

• 专 论 •

抗生素耐药与抗生素新药开发的研究进展

孙双勇^{1,2}, 王蒙蒙¹, 李丽¹, 任戎¹, 李虎玲¹, 任萌¹, 李汉卿¹, 章彦文^{1,2}, 王玉丽^{3,4*}, 刘昌孝^{4*}

1. 天津医药集团研究院有限公司, 天津 300171

2. 天津医科大学 药学院, 天津 300070

3. 天津大学 化学与技术工程学院 系统生物工程教育部重点实验室, 天津 300072

4. 天津药物研究院 释药技术与药代动力学重点实验室, 天津 300462

摘要: 抗生素的发现和使用是 20 世纪最伟大的成就之一。随着抗生素的广泛应用, 抗生素耐药成为药物使用时应重点关注的问题。抗生素耐药主要与细菌的自然选择、抗生素不合理使用有关, 同时也使得抗生素新药的开发存在着诸多挑战。世界卫生组织 (WHO) 一直关注抗生素的危害和耐药问题, 认为这些问题已经成为公共卫生和可持续医疗的最严重挑战。对抗生素耐药现状、原因、机制和抗生素新药开发的研究进展进行综述, 为应对抗生素耐药, 需要全球医学家、企业家、各国政府和公众共同努力, 相信一定可以找到解决抗生素耐药的适宜途径。

关键词: 抗生素; 抗生素耐药; 作用机制; 新药开发

中图分类号: R978.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2022)02-0221-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.02.001

Research progress on antibiotic resistance and new antibiotics development

SUN Shuang-yong^{1, 2}, WANG Meng-meng¹, LI Li¹, REN Rong¹, LI Hu-ling¹, REN Meng¹, LI Han-qing¹, ZHANG Yan-wen^{1, 2}, WANG Yu-li^{3, 4}, LIU Chang-xiao⁴

1. Tianjin Pharmaceutical Group Research Institute Ltd., Tianjin 300171, China

2. School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

3. Key Laboratory of Systems Bioengineering, Ministry of Education, College of Chemical Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China

4. State Key Laboratory Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300462, China

Abstract: The discovery and use of antibiotics was one of the greatest achievements of the 20th century. With the widespread use of antibiotics, antibiotic resistance has become an issue that should be a key concern when this class of drugs is used. Antibiotic resistance is mainly related to natural selection of bacteria and irrational use of antibiotics, and it also makes the development of new antibiotic drugs challenging in many ways. The World Health Organization (WHO) has been concerned about the harm of antibiotics and new problems of drug resistance. These issues have been identified as the most serious challenges to public health and sustainable health care. This article reviews the current situation, cause, mechanism of antibiotic resistance and the research progress of new antibiotics. In order to deal with antibiotic resistance, it is necessary to work together with global medical scientists, entrepreneurs, governments, and the public, and there must be an appropriate way to solve the problem of antibiotic resistance.

Key words: antibiotics; antibiotic resistance; action mechanism; new drug development

20 世纪 20 年代, 弗莱明偶然间发现了青霉素, 随后出现了合成抗生素, 建立了生产抗生素的微生物平台, 进而发展成为抗生素制药产业。近百年来, 抗生素彻底改变了现代医学。这些具有抗菌活性的

收稿日期: 2022-01-05

作者简介: 孙双勇 (1984—), 男, 博士, 从事新药药理学与药物评价研究。E-mail: sunshuangyong@163.com

*通信作者: 刘昌孝, 男, 中国工程院院士, 博士生导师。E-mail: liuchangxiao@163.com

王玉丽, 女, 博士, 从事中药药理、中药大品种二次开发药效学研究。E-mail: wangyuli6@163.com

药物拯救了数以万计的生命, 不仅防治了致敏的传染性疾病, 还使医生在外科手术、器官移植、癌症化疗和人工装置的使用方面取得了长足的进展。因此, 抗生素的发现及其在公共卫生中的使用是现代医学的主要支柱之一, 被认为是 20 世纪的最伟大成就之一^[1]。

