

文章编号: 1004-0374(2012)04-0390-08

· 技术与应用 ·

抗菌肽临床应用前景分析

侯国宾, 孟庆雄, 宋玉竹*

(昆明理工大学生命科学与技术学院, 昆明 650500)

摘要: 抗菌肽是生物天然免疫的重要组成部分, 几乎存在于所有种类的生物中。目前已发现的抗菌肽超过 2 000 种。抗菌肽具有广谱抗菌活性, 对大多数革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌和真菌具有强大的抑制作用(包括多药物耐受微生物), 而且这种作用具有较好的选择性。这些特点使抗菌肽具有成为抗感染药物的重大潜力; 但抗菌肽的临床应用也面临着一些困难, 如抗菌肽大量生产、体内稳定性、微生物耐受等。对抗菌肽临床应用面临的问题及正在进行临床研究和临床前研究的抗菌肽做一简要综述。

关键词: 抗菌肽; 临床研究; 临床前研究

中图分类号: Q514; R978; S482.292

文献标志码: A

The perspective of clinical application of antimicrobial peptides

HOU Guo-Bin, MENG Qing-Xiong, SONG Yu-Zhu*

(Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract: Antimicrobial peptides (AMPs) are the important parts of innate immunity. AMPs exist almost in all kinds of organisms, including bacteria, fungi, plants, and animals. More than 2000 AMPs have been identified. AMPs have broad-spectrum antimicrobial activity against bacteria and fungi. It is worth noting that the multi-drug resistant strains, including vancomycin-resistant *Enterococcus* and methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, are susceptible to AMPs. Moreover, the antimicrobial activity showed significant specificity and efficiency. All these characteristics suggest that AMPs have the therapeutic potential as anti-infective drugs, but there are some problems, such as serum stability, production of AMPs and resistance to AMPs, interfere with the clinical application of AMPs. In this review, these obstacles and their possible solutions for the clinical application of AMPs are elaborated, as well as the AMPs under preclinical and clinical study are illustrated.

Key words: antimicrobial peptides; clinical trial; preclinical study

抗生素的发现是化学治疗药物史上最重要的发现之一, 它极大地降低了感染性疾病的死亡率。然而, 抗生素的大量使用, 尤其是不合理使用导致了日益严重的抗生素耐受现象。耐药菌, 尤其是多药物耐受菌, 已成为威胁公共安全的重大问题, 也导致了对新型抗感染药物的需求越来越迫切。自从发现 cecropin^[1] 以来, 抗菌肽的研究备受关注, 目前已经鉴别的抗菌肽超过 2 000 种, 几乎来源于从微生物到哺乳动物所有种类的生物。抗菌肽研究的角度也得到极大的扩展, 从作用机理^[2]、产生机制^[3]到挖掘抗菌肽其他功能, 如免疫调节^[4]、离子调节^[5]、抗氧化功能^[6]等, 再到临床应用研究。本文对抗菌

肽适合作为新型抗感染药物开发应用的特点、开发工作及面临的问题做一简要综述。

1 抗菌肽适用于临床应用的特点

抗菌肽是生物内在免疫的重要组成部分, 一般小于 100 个氨基酸残基, 大多数在生理条件带有一定量的正电荷^[7]。抗菌肽对微生物的作用具有广谱性、高特异性、高生物活性的特点, 而且抗菌肽还

收稿日期: 2012-01-27; 修回日期: 2012-02-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(3100960)

*通信作者: E-mail: syzzam@126.com; Tel: 0871-5920676

具有调节免疫的作用, 这些都决定了抗菌肽具有极大的临床应用潜力。

1.1 抗菌肽的作用范围

抗菌肽可以对抗多种病原体, 这是其临床应用潜力被看好的一个重要原因。抗菌肽具有广谱抗菌活性, 对大多数革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌有效, 对真菌也有很强的抑制作用。尤为重要的是, 抗菌肽对多药物耐受的细菌具有明显的杀灭作用^[8-10], 包括甲氧西林耐受的金黄色葡萄球菌(MRSA)和万古霉素耐受的肠球菌^[11]。

许多抗菌肽还具有抗病毒的作用, 主要是对包膜病毒起作用, 其机制可能是通过影响病毒的吸附和进入过程起作用^[12]或直接作用于病毒的包膜^[13]。部分抗菌肽还具有杀灭原虫和抗肿瘤的作用, 如 10 μg/mL Magainin 2 可使尾草履虫细胞胀大最后破裂^[14]; 绿纹树蛙 (*Litoria aurea*) 中分离得到的 Aurein 具有较强的抗肿瘤活性, LC50 在 10⁻⁵~10⁻⁴ mol/L 之间^[15]。

1.2 抗菌肽高特异性

抗菌肽的阳离子两亲性特性以及哺乳动物细胞与细菌膜组成、膜结构的区别是决定抗菌肽高特异性的重要因素^[16]。在生理条件下, 绝大多数抗菌肽都是带有净正电荷的, 而细菌的细胞膜富含磷脂酰甘油、心肌磷脂或丝氨酸磷脂之类的磷脂而使其带有负电荷, 所以两者之间极易发生电荷相互作用, 进而使抗菌肽产生杀灭细菌的生物学效应。而哺乳动物细胞膜主要由两性离子磷脂如脑磷脂、鞘磷脂等组成, 不易与抗菌肽相互作用。同时, 哺乳动物细胞膜上存在的甾醇类分子使抗菌肽不易对哺乳动物细胞产生伤害^[17]。抗菌肽的高特异性也决定了其临床应用会具有较高的安全性。

