunt D K, He Minsheng, et al. Fluorocyclines. 2. optimization of the C-9 side-chain for antibacterial activity and oral efficacy [J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2012, 55(2): 606-622.
- [38] Sun Feifei, Zhang Lin, Ma Xuan, et al. A promising metabolite, 9-aminomincycline, restores the sensitivity of tigecycline against tet(X4)-positive *Escherichia coli* [J/OL]. Frontiers in Microbiology, 2024, 15:

1432320. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1432320>.
- [39] Williford E E, DeAngelo C M, Blake K S, et al. Structure-based design of bisubstrate tetracycline destructase inhibitors that block flavin redox cycling [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2023, 66(6): 3917-3933.
- [40] Li Ruihao, Xue Yaopeng, Le S T, et al. Covalent irreversible inhibitors of tetracycline destructases [J]. *ACS Infectious Diseases*, 2025, 11(9): 2476-2490.
- [41] Pan Chengqian, Kakeya H. Recent progress in chemistry and bioactivity of novel enzyme inhibitors from natural products: A comprehensive review [J/OL]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2025, 289: 117481. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2025.117481>.
- [42] Wu Linyu, Zhang Xinyuan, Oelschlaeger P, et al. Natural-product-derived antimicrobial adjuvants to reverse plasmid-mediated bacterial resistance [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2026, 74(4): 3290-3315.
- [43] Alav I, Pordelkhaki P, Rodriguez-Navarro J, et al. Natural products from food sources can alter the spread of antimicrobial resistance plasmids in *Enterobacterales* [J/OL]. *Microbiology*, 2024, 170(8): 001496. <https://doi.org/10.1099/mic.0.001496>.
- [44] Xu Lei, Zhou Yonglin, Niu Sen, et al. A novel inhibitor of monooxygenase reversed the activity of tetracyclines against *tet(X3)/tet(X4)*-positive bacteria [J/OL]. *EBioMedicine*, 2022, 78: 103943. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.103943>.
- [45] Zhang Muchen, Song Huangwei, Zou Zhiyu, et al. Synergistic effect of β -thujaplicin and tigecycline against *tet(X4)*-positive *Escherichia coli* *in vitro* [J/OL]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2023, 39(4): 1621-1632.
- [46] Liu Zhiying, Zhou Qianyu, Xue Jinjing, et al. Recent discoveries of propyl gallate restore the antibacterial effect of tigecycline against *tet(X4)*-positive *Escherichia coli* [J/OL]. *Biochemical Pharmacology*, 2025, 231: 116638. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2024.116638>.
- [47] 徐蕾. 2-甲氧基-1,4-萘醌增强四环素类抗生素抗菌活性作用及机制[D]. 长春:吉林大学,2023:14-121.
- [48] Xu Lei, Zhou Yonglin, Ou Deyuan, et al. Potent synergistic efficacy of 2-methoxy-1, 4-naphthoquinone derived from quinones against drug-resistant bacteria [J/OL]. *One Health Advances*, 2024, 2(1): 1. <https://doi.org/10.1186/s44280-023-00030-y>.
- [49] Beech M J, Toma E C, Smith H G, et al. Binding assays enable discovery of Tet(X) inhibitors that combat tetracycline destructase resistance [J]. *Chemical Science*, 2025, 16(22):9691-9704.
- [50] Sun Jing, Liu Yiming, Chang Jiashen, et al. Exogenous adenosine counteracts tigecycline resistance in *tet(X3)*-harboring *Escherichia coli* [J/OL]. *Microbiology Spectrum*, 2025, 13(8): e0238224. <https://doi.org/10.1128/spectrum.02382-24>.
- [51] Liu Yuan, Jia Yuqian, Yang Kangni, et al. Anti-HIV agent azidothymidine decreases Tet(X)-mediated bacterial resistance to tigecycline in *Escherichia coli* [J/OL]. *Communications Biology*, 2020, 3(1): 162. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-0877-5>.
- [52] Han Yuwen, Li Min, Su Dehai, et al. Chlorogenic acid attenuates *tet(X)*-mediated doxycycline resistance of *Riemerella anatipestifer* [J/OL]. *Frontiers in Veterinary Science*, 2024, 11: 1368579. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1368579>.
- [53] Zhou Qianyu, Xue Jinjing, Li Jun, et al. Innovative application of mefloquine and Methacycline in combating Tet(X3/X4)-positive *Escherichia coli* infections [J/OL]. *BMC Microbiology*, 2025, 25(1): 805. <https://doi.org/10.1186/s12866-025-04516-0>.
- [54] Liu Yuan, Jia Yuqian, Yang Kangni, et al. Metformin restores tetracyclines susceptibility against multi-drug resistant bacteria [J/OL]. *Advanced Science*, 2020, 7(12): 1902227. <https://doi.org/10.1002/adv.201902227>.
- [55] Dougherty P G, Sahni A, Pei Dehua. Understanding cell penetration of cyclic peptides [J]. *Chemical Reviews*, 2019, 119(17): 10241-10287.
- [56] 蔡建星. 靶向 *tetX4* 和 NDM-1 小分子耐药抑制剂的筛选及其效果评价[D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学, 2024:28-99.
- [57] Fang Dan, Xu Tianqi, Li Fulei, et al. Methionine-driven methylation modification overcomes plasmid-mediated high-level tigecycline resistance [J/OL]. *Nature Communications*, 2025, 16: 417. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-55791-w>.
- [58] Fang Mengdie, Zhang Ruiting, Wang Chenyu, et al. Engineering probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 to block transfer of multiple antibiotic resistance genes by exploiting a type I CRISPR-Cas system [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2024, 90(10): e00811-e00824.
- [59] 赵正伟,马青,马丽娜,等. CRISPR 技术的研究进展和应用[J]. *宁夏大学学报(自然科学版)*, 2021, 42(2): 184-191.
- [60] Guo Boyan, Xu Qiang, Zhou Yi, et al. Rapid dual detection of *Salmonella* and *tet(X)* plasmid based on RAA combined with *Pyrococcus furiosus* argonaute and LFD [J/OL]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2026, 450: 139237. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2025.139237>.