抗生素是由微生物产生的天然产品或其半合成的衍生物, 这些化学物质长期存在于自然环境中, 因此, 细菌需要进化出耐药性来维持自身生存。抗生素耐药指细菌等微生物阻止抗生素等药物对其产生作用的能力, 致使标准治疗方法失去效力的现象。抗生素耐药的产生主要与抗生素的过度使用、滥用相关。抗生素耐药每年造成数十万人死亡, 而随着细菌耐药性的发展, 因抗生素耐药造成的死亡人数还会持续增加。抗生素耐药已经成为一个重大问题, 对人类的生命和经济生活造成严重威胁。因此本文拟对抗生素耐药现状、原因、机制和抗生素新药的研究进展进行综述。

1 抗生素耐药的现状

微生物在面临抗生素时会发生基因突变以减轻抗生素对其致命的影响, 因此, 抗生素耐药是一种不可避免的现象。第一个商业抗生素青霉素于 1941 年进入市场, 短短 1 年后, 即 1942 年就出现了耐青霉素的金黄色葡萄球菌^[2]。与此相似的是甲氧西林, 一种青霉素类的半合成抗生素, 于 1960 年被引入市场以对抗耐青霉素的金黄色葡萄球菌, 但就在同一年, 该类细菌就对甲氧西林产生了耐药性^[3]。多年来, 抗生素耐药一直是该领域的关注点, 因为抗生素建立抗性不需要时间, 超过 70% 的病原菌对至少一种抗生素具有抗性^[4]。目前抗生素耐药已经成为公共卫生、食品保护和可持续医疗的最严重挑战之一。

在 2014 年 4 月 30 日 WHO 专家在瑞士日内瓦举行新闻发布会, 发布了抗生素耐药的全球报告^[5]。这是 WHO 首份全球 114 个国家抗菌药物耐药和抗生素耐药的监测报告数据。报告主要关于药物耐药的问题, 还涉及其他感染的耐药信息, 包括艾滋病、疟疾、肺结核和流感等问题。WHO 正在努力解决抗生素耐药的问题: (1) 制定措施和标准以及全球更好地合作来追踪、监测耐药性; (2) 衡量耐药对健康和经济产生的影响; (3) 制定有针对性的解决方案。

根据美国疾病控制中心的《2019 年抗生素耐药

威胁报告》^[6], 美国每年出现 280 多万例抗生素耐药感染, 造成 35 000 多人死亡。据欧洲抗生素耐药监测网络 (EARS-Net) 2015—2019 年的报告, 根据细菌种类、抗生素类别和地理位置, 整个欧盟的抗生素耐药频率发生了改变, 其中最常见的耐药细菌分别为大肠杆菌 (44.2%)、金黄色葡萄球菌 (20.6%)、肺炎球菌 (11.3%)、粪肠球菌 (6.8%)、铜绿假单胞菌 (5.6%)、肺炎球菌 (5.3%)、粪肠球菌 (4.5%) 和痤疮杆菌属 (1.7%)。据统计, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 占全世界所有金黄色葡萄球菌感染的 13%~74%。在美国, 金黄色葡萄球菌预计影响了 119 247 人, 导致 19 832 人死亡。WHO 最新的全球抗生素监测系统^[7]显示, 在 22 个国家的 50 万名报告细菌感染者中普遍存在抗生素耐药, 大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、肺炎球菌和肺炎克雷伯菌是最广泛的耐药细菌。对环丙沙星的耐药性, 大肠杆菌从 8.4% 到 92.9% 不等, 肺炎球菌从 4.1% 到 79.4% 不等。在向全球抗生素耐药性和使用监测系统 (GLASS) 报告的国家中, 青霉素耐药最高达 51%。2019 年, GLASS 收到了来自 25 个国家、地区和区域的 MRSA 血流感染数据以及来自 49 个国家的大肠杆菌血流感染数据。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的发病率中位数为 12.11% (IQR 6.4~26.4), 对第 3 代头孢菌素耐药的大肠杆菌中位数为 36% (IQR 15.2~63)^[8]。根据最新的抗结核药物耐药监测结果, 全球 3.5% 的现有抗结核病例和 18% 的既往治疗过的抗结核病例预计将出现耐药多药 (MDR) 抗结核或耐利福平 (RR) 抗结核^[1]。2017 年, 全球约有 55.8 万个 MDR/RR-抗结核新病例被报告, 并在当年夺去了 23 万人的生命^[9]。