1.3 抗菌肽高生物活性

抗菌肽的作用机制尚未完全明了, 普遍接受的观点是抗菌肽和微生物之间通过电荷相互作用或由受体介导发生接触后, 抗菌肽在细胞膜积累并发生构象的变化进而破坏膜结构完整性, 导致细胞内容物外流、细胞破裂, 也可能同时存在一些胞内抗菌机制, 如抑制核酸合成、干扰蛋白质合成和抑制细胞膜合成等^[18-20]。该过程相当迅速, 在接触微生物数秒内即可发生, 这是传统抗生素无法比拟的优点; 而且该过程以极低的浓度进行, 抗菌肽的最小杀菌浓度几乎接近最小抑菌浓度 (MIC)^[21]。

1.4 免疫调节活性

抗菌肽可促进细胞因子和趋化因子的释放, 如

在上皮角质细胞内, 人 β 防御素可以通过 G- 蛋白偶联受体途径或磷脂酶 C 途径诱导 IL-6、IL-10 和 IP-10 等细胞因子的产生^[22], 也可以通过 MAPK 途径诱导 IL-18 的产生^[23]。除了诱导趋化因子产生外, 抗菌肽也可以发生直接的趋化作用, α 防御素可以诱导巨噬细胞、未成熟的树突细胞和 T 细胞的募集^[24-25]。抗菌肽还可以促进前列腺素和白三烯的释放以促进炎症反应^[26-27], 也可以作用于适应性免疫^[4]。可以看出, 抗菌肽在动员机体产生免疫反应过程中起到了一定的作用。

1.5 协同作用

抗菌肽之间、抗菌肽与抗生素之间都存在着协同作用。非洲爪蟾 (*Xenopus laevis*) 中分离得到的 Magainin-2 和 PGLa 的联合使用, 在抗菌活性、抗肿瘤活性和改变大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 膜电势等方面均显示出明显的协同作用^[28]; 无指盘臭蛙 (*Odorrana grahami*) 中 Odorrainin-K1 与 Nigrocin-OG13 和 Nigrocin-OG21 之间存在协同作用, 有趣的是单独使用时三者均无抗 HIV 活性, 但联合使用时具有抗 HIV 活性^[29]。来源于不同物种的抗菌肽, 如 Magainin-2 与来源于中国鲎 (*Tachyplesus tridentatus*) 的 Tachyplesin 之间也存在着协同作用^[30]。另外, 抗菌肽与抗生素之间也存在协同作用, 基于 Cecropin A 和 Magainin-2 设计的多肽 P5 与氯霉素之间联合使用, 可以提高对金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 和普通变形杆菌 (*Proteus vulgaris*) 的抗菌活性^[20]。Ulvatne 等^[10] 研究显示, 氨基青霉素可明显提高万古霉素耐受的屎肠球菌 (vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*) 对抗菌肽 LL-37、tPMPs 和 hNP-1 的敏感性。协同作用的存在为抗感染药物的复方制剂提供了新的思路。

2 抗菌肽类药物开发面临的问题及对策

2.1 抗菌肽的大量生产

抗菌肽是生物内在免疫的效应分子, 在生物体内含量甚微, 所以不可能通过从生物体内直接提取大量抗菌肽的方式来满足商业化的生产, 目前主要的两种方式是直接合成多肽和基因工程手段。

近年来多肽合成技术不断成熟, 成本逐渐下降, 使得多肽类药物以直接合成的方式商业应用成为可能。一个成功的例子就是 2003 年上市的治疗艾滋病的药物恩夫韦肽 (Enfuvirtide, T20), 但是直接合成的步骤复杂, 无法有效降低成本。相比而言, 原核表达成本低, 表达率高, 是一种较为理想的方式,

已有很多研究者成功使用原核表达系统表达了真核细胞来源的抗菌肽^[31-33]。但是原核表达缺乏翻译后加工修饰过程,不适合表达某些真核生物抗菌肽。真核表达抗菌肽的研究也较多^[34-36],其中最大的进展是Novozyme公司在曲霉菌(*Aspergillus oryzae*)内表达了符合临床给药要求的高产量及高活性的含有3对二硫键的抗菌肽Plectasin。

2.2 体内稳定性

部分抗菌肽对盐敏感,随着培养基中 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 离子的增加,Thanatin的MIC值也在增加,当 Na^+ 、 K^+ 上升到500 mmol/L时,Thanatin失去了其抗菌活性^[37]。病灶局部可能存在着高盐环境,如囊性纤维化支气管肺泡液中 Na^+ 、 Cl^- 浓度分别达到了(121 ± 4) mmol/L和(129 ± 5) mmol/L^[38],这也导致了 β -defensin-1的失活^[39]。Friedrich等^[40]研究Cecropin-Melittin杂合肽(CEME)及CEME类似物对盐的敏感性,发现增加多C端亲水性会导致对盐的敏感有所增加。