Research Progress on Tetracycline Resistance Mediated by Tet (X) Family and Its Inhibitors

XUE Jinjing¹, TIANG Lizhi¹, WANG Li¹, MENG Jiaqi², ZHOU Yonglin^{1*}

(1. School of Life Sciences, Ningxia University, Yinchuan 750021, China;

2. Xinhua College of Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Abstract: Tetracyclines are among the key antimicrobial agents used clinically to treat infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria. Tigecycline, as a third-generation tetracycline, is considered a last-resort therapeutic option for severe infections caused by multidrug-resistant pathogens, including carbapenem-resistant *Enterobacteriales* (CRE), multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* (MDR-Ab), methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), and vancomycin-resistant *Enterococci* (VRE). Previous studies generally concluded that Tet (X) family flavin-dependent monooxygenases were restricted to environmental microorganisms and conferred only low-level resistance to tetracyclines. However, in 2019, a Chinese research team identified the plasmid-borne tetracycline-degrading enzymes Tet (X3) and Tet (X4) for the first time. These enzymes confer high-level resistance to all tetracycline antibiotics, including tigecycline, in Gram-negative bacteria. To date, Tet (X3), Tet (X4) and their variants have spread rapidly worldwide, and their detection rates in clinical isolates have increased annually. This development has substantially compromised the clinical efficacy of tetracyclines and poses severe challenges to clinical anti-infective management and global public health security. This review comprehensively summarizes the molecular structural characteristics, catalytic mechanisms, dissemination and epidemiological patterns of various Tet (X) resistance enzymes, as well as recent advances in the development of their inhibitors. It also analyzes the major bottlenecks currently hindering Tet (X) inhibitor development, including poor druggability, insufficient target selectivity, unclear *in vivo* efficacy and limited progress toward clinical translation. Focusing on the structural optimization of inhibitor molecules and the development of novel screening technologies, this review future discusses future research directions and strategies for antimicrobial resistance prevention and control. It is expected to provide a useful literature basis and research framework for the clinical prevention and treatment of infections caused by Tet (X)-mediated tetracycline-resistant bacteria.

Key words: Tet(X); tetracycline; tigecycline; inhibitor; drug-resistant bacteria

(责任编辑 张 娣)