抗生素耐药已成为人类的一大危险, 估计每年在全世界造成 70 万人死亡, 而且据预测, 如果这一问题得不到充分解决, 到 2050 年将有数百万人死亡^[10]。

2 抗生素耐药产生的原因

微生物是随着时间推移而适应的生物体, 它们的主要目标是尽可能快地复制、生存和传播。因此, 微生物为适应其周围环境, 会以保证其继续存在的方式进化。如果有什么物质阻止了它们的生长能力, 如抗生素, 它们就会通过基因修饰等途径产生免疫力, 使得它们能够继续得以生存。细菌产生耐药性是自然发展的过程, 在产生耐药的多层次原

因中,有几个关键要素,主要包括细菌的自然选择、抗生素不适当应用、抗生素滥用和新抗生素的可用性等^[11]。细菌耐药机制研究一直是实验和临床研究关注的问题^[12-14]。抗生素对绿脓杆菌的耐药机制示意图见图 1。可见细菌对抗生素耐药通过固有的结构或功能特征来降低抗生素的功效,与外排泵出抗生素、激活喹诺酮酶和 β -内酰胺酶等路径有关^[14]。

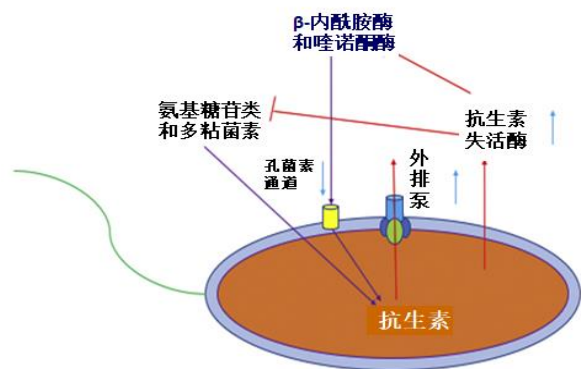


图 1 抗生素对绿脓杆菌的耐药机制的示意图

Fig. 1 Schematic representation of mechanisms of intrinsic antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*

2.1 细菌的自然选择

抗生素耐药主要是由细菌内部的改变引起的,并以多种方式发生。基因突变、遗传物质转移、选择性压力等因素都是细菌产生耐药的重要原因^[1]。

在细菌复制过程中可能发生少数碱基对的变化(点突变),导致关键目标(酶、细胞壁或细胞结构)中的一个或几个氨基酸被替换,从而产生新的耐药菌株。来自另一物种的抗性可被以前的易感菌株所积累,大多数抗菌抗性基因都携带在质粒或其他类型的遗传物质上,细菌可以将这些遗传物质传播到不同种属的其他细菌上,这样耐药细菌会将其耐药遗传物质传递给其他非耐药细菌,从而使得非耐药细菌积累了新的耐药 DNA 而产生耐药性。另外,选择性压力是允许具有新的突变或新发展特征的生物体生存和扩散的环境条件^[15]。细菌在遭遇抗生素时,要么被消灭,要么因有耐药基因存活下来,这些幸存细菌会继续繁殖,迅速取代非耐药细菌,逐渐成为该类细菌的主要生存形式^[16]。

2.2 抗生素不适当应用

在诊断感染性疾病时,医护人员有时会根据不可靠或不准确的判断开出广谱抗生素,而实际情况是某种窄谱抗生素可能更合适。这些情况加剧了微生物的选择压力,加速了抗生素耐药的产生^[11]。当