另外,血清中存在大量的蛋白酶类,可以降解肽类药物,导致其半衰期非常短,不利于全身性应用抗菌肽,这也是肽类药物开发中普遍面临的问题。这些蛋白酶可以大致分为作用于肽链末端的肽链端解酶和作用于肽链内部某些特异性位点的内肽酶类。防止肽链端解酶的水解可以通过末端封闭的方法,也就是对N端和C端氨基酸进行化学修饰,包括C端酰胺化、N端乙酰化或脱氨基等^[41]。防止内肽酶的水解可以通过在剪切位点附近使用D-氨基酸替代L-氨基酸^[42],也可以通过将线性多肽环化的方式提高其稳定性^[43]。Li等^[44]在*O. grahami*中分离到一种同时具有抗菌功能和蛋白酶抑制剂功能的多肽,通过进一步分析,发现了一个十一肽组成的胰蛋白酶抑制剂环(trypsin inhibitory loop, TIL),TIL可以作为设计抗菌-蛋白酶抑制剂双功能多肽的先导分子。

2.3 细胞毒性

虽然抗菌肽具有高选择性的特点,但还是有部分抗菌肽具有细胞毒性,这主要是由抗菌肽的结构特点决定的,如高度两亲性、高度疏水性、紧密的螺旋或折叠结构^[45]。同样也可以通过对抗菌肽的结构改造降低或消除其细胞毒性,一种方式是使用D-氨基酸代替L-氨基酸以破坏二级结构的稳定性^[46];另一种方法是通过氨基酸替换以降低两亲性或疏水性,一般在多肽极性面和非极性面中央(一般也在多肽的中央)进行替换具有较大的影响^[47]。结合抗

菌肽的生产来看,D-氨基酸取代L-氨基酸适合于直接合成多肽,氨基酸替换适合于基因工程生产抗菌肽。

2.4 抗菌肽耐受

一般认为抗菌肽是不易于引起细菌耐受的,因为其作用的靶点较多,且可以直接作用于细胞膜。Ge等^[48]使用含有低于最小抑菌浓度的Pexiganan的培养基对*S. aureus*、肺炎克雷伯杆菌(*Klebsiella pneumoniae*)等8种细菌27个临床分离株进行连续的传代,未能诱导细菌对抗菌肽的耐受;但是Perron等^[49]使用相同的方式诱导了荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)和*E. coli*对Pexiganan的耐受。值得指出的是,使用与Ge等实验中类似的条件以庆大霉素做诱导的时候,MIC升高了190倍^[50],可以推测相对于传统抗生素而言,抗菌肽在耐受方面仍然具有一定的优势。但是也存在着耐受的可能性,一方面多种微生物可以产生抗菌肽^[51-53],而且多数是由质粒编码产生的^[54],推测可能会存在质粒介导的耐受;另一方面,如果将某种或某些抗菌肽大规模应用于临床,这种选择压力极有可能会加速微生物对抗菌肽的耐受。Bell和Gouyon^[55]利用数学模型证明了抗菌肽临床应用可能会加速微生物对之耐受的可能性。对于抗菌肽耐受机制的研究也有报道,主要包括外分泌蛋白酶、外排泵和更改细胞外被组成以降低负电荷等方式^[7]。对抗菌肽耐受机制的深入研究也为更合理、更有效的应用抗菌肽提供了理论依据。

2.5 其他

很多肽类药物的组织渗透性较低,但抗菌肽类药物因为其阳离子两亲性的特征决定了其具有良好的组织渗透性。Østergaard等^[56]研究发现,基于Plectasin设计的多肽NZ2114可在脑脊液中达到一个较高的浓度用于治疗脑膜炎。尽管抗菌肽一般相对分子质量较小,但还是存在潜在的引起机体变态反应的可能^[57]。Plectasin免疫小鼠可以诱导抗Plectasin抗体的产生,并可对较低浓度的Plectasin的杀菌作用产生影响,这是在临床前研究中要考虑的问题^[58]。目前尚无全面的抗菌肽代谢动力学研究,这是抗菌肽全身应用的一大障碍,但是已经有相关的报道^[59]。另外,全面了解抗菌肽的作用机制对合理的开发和应用抗菌肽具有一定的指导作用。

3 进入临床试验的抗菌肽类药物

抗菌肽可以作为单独的抗菌药物、免疫调节剂

或内毒素中和剂开发,也可以联合常规抗生素使用以发挥协同效用^[7]。来源于微生物的多肽衍生物多黏菌素 B (polymyxin B) 和短杆菌肽 S (gramicidin S) 早已作为局部应用的非处方药用于临床,但其不属于核糖体编码的抗菌肽类。目前已有多种抗菌肽进入或经过临床试验(表 1)。

3.1 Pexiganan

Pexiganan 又名 MSI-78, 为非洲爪蟾抗菌肽 Magainin 的类似物,是第一个进行商业开发的抗菌肽。Pexiganan 由 22 个氨基酸残基组成,由 Magainin Pharmaceuticals (<http://www.genaera.com/>) 开发。早在 1999 年,美国食品药品监督管理局(FDA)以“不比当前临床应用抗生素更有效”为由拒绝了 Magainin Pharmaceuticals 把 Pexiganan 作为抗感染药物的上市申请。但是该公司并未放弃,继续相关的临床前研究,并于 2008 年 12 月公布了其负责的两项 III 期试验结果。结果显示,局部应用 Pexiganan 软膏与口服氧氟沙星具有相同的生物有效性,Pexiganan 软膏治疗组未出现明显耐药现象,而氧氟沙星组部分受试者出现耐药;另外,氧氟沙星组用药后失眠率高于 Pexiganan 组^[60]。Pexiganan 用于

轻度糖尿病足部感染的上市申请于 2008 年再次提交 FDA,但仍未获批准。

另一种局部应用 Pexiganan 的可能方式是外科敷料。Gopinath 等^[61]将 Pexiganan 混合于胶原敷料,用于治疗大鼠皮肤感染取得了良好的效果,而且证明其对成纤维细胞无毒性,不影响伤口愈合。

Giacomettiv 等^[62]建立了大鼠的感染性休克模型,静脉注射生理盐水、1mg/kg Pexiganan 和 60 mg/kg 哌拉西林进行对比实验,主要的疗效评价指标是异常渗出液、血浆细菌生长、血浆内毒素和肿瘤坏死因子(TNF- α)浓度以及致死率。结果显示,Pexiganan 和哌拉西林均能明显的降低致死率;但是相比于哌拉西林,MSI-78 具有更强的抗菌活性,而且能够有效地降低血浆内毒素和 TNF- α 浓度。这提示 Pexiganan 具有进行全身给药进行感染性休克的潜力。

3.2 Hlf1-11

Hlf1-11 为人乳转铁蛋白(human lactoferrin)前 11 个氨基酸残基,由 AM-Pharma 公司(<http://www.am-pharma.com/>)开发。Hlf1-11 具有广谱抗细菌以及抗真菌活性,而且具有对内在免疫的选择性刺激

表1 进行临床前和临床试验的抗菌肽

抗菌肽	开发公司	用途	说明
Pexiganan	Genaera	局部应用,治疗糖尿病足部溃疡,III期成功	Magainin 2类似物,22氨基酸残基
Iseganan	Intrabiotics Pharmaceuticals	局部应用,口腔洗液溃疡性口腔黏膜炎,III期失败	Protegrins类似物
Omiganan	Microbiologix Biotech	局部应用,预防静脉导管相关的血流感染,III期失败	Indolicidin类似物,12氨基酸残基
MBI 594AN	Microbiologix Biotech	局部应用,治疗痤疮	基于Cathelicidin设计的Indolicidin样抗菌肽
P113D	Demegen	局部应用,口腔含漱剂治疗AIDS患者口腔念珠菌病;吸入治疗肺纤维化患者铜绿假单胞菌肺部感染	源自Histatins,12氨基酸残基
XMP.629	Xoma	局部应用,治疗痤疮	源自杀菌/渗透增强肽BPI,9氨基酸残基
Neuprex	Xoma	系统应用,治疗脑膜炎,III期成功;心脏手术中降低并发症	BPI的N末端21氨基酸残基
Plectasin	Novozyme	临床前研究,系统应用,抗革兰氏阳性菌感染	真菌防御素,40氨基酸残基
HB-107	Helix Biomedix	临床前研究,局部应用,伤口治疗	Cecropin B片段,19氨基酸残基
HB-50	Helix Biomedix	临床前研究,局部应用,预防伤口感染	Cecropin类似物,18氨基酸残基
CZEN-002	Zengen	局部应用,治疗阴道念珠菌,II期	源自 α -黑素细胞刺激素,8氨基酸残基
D2A21	demegen	临床前,局部应用,治疗创口感染	Cecropin类似物
SB006	SpiderBiotech NeED Pharmaceuticals	临床前,应用方式未知	通过噬菌体展示技术发现的十肽,QQKIRVRLSA

作用^[63]。Dijkshoorn 等^[64]发现无论是体外实验还是体内实验, Hlf1-11 对多药物耐受的鲍氏不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*) 具有明显的杀菌作用, 而且这种作用具有时间和剂量相关性。在另外一项研究中, Faber 等^[65]建立了兔慢性 MRSA 骨髓炎模型, 将庆大霉素和 Hlf1-11 混于磷酸钙骨水泥中植入胫骨腔, 经过微生物、组织学和放射学检测得出 Hlf1-11 具有与庆大霉素相当的治疗效果, 而且在放射学检测上显示 Hlf1-11 未见骨髓炎征象 (优于庆大霉素)。

Brouwer 和 Welling^[59]也进行了全身给药的研究。他们通过不同的给药途径 (口服、皮下注射、腹膜内注射和静脉注射) 进行小鼠腿部肌肉 MRSA 感染的治疗, 0.04 mg/kg 的剂量即可获得明显的疗效。他们还通过放射性标记的 Hlf1-11 检测了 Hlf1-11 的组织分布情况, 发现胆囊肠道和肾脏对其具有明显摄取作用, 仅有 1% 左右出现在腿部感染部位。而且在口服 Hlf1-11 小鼠尿液中回收的多肽仍然具有抗菌活性, 这说明其可能未在胃肠道内被消化酶水解。而详细的代谢动力学仍有待深入研究。