医生不清楚感染是由细菌还是病毒引起的时候,他们可能会开出抗生素,而抗生素对病毒感染没有作用,进而会产生耐药性^[17]。此外,每天都有大量的患者、工作人员和访客来到医院,每个人的衣服、体表、体内有自己的一套特定的微生物组群和一定种类的细菌。如果医院没有足够规范的管理方式来保持环境清洁,细菌就会传播,从而导致抗生素耐药的出现^[18]。

在东南亚地区,抗生素的使用不需要医生的处方,进而被人们过度使用。抗生素的不适当使用使得该地区患者面临药物不良反应的风险,掩盖了潜在疾病的迹象,并且会导致微生物耐药的发展。

2.3 抗生素的滥用

如果患者没有规范开展一个疗程的抗生素治疗,一些细菌可能会茁壮成长,并对该抗生素产生抗性。早在 1945 年,抗生素的发现者弗莱明曾公开警告不要过度使用抗生素,因为他已经意识到过度使用这些药物所带来的危险。出于错误的原因而过于频繁地服用抗生素会使细菌内部发生修饰,从而使抗生素对它们不发挥作用^[19]。

在世界的工业化地区和新地区,抗生素被用作动物的生长补充剂和生长促进剂。在这些国家和地区,人们像在人类身上一样使用大量抗生素治疗牲畜,导致动物体内抗生素耐药菌的出现。家畜中发现的耐药菌可能对人类具有致病性,容易通过食物链传播给人类,并通过动物粪便在生态系统中广泛传播,可能导致长期复杂、无法治疗的感染^[20]。

2.4 新抗生素的可用性

由于技术上的挑战、对微生物认知的相对匮乏以及财政和监管上的障碍,制药业对新抗生素的发明在很大程度上放缓了。当新的抗生素广泛使用时,抗药性的产生几乎是不可避免的,而且是在相对较短的时间内出现的。出于这种担心,医生经常限制这种最新抗生素的使用,通常只用于最严重的情况,而继续使用已证明具有类似效力的老药(通常是普通药物),这也会提高老药由于细菌内部产生抗药性而变得无效的可能性^[1]。

3 抗生素耐药的机制

抗生素耐药主要有天然耐药和获得性耐药两种形式。天然耐药可能是与生俱来的(通常在生物体内表达),也可能是介导的(基因通常存在于细菌中,但仅在抗生素治疗后激活至耐药水平)^[21]。另一方面,获得性耐药可能是细菌通过自身染色体

DNA 的翻译、结合、转录或突变获得遗传物质的结果^[22]。抗生素耐药机制可分为 4 类：(1) 药物渗透障碍；(2) 药物作用靶位改变；(3) 药物灭活；(4) 主动外排机制^[23]。由于结构差异等原因，革兰阴性菌适用以上 4 种机制，而革兰阳性菌不适用药物渗透障碍（外膜中没有脂多糖）和药物外排机制。

3.1 药物渗透障碍

革兰阴性菌对某些抗生素的渗透性本质上低于革兰阳性菌，这是因为革兰阴性菌的外膜存在脂多糖层，形成了一层渗透性屏障。糖肽类抗生素，如万古霉素，由于无法穿透外膜而对革兰阴性菌无效，这一事实充分说明了这种天然屏障的有效性。由于外膜渗透性的改变，包括 β -内酰胺类、四环素类和某些氟喹诺酮类在内的亲水性分子受到严重影响^[24]。由于孔蛋白通道减少甚至被非选择性通道取代，极性分子难以进入肠球菌的细胞壁，从而产生了对氨基糖苷类的固有耐受性。此外，研究表明，孔蛋白表达的减少会导致肠杆菌目、不动杆菌属和假单胞菌属对碳青霉烯类药物的耐药性。如果突变减少了孔蛋白的产生或存在突变的孔蛋白等位基因，那么在碳青霉烯酶活性缺乏的情况下，肠杆菌对碳青霉烯的耐药性就会出现^[25]。生物膜的形成是有助于细菌定植的另一种机制，生物膜基质包括多糖、蛋白质和 DNA，使抗菌药物难以进入细菌，从而发挥防御作用^[13]。

3.2 主动外排机制

通过特异或通用的抗生素外排泵将抗生素排出细胞外，降低胞内抗生素浓度而表现出抗性。外排泵以多种形式存在于大多数细菌中。根据结构和能量供应进行分类，外排泵主要有 5 种类型，分别是 ATP 结合盒（ATP-binding cassette, ABC）家族、小多药耐药（small multidrug resistance, SMR）家族、大促进剂超家族（large facilitator superfamily, MFS）、多药及毒性化合物外排（multidrug and toxic compound extrusion, MATE）家族和耐药节结化细胞分化（resistance-nodulation-cell division, RND）家族^[21]。除了 RND 家族是多部分泵，穿过细胞膜外排底物，其他外排泵系列都是单泵，穿过细胞质膜转移底物。四环素抗药性是外排介导抗性的典型示例，其中 Tet 外排泵（属于 MFS 家族）使用质子交换作为能量来源来挤出四环素。几种耐药外排泵中，如铜绿假单胞菌中的 MexAB-OprM 和肠杆菌科（RND 家族）中的 AcrAB-TolC，可以挤出四环

素^[26]。大环内酯类耐药是另一个由外排机制引起的临床相关表型。mef 基因是能挤出大环内酯类抗生素、编码特征最明确的外排泵（如红霉素）。MacB 是 ABC 家族成员的一员，作为三方泵（MacAB-TolC）用于排出大环内酯类药物。

3.3 药物灭活

细菌通过降解或取代活性基团使抗生素失去活性，从而产生耐药性。细菌可以产生将各种化学基团连接到抗生素上的酶，防止抗生素与细菌细胞中的靶标结合。通过化学基团转移将磷酸基、乙酰基和腺苷基转移到化合物是使抗生素失活的最有效方法。如氨基糖苷类修饰酶（乙酰转移酶、磷酸转移酶和核苷酸转移酶）通过共价结合改变了氨基糖苷分子的羟基或氨基，从而破坏抗生素结构，导致其不能与作用位点结合，从而产生耐药。细菌还可以改变抗生素的结构，产生耐药。 β -内酰胺类药物，如青霉素和头孢菌素是最常用的抗生素，该药物类别的中心结构是一个 β -内酰胺环， β 内酰胺环是这类抗生素的抗菌活性的关键点，某些细菌的 β -内酰胺酶以水解这类抗生素的 β 内酰胺环，从而抑制其与青霉素结合蛋白（penicillin-binding proteins, PBPs）的结合，产生耐药^[1]。

3.4 药物靶点改变

细菌通过改变药物作用靶位的结构来降低药物与细胞靶位的亲和力，引起抗菌药物耐药性^[21]。如细菌可以改变 PBPs 的结构，青霉素结合蛋白的排列、数量的变化均可降低与 β -内酰胺类抗生素的亲合力，减少细菌与 β -内酰胺类抗生素的结合，从而对 β -内酰胺类抗菌药物耐药^[27]。如红霉素核糖体甲基化酶（erythromycin ribosome methylase, ERM）基因家族可以使 16S rRNA 甲基化，并改变药物结合位点，阻断大环内酯类、链球菌素和林可胺类的结合^[28]。对抑制核酸合成的药物（如氟喹诺酮类）的耐药是由 DNA 促旋酶或拓扑异构酶 IV 的变化介导的，这些突变改变了促旋酶和拓扑异构酶的组成，从而降低或消除了与药物的亲合力^[29]。

4 新抗生素的开发和挑战

由于全球范围内抗生素耐药的增加，针对细菌感染标准治疗方法正变得无效。开发新的抗生素药物的经典方法不足以满足目前的需求，因此目前在抗生素发现领域正在设计新的战略。

4.1 已知抗菌剂的衍生物

已知抗菌剂的活性可以通过两种策略得到改

善,一是修改抗菌剂的原始化学结构,以规避抗菌剂的抗性机制;二是开发抑制抗菌剂抗性机制的化合物。

修改抗菌剂的基本化学结构,如替加环素,它是米诺环素的衍生物,在分子的第 9 位的 D 环上加了一个 9-叔丁基-甘氨酸的侧链,从而避免了特定的四环素外流泵或核糖体保护的作用^[30]。头孢地尔是头孢菌素的衍生物,与一种有助于到达外周空间的苷酸基团相连,对 β -内酰胺酶的稳定性增强,因此它对肠杆菌科和非发酵菌如铜绿假单胞菌等显示出良好的活性,目前正处于临床 III 期研究中。