3.3 Plectasin

Plectasin 由 Novozyme 公司 (<http://www.novozymes.com/>) 发现, 2009 年起与 Sanofi-Aventis 公司联合开发。从子囊菌纲真菌假黑盘菌 (*Pseudoplectania nigrella*) 中筛选到一种 Defensin 家族抗菌肽, 含有 6 个半胱氨酸, 5 个赖氨酸, 还有 1 个特征性的四肽结构 (天冬氨酸 - 谷氨酸 - 天冬氨酸 - 天冬氨酸, DEDD), 对革兰氏阳性菌包括多药物耐受的肺炎链球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 临床分离株具有良好的作用; 小鼠单次静脉给药最大容许量超过 125 mg/kg, 而且在 90% 血清中孵育 24 h 后仍然保持活性; 在全身性 *S. pneumoniae* 感染小鼠模型中, 与万古霉素和青霉素相比, Plectasin 具有更好的作用^[66]。2003 年, 该研究团队在 *A. oryzae* 内高效表达了 Plectasin, 并申请了专利。之后进行了关于 Plectasin 是否具有细胞毒性和 IL-8 诱导活性的研究, 结果显示, Plectasin 对 A549 细胞、人支气管上皮细胞和肺成纤维细胞没有毒性, 也不能引起 A549 细胞转录和表达 IL-8^[67]。对小鼠反复皮下注射后, 部分小鼠会产生低浓度抗体, 辅以弗氏不完全佐剂进行免疫, 绝大多数小鼠会产生高水平抗体, 但抗体的产生不会对疗效剂量 Plectasin 的作用产生影响^[58]。Schneider 等^[68]研究显示, Plectasin 作用于细菌细胞壁合成前体脂质 II, 明晰的作用机制也为

其临床开发奠定了坚实的基础。

3.4 Neuprex

Neuprex 即 Opebacan、rBPI21, 是一种作为全身性应用药物开发的抗菌肽, 是人杀菌性 / 通透性增加蛋白 (bactericidal permeability-increasing protein, BPI) N 端片段, 具有杀灭革兰氏阴性细菌和中和内毒素的作用^[69], 由 Xoma 公司 (<http://www.xoma.com/>) 开发。在一项 III 期临床试验中, 研究人员将 rBPI21 作为常规抗生素的辅助进行了急性脑膜炎患儿的治疗, 结果显示, 与对照组相比 rBPI21 组未能明显降低致死率, 但是可以明显降低并发症的发生^[70]。2007 年, 又进行一项造血干细胞移植患者中应用 rBPI21 的安全性及药代动力学的临床 I/II 期研究, 但因不能募集足够参与者而告终。

一般认为 rBPI21 特异性地作用于革兰氏阴性菌, 但是也有研究发现, rBPI21 可以与 *S. pneumoniae* 和肺炎链球菌溶血素 (Streptolysin) 结合, 并在小鼠模型上证实了 rBPI21 可以通过提高机体对 *S. pneumoniae* 的炎症应答, 促进局部细胞凋亡起到保护宿主的作用^[71]。Harkin 等^[72]发现 rBPI21 对猪下肢缺血再灌注损伤有保护作用, 可以减少全身性炎症和急性肺损伤的发生。

3.5 Isegran

Isegran 是 Protegrin-1 类似物, 由 IntraBiotics 公司 (<http://www.intrabiotics.com/>) 开发。Isegran 具有广谱抗微生物活性, 对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、真菌均有杀灭作用^[73]。2001 年 11 月至 2002 年 6 月期间, 在骨髓移植或造血干细胞移植患者中进行了预防口腔炎和溃疡性口腔黏膜炎的 III 期临床试验, 结果显示, 相对于安慰剂并没有更好的预防效果^[74]; 2005 年一项关于预防呼吸机相关肺炎的三期临床试验中也没有显示统计学差异, 该多肽药物的研究以失败告终。Isegran 预防呼吸机相关肺炎临床试验的失败可能是由于其采用了错误的给药方式导致的, 因为使用含漱剂导致 Isegran 与微生物接触时间短^[75], Isegran 的失败也给今后的临床设计提供了一定的借鉴。

4 展望

尽管抗菌肽类药物的临床应用面临着很多问题, 尤其是通过口服和静脉给药的途径, 但是抗菌肽的临床应用是一种必然的趋势。一方面, 传统抗生素的耐受现象越来越严重, 对新型抗菌药物的研发要求非常迫切, 而抗菌肽具有传统抗生素无

法比拟的优势, 决定了抗菌肽临床应用相关研究不会停止; 另一方面, 抗菌肽临床应用后巨大的经济利益以及社会影响是推动药物公司进行抗菌肽开发强大的驱动力, 恩夫韦肽的成功临床应用给了肽类药物开发极大的鼓舞。总之, 抗菌肽类药物的开发具有较好的前景, 随着相关研究的深入, 可以预见未来会有大量的抗菌肽类药物作为抗感染药物投入临床。

[参 考 文 献]