开发抑制抗菌剂耐药机制的化合物。一些新的方法正在应用于该途径,以开发新的抗生素,如新的 β -内酰胺酶抑制剂^[31]。目前正在开发的 β -内酰胺酶抑制剂主要有两类:二氮杂环辛烷类和硼酸盐 β -内酰胺酶抑制剂类。二氮杂环辛烷类抑制 A 类、C 类和一些 D 类酶,但对金属- β -内酰胺酶、B 类 β -内酰胺酶没有显示出抑制作用;当该类抗生素与氨基糖苷类联合使用时,抗菌谱可涵盖产生金属- β -内酰胺酶的肠杆菌科,因为氨基糖苷对产生金属- β -内酰胺酶的细菌亦有抑制活性。硼酸盐 β -内酰胺酶抑制剂类的代表药物是瓦博巴坦,它对 B 类和 D 类 β -内酰胺酶也没有抑制作用,通常与美罗培南联合使用。还有一类正在开发中的抗生素为抗生素流出泵抑制剂,包括苯丙氨酸-精氨酸- β -萘胺、吡啶-2-羧酰胺类,但该类药物由于存在较为明显的毒性尚未到达临床研究阶段。另一类正在开发中的抗生素是 RecA 的抑制剂,在 SOS 反应中起着重要作用,可以增强抗生素的活性,阻止细菌抗耐药的进化^[32]。

4.2 针对新蛋白质的抗生素

细菌基因组学的出现为新抗生素的发现打开大门,在某种程度上,利用计算分析方法寻找关键目标蛋白的方法在理论上是可行的,但找到在体外抑制这些蛋白靶点是很困难的,面临着如何穿透细胞限制的障碍,通过细菌基因组学的方法寻找新的抗生素目前尚无成功的案例。

在传统途径中,抗生素是从生态环境中作为微生物的次级代谢产物被发现的,通过这种方式仍然有发现新抗生素的潜力。科学家试图从海洋样品(无脊椎动物或藻类)、昆虫和无脊椎动物等生态位中寻找产生抗生素的微生物^[33]。也有一些科学家在试图从人类微生物群中或从不同来源的微生物群中寻找抗菌化合物,由 *Lugdunensis* 葡萄球菌产生

的大环噻唑烷肽类抗生素路邓素,已被证明对包括金黄色葡萄球菌在内的革兰阳性病原体具有抑制活性,但其作用机制尚不清楚^[34]。应用微生物组学已经发现两种新分子,分别是四环素和胡米素,前者是一种四环抗生素,对来自土壤微生物群的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌有抑制活性,后者抑制脂质 II 翻转酶,对包括金黄色葡萄球菌和肺炎链球菌在内的革兰阳性细菌有抑制活性,并与一些 β -内酰胺类抗生素有协同作用^[35]。

4.3 替代技术应用

传统药物开发方法的替代方法是通过针对参与这一过程的特定毒力因子来影响致病性,这种策略的目的是防止细菌产生耐药性,从而控制其传播。干扰毒力因子的分子将解除病原体的武装,从而使细菌被宿主的免疫系统清除。大量与细菌毒力有关的因素正在作为新试剂的目标进行研究,包括以下类别:(1)参与宿主细胞附着的决定因素,抑制进入和转移到宿主组织。针对菌毛的分子,如 FimH 拮抗剂甘露糖苷和针对 3 型菌毛亚单位的抗体单链抗体 scFv-Fc KP3,在小鼠模型中显示出良好的体内效应。杀菌剂、菌毛形成抑制剂和糖基化黏蛋白分子均处于药物发现阶段^[36]。(2)参与宿主免疫调节。脂质 A 抑制剂包括 LpxC-1、体外疗效良好的取代磺基羟基化合物和 ACHN-975。另一种分子毛兰素,是一种分选酶 A 抑制剂,可干扰宿主免疫识别并在宿主表面附着,影响金黄色葡萄球菌小鼠感染的毒力^[37]。(3)生物膜调节。许多小分子抑制剂已经被鉴定出来,并在最近进行了检验。天然来源的药物,如黄酮类化合物、链霉素 B、环孢素及其衍生物缬沙坦是良好的抗生物膜剂^[38]。AR-105 作为辅助治疗已经进入 II 期临床阶段^[39]。(4)全球性的毒力调节剂。该类药物包括茴香醚和 SE-1,分别在体内和体外进行测试。抑制双组分系统也被证明可以阻断临床相关细菌的致病机制,但只有 savirin、LED209 在体内显示出良好的效果^[40]。

4.4 纳米颗粒

纳米颗粒被定义为纳米尺度内的颗粒或材料。虽然一些金属如银、铜以其整体形式具有抗菌活性,但其他金属仅当为纳米颗粒时才具抗菌能力。这些纳米颗粒的作用机制尚不清楚,推测有 3 个过程同时发生:诱导氧化应激、非氧化机制以及释放的金属离子与蛋白质和核酸的功能团相互作用^[41]。

尺寸、Zeta 电位、电荷、表面形态和晶体结构

等特定因素决定了金属纳米颗粒的抗菌活性。纳米颗粒既能破坏细菌膜,又能阻碍生物膜的形成。较小的纳米颗粒可提供更大的生物膜抑制(如银、氧化锌、镁或氧化氮纳米颗粒),且杆状纳米颗粒比球形纳米颗粒更能抑制生物膜^[42]。

纳米颗粒的细胞毒性是一个不容忽视的缺点,在细菌抑制浓度下,氧化锌、纳米银被证实具有细胞毒性。为了克服这个问题,有学者提出只能在感染部位局部输送纳米颗粒,以限制纳米颗粒对真核细胞的有害影响。

4.5 抗菌肽和拟肽

抗菌肽是无处不在的免疫效应物,能帮助宿主对抗病原体。虽然经典作用机制是膜通透性,但也存在其他机制,包括抑制蛋白质、DNA 和 RNA 合成以及基因物质降解,它们的活性取决于它们的组成和二级结构。

抗菌肽可根据其二级结构分为 α -螺旋型抗菌肽(如抗菌肽)、 β -片状抗菌肽(如 α -防御素、 β -防御素)、具有 β -发夹或环的抗菌肽(如死亡素、吡咯西丁)^[43]。由于其作用机制,有人提出这些分子与难以与穿透细菌的抗生素或与膜修饰相关的抗生素结合时发挥协同作用。

拟肽体为专门设计用于模拟肽或其功能的序列,但没有单一的 α -氨基酸构成骨架结构。这些序列通常比 α -螺旋抗菌肽具有更强的体内稳定性和更低的毒性。在不同的拟肽中,神经激肽对蛋白酶具有抗性,并且易于大规模生产。其中两种最为有效的拟肽是 CSA-131、CSA-13,前者对耐黏菌素的鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌和厌氧菌具有活性,后者具有良好的抗生物膜活性^[44]。

4.6 噬菌体疗法与酶学

噬菌体的使用仅限于东欧国家,特别是格鲁吉亚和波兰,这些国家的噬菌体鸡尾酒已经商业化。2013—2017 年在比利时、法国和瑞士进行了一项名为噬菌体的研究,以评估噬菌体疗法治疗感染大肠杆菌、铜绿假单胞菌的烧伤伤口疗效^[45]。此外,噬菌体 4 治疗项目目前正在德国进行,包括开发可吸入的噬菌体来治疗铜绿假单胞菌感染。

另一种抗菌方法即酶制剂,涉及使用噬菌体衍生的酶来专门攻击不同的物种甚至细菌血清型。这些溶菌素在 20 世纪 60 年代首次被发现,通过降解肽聚糖和通过渗透压不平衡诱导细菌裂解而发挥作用,并显示出良好的抗菌活性。内溶素,尤其是