- [1] Steiner H, Hultmark D, Engstrom A, et al. Sequence and specificity of two antibacterial proteins involved in insect immunity. *Nature*, 1981, 292(5820): 246-8
- [2] Steiner H, Andreu D, Merrifield RB. Binding and action of cecropin and cecropin analogues: antibacterial peptides from insects. *Biochim Biophys Acta*, 1988, 939(2): 260-6
- [3] Samakovlis C, Kimbrell DA, Kylsten P, et al. The immune response in *Drosophila*: pattern of cecropin expression and biological activity. *EMBO J*, 1990, 9(9): 2969-76
- [4] Yang D, Chertov O, Bykovskaia SN, et al. β -defensins: linking innate and adaptive immunity through dendritic and T cell CCR6. *Science*, 1999, 286(5439): 525-8
- [5] Detivaud L, Nemeth E, Boudjema K, et al. Hepcidin levels in humans are correlated with hepatic iron stores, hemoglobin levels, and hepatic function. *Blood*, 2005, 106(2): 746-8
- [6] Yang H, Wang X, Liu X, et al. Antioxidant peptidomics reveals novel skin antioxidant system. *Mol Cell Proteomics*, 2009, 8(3): 571-83
- [7] Zasloff M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature*, 2002, 415(6870): 389-95
- [8] Alvarez-Bravo J, Kurata S, Natori S. Novel synthetic antimicrobial peptides effective against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Biochem J*, 1994, 302 (Pt 2): 535-8
- [9] Brouwer CP, Bogaards SJ, Wulferink M, et al. Synthetic peptides derived from human antimicrobial peptide ubiquicidin accumulate at sites of infections and eradicate (multi-drug resistant) *Staphylococcus aureus* in mice. *Peptides*, 2006, 27(11): 2585-91
- [10] Ulvatne H, Karoliussen S, Stiberg T, et al. Short antibacterial peptides and erythromycin act synergically against *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother*, 2001, 48(2): 203-8
- [11] Hou F, Li J, Pan P, et al. Isolation and characterisation of a new antimicrobial peptide from the skin of *Xenopus laevis*. *Int J Antimicrob Agents*, 2011, 38(6): 510-5
- [12] Belaid A, Aouni M, Khelifa R, et al. *In vitro* antiviral activity of dermaseptins against herpes simplex virus type 1. *J Med Virol*, 2002, 66(2): 229-34
- [13] Aboudy Y, Mendelson E, Shalit I, et al. Activity of two synthetic amphiphilic peptides and magainin-2 against herpes simplex virus types 1 and 2. *Int J Pept Protein Res*, 1994, 43(6): 573-82
- [14] Zasloff M. Magainins, a class of antimicrobial peptides from *Xenopus* skin: isolation, characterization of two active forms, and partial cDNA sequence of a precursor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84(15): 5449-53
- [15] Rozek T, Wegener KL, Bowie JH, et al. The antibiotic and anticancer active aurein peptides from the Australian Bell Frogs *Litoria aurea* and *Litoria raniformis* the solution structure of aurein 1.2. *Eur J Biochem*, 2000, 267(17): 5330-41
- [16] Yeaman MR, Yount NY. Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. *Pharmacol Rev*, 2003, 55(1): 27-55
- [17] Tytler EM, Anantharamaiah GM, Walker DE, et al. Molecular basis for prokaryotic specificity of magainin-induced lysis. *Biochemistry*, 1995, 34(13): 4393-401
- [18] Brogden KA. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat Rev Microbiol*, 2005, 3(3): 238-50
- [19] Lehrer RI, Barton A, Daher KA, et al. Interaction of human defensins with *Escherichia coli*. Mechanism of bactericidal activity. *J Clin Invest*, 1989, 84(2): 553-61
- [20] Park Y, Park SN, Park SC, et al. Synergism of Leu-Lys rich antimicrobial peptides and chloramphenicol against bacterial cells. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1764(1): 24-32
- [21] Chockalingam A, McKinney CE, Rinaldi M, et al. A peptide derived from human bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) exerts bactericidal activity against Gram-negative bacterial isolates obtained from clinical cases of bovine mastitis. *Vet Microbiol*, 2007, 125(1-2): 80-90
- [22] Niyonsaba F, Ushio H, Nakano N, et al. Antimicrobial peptides human β -defensins stimulate epidermal keratinocyte migration, proliferation and production of proinflammatory cytokines and chemokines. *J Invest Dermatol*, 2007, 127(3): 594-604
- [23] Bowdish DM, Davidson DJ, Speert DP, et al. The human cationic peptide LL-37 induces activation of the extracellular signal-regulated kinase and p38 kinase pathways in primary human monocytes. *J Immunol*, 2004, 172(6): 3758-65
- [24] Yang D, Chen Q, Chertov O, et al. Human neutrophil defensins selectively chemoattract naive T and immature dendritic cells. *J Leukoc Biol*, 2000, 68(1): 9-14
- [25] Grigat J, Soruri A, Forssmann U, et al. Chemoattraction of macrophages, T lymphocytes, and mast cells is evolutionarily conserved within the human alpha-defensin family. *J Immunol*, 2007, 179(6): 3958-65
- [26] Spencer LT, Paone G, Krein PM, et al. Role of human neutrophil peptides in lung inflammation associated with α 1-antitrypsin deficiency. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2004, 286(3): L514-20
- [27] Chen X, Niyonsaba F, Ushio H, et al. Antimicrobial peptides human β -defensin (hBD)-3 and hBD-4 activate mast cells and increase skin vascular permeability. *Eur J Immunol*, 2007, 37(2): 434-44
- [28] Westerhoff HV, Zasloff M, Rosner JL, et al. Functional

- synergism of the magainins PGLa and magainin-2 in *Escherichia coli*, tumor cells and liposomes. *Eur J Biochem*, 1995, 228(2): 257-64
- [29] Li J, Xu X, Xu C, et al. Anti-infection peptidomics of amphibian skin. *Mol Cell Proteomics*, 2007, 6(5): 882-94
- [30] Kobayashi S, Hirakura Y, Matsuzaki K. Bacteria-selective synergism between the antimicrobial peptides α -helical magainin 2 and cyclic β -sheet tachyplesin I: toward cocktail therapy. *Biochemistry*, 2001, 40(48): 14330-5
- [31] Jang SA, Sung BH, Cho JH, et al. Direct expression of antimicrobial peptides in an intact form by a translationally coupled two-cistron expression system. *Appl Environ Microbiol*, 2009, 75(12): 3980-6
- [32] Chen H, Xu Z and Cen P. High-level expression of human beta-defensin-2 gene with rare codons in *E. coli* cell-free system. *Protein Pept Lett*, 2006, 13(2): 155-62
- [33] Pazgier M and Lubkowski J. Expression and purification of recombinant human α -defensins in *Escherichia coli*. *Protein Expr Purif*, 2006, 49(1): 1-8
- [34] Li L, Wang JX, Zhao XF, et al. High level expression, purification, and characterization of the shrimp antimicrobial peptide, Ch-penaeidin, in *Pichia pastoris*. *Protein Expr Purif*, 2005, 39(2): 144-51
- [35] Jin F, Xu X, Wang L, et al. Expression of recombinant hybrid peptide cecropinA(1-8)-magainin2(1-12) in *Pichia pastoris*: purification and characterization. *Protein Expr Purif*, 2006, 50(2): 147-56
- [36] Carballar-Lejarazu R, Rodriguez MH, de la Cruz Hernandez-Hernandez F, et al. Recombinant scorpine: a multifunctional antimicrobial peptide with activity against different pathogens. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65(19): 3081-92
- [37] Wu G, Ding J, Li H, et al. Effects of cations and pH on antimicrobial activity of thanatin and s-thanatin against *Escherichia coli* ATCC25922 and *B. subtilis* ATCC 21332. *Curr Microbiol*, 2008, 57(6): 552-7
- [38] Smith JJ, Travis SM, Greenberg EP, et al. Cystic fibrosis airway epithelia fail to kill bacteria because of abnormal airway surface fluid. *Cell*, 1996, 85(2): 229-36
- [39] Goldman MJ, Anderson GM, Stolzenberg ED, et al. Human β -defensin-1 is a salt-sensitive antibiotic in lung that is inactivated in cystic fibrosis. *Cell*, 1997, 88(4): 553-60
- [40] Friedrich C, Scott MG, Karunaratne N, et al. Salt-resistant α -helical cationic antimicrobial peptides. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, 43(7): 1542-8
- [41] Brinckerhoff LH, Kalashnikov VV, Thompson LW, et al. Terminal modifications inhibit proteolytic degradation of an immunogenic MART-1(27-35) peptide: implications for peptide vaccines. *Int J Cancer*, 1999, 83(3): 326-34
- [42] Harris AG. Somatostatin and somatostatin analogues: pharmacokinetics and pharmacodynamic effects. *Gut*, 1994, 35(3 Suppl): S1-4
- [43] Rozek A, Powers JP, Friedrich CL, et al. Structure-based design of an indolicidin peptide analogue with increased protease stability. *Biochemistry*, 2003, 42(48): 14130-8
- [44] Li J, Zhang C, Xu X, et al. Trypsin inhibitory loop is an excellent lead structure to design serine protease inhibitors and antimicrobial peptides. *FASEB J*, 2007, 21(10): 2466-73
- [45] Kondejewski LH, Jelokhani-Niaraki M, Farmer SW, et al. Dissociation of antimicrobial and hemolytic activities in cyclic peptide diastereomers by systematic alterations in amphipathicity. *J Biol Chem*, 1999, 274(19): 13181-92
- [46] Chen Y, Mant CT, Hodges RS. Determination of stereochemistry stability coefficients of amino acid side-chains in an amphipathic alpha-helix. *J Pept Res*, 2002, 59(1): 18-33
- [47] Chen Y, Mant CT, Farmer SW, et al. Rational design of alpha-helical antimicrobial peptides with enhanced activities and specificity/therapeutic index. *J Biol Chem*, 2005, 280(13): 12316-29
- [48] Ge Y, MacDonald DL, Holroyd KJ, et al. *In vitro* antibacterial properties of pexiganan, an analog of magainin. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, 43(4): 782-8
- [49] Perron GG, Zasloff M, Bell G. Experimental evolution of resistance to an antimicrobial peptide. *Proc Biol Sci*, 2006, 273(1583): 251-6
- [50] Steinberg DA, Hurst MA, Fujii CA, et al. Protegrin-1: a broad-spectrum, rapidly microbicidal peptide with *in vivo* activity. *Antimicrob Agents Chemother*, 1997, 41(8): 1738-42
- [51] Babasaki K, Takao T, Shimonishi Y, et al. Subtilosin A, a new antibiotic peptide produced by *Bacillus subtilis* 168: isolation, structural analysis, and biogenesis. *J Biochem*, 1985, 98(3): 585-603
- [52] Blond A, Cheminant M, Segalas-Milazzo I, et al. Solution structure of microcin J25, the single macrocyclic antimicrobial peptide from *Escherichia coli*. *Eur J Biochem*, 2001, 268(7): 2124-33
- [53] Yamamoto Y, Togawa Y, Shimosaka M, et al. Purification and characterization of a novel bacteriocin produced by *Enterococcus faecalis* strain RJ-11. *Appl Environ Microbiol*, 2003, 69(10): 5746-53
- [54] Ennahar S, Sashihara T, Sonomoto K, et al. Class IIa bacteriocins: biosynthesis, structure and activity. *FEMS Microbiol Rev*, 2000, 24(1): 85-106
- [55] Bell G, Gouyon PH. Arming the enemy: the evolution of resistance to self-proteins. *Microbiology*, 2003, 149(Pt 6): 1367-75
- [56] Østergaard C, Sandvang D, Frimodt-Møller N, et al. High cerebrospinal fluid (CSF) penetration and potent bactericidal activity in CSF of NZ2114, a novel plectasin variant, during experimental pneumococcal meningitis. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(4): 1581-5
- [57] Ginsburg I, Koren E. Are cationic antimicrobial peptides also 'double-edged swords'? *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2008, 6(4): 453-62
- [58] Brinch KS, Frimodt-Møller N, Hoiby N, et al. Influence of antidrug antibodies on plectasin efficacy and pharmacokinetics. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(11): 4794-800
- [59] Brouwer CP, Welling MM. Various routes of administration of (99m)Tc-labeled synthetic lactoferrin antimicrobial

- peptide hLF 1-11 enables monitoring and effective killing of multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* infections in mice. *Peptides*, 2008, 29(7): 1109-17
- [60] Lipsky BA, Holroyd KJ, Zasloff M. Topical versus systemic antimicrobial therapy for treating mildly infected diabetic foot ulcers: a randomized, controlled, double-blinded, multicenter trial of pexiganan cream. *Clin Infect Dis*, 2008, 47(12): 1537-45
- [61] Gopinath D, Kumar MS, Selvaraj D, et al. Pexiganan-incorporated collagen matrices for infected wound-healing processes in rat. *J Biomed Mater Res A*, 2005, 73(3): 320-31
- [62] Giacometti A, Ghiselli R, Cirioni O, et al. Therapeutic efficacy of the magainin analogue MSI-78 in different intra-abdominal sepsis rat models. *J Antimicrob Chemother*, 2004, 54(3): 654-60
- [63] Nibbering PH, Ravensbergen E, Welling MM, et al. Human lactoferrin and peptides derived from its N terminus are highly effective against infections with antibiotic-resistant bacteria. *Infect Immun*, 2001, 69(3): 1469-76
- [64] Dijkshoorn L, Brouwer CP, Bogaards SJ, et al. The synthetic N-terminal peptide of human lactoferrin, hLF(1-11), is highly effective against experimental infection caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(12): 4919-21
- [65] Faber C, Stallmann HP, Lyaruu DM, et al. Comparable efficacies of the antimicrobial peptide human lactoferrin 1-11 and gentamicin in a chronic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis model. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49(6): 2438-44
- [66] Mygind PH, Fischer RL, Schnorr KM, et al. Plectasin is a peptide antibiotic with therapeutic potential from a saprophytic fungus. *Nature*, 2005, 437(7061): 975-80
- [67] Hara S, Mukae H, Sakamoto N, et al. Plectasin has antibacterial activity and no affect on cell viability or IL-8 production. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 374(4): 709-13
- [68] Schneider T, Kruse T, Wimmer R, et al. Plectasin, a fungal defensin, targets the bacterial cell wall precursor Lipid II. *Science*, 2010, 328(5982): 1168-72
- [69] Weiss J, Elsbach P, Shu C, et al. Human bactericidal/permeability-increasing protein and a recombinant NH₂-terminal fragment cause killing of serum-resistant gram-negative bacteria in whole blood and inhibit tumor necrosis factor release induced by the bacteria. *J Clin Invest*, 1992, 90(3): 1122-30
- [70] Levin M, Quint PA, Goldstein B, et al. Recombinant bactericidal/permeability-increasing protein (rBPI21) as adjunctive treatment for children with severe meningococcal sepsis: a randomised trial. *rBPI21 Meningococcal Sepsis Study Group. Lancet*, 2000, 356(9234): 961-7
- [71] Srivastava A, Casey H, Johnson N, et al. Recombinant bactericidal/permeability-increasing protein rBPI21 protects against pneumococcal disease. *Infect Immun*, 2007, 75(1): 342-9
- [72] Harkin DW, Barros D'Sa AA, McCallion K, et al. Bactericidal/permeability-increasing protein attenuates systemic inflammation and acute lung injury in porcine lower limb ischemia-reperfusion injury. *Ann Surg*, 2001, 234(2): 233-44
- [73] Mosca DA, Hurst MA, So W, et al. IB-367, a protegrin peptide with *in vitro* and *in vivo* activities against the microflora associated with oral mucositis. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000, 44(7): 1803-8
- [74] Giles FJ, Rodriguez R, Weisdorf D, et al. A phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled, study of iseganan for the reduction of stomatitis in patients receiving stomatotoxic chemotherapy. *Leuk Res*, 2004, 28(6): 559-65
- [75] van Saene H, van Saene J, Silvestri L, et al. Iseganan failure due to the wrong pharmaceutical technology. *Chest*, 2007, 132(4): 1412