Cpl-711,在治疗受到肺炎链球菌攻击的小鼠时,显示出良好的效果^[46]。另外,由于多糖解聚酶可降解细菌膜的碳水化合物,目前也在研究中,利用这类酶破坏生物膜、对抗包裹细菌受到了广泛关注。

尽管噬菌体疗法被认为是对抗耐药性病原体的一种有潜力的替代方法,但仍有几个障碍需要克服。一方面是药动学,因为噬菌体必须在宿主细胞内复制才能发挥杀菌作用,所以需要高剂量的噬菌体来消灭细菌种群在宿主反应方面,还必须考虑到有关免疫反应的问题,通过中和抗体,由噬菌体的作用产生。最后应该考虑到细菌对噬菌体的抗药性上升的威胁,克服这一问题的一个策略是将噬菌体与经典的抗生素结合起来。关于酶生物制品,主要的限制是它们的稳定性较弱,缺乏溶解性,需要化学工程的帮助。

4.7 反义寡核苷酸

寡核苷酸可用于抑制真核生物和原核生物中的基因表达。这些分子在基因表达调控途径的不同层面上发挥作用。根据其机制,这些分子被分类为转录过程抑制剂(如针对 DNA 的三链形成寡核苷酸)、翻译过程抑制剂(如反义寡核苷酸、小干扰核糖核酸、核酶和微型的核糖核酸;针对信使核糖核酸)和阻断蛋白质活性的寡核苷酸(如转录因子的适配子或诱饵寡核苷酸)。

反义寡核苷酸是约 20 个核苷酸组成的单链 DNA 模拟寡核苷酸,与 mRNA 结合以调节基因表达,但不影响核苷酸翻译^[47]。最常被研究的反义寡核苷酸是硫代磷酸酯寡核苷酸(S-oligos)、锁定核酸、肽核酸(PNAs)和磷酸二胺吗啉寡核苷酸(PMO)。

反义寡核苷酸可以通过 RNA 沉默来抑制基本基因的表达,从而用于对抗抗生素的抗性。这种策略的主要缺点是在细菌内达到足够高的浓度,这一点已经用细胞穿透肽(CPP)来解决,CPP 有助于低聚物在细胞内的有效传递。已有的研究成果如 CPP-PMO、CPP-PNA、肽核酸靶向 polA 和肽核酸结合物已经证明了反义寡核苷酸作为抗菌剂的开发潜力^[48]。

5 结语

抗生素的出现为人类对抗病菌带来了强大的武器,近百年来拯救了无数患者的生命。然而,由于抗生素的滥用和过度使用,使得病菌进化出了耐药性来对抗抗生素的抑菌活性。在面对新的耐药菌

时, 抗生素的效果将大大折扣, 因此, 抗生素耐药对人类医疗卫生造成了严重威胁。抗生素耐药随着微生物的进化持续增加, 而新的抗生素的研发管路却在枯竭。抗生素的耐药与抗生素的使用密切相关, 改善抗生素的管理和使用可以更好地预防感染, 帮助保护现有的抗生素能够继续发挥作用。为了尽量减少不适当的需求, 还需要提高全球公众对抗生素耐药的认识, 加大抗生素使用和耐药的监测。在抗生素新药的开发领域, 新的抗生素药物的生产跟不上不断增加的耐药性的步伐, 需要开展多个国家和领军企业的合作以对抗生素耐药。相信在全球医生、制药企业、国家和公众的共同努力下, 一定可以找到解决抗生素耐药的适宜途径。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Uddin T M, Chakraborty A J, Khusro A, *et al.* Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects [J]. *J Infection Public Heal*, 2021, 14(12): 1750-1766.
- [2] Dodds D R. Antibiotic resistance: A current epilogue [J]. *Biochem Pharmacol*, 2017, 134: 139-146.
- [3] Durand G A, Raoult D, Dubourg G. Antibiotic discovery: history, methods and perspectives [J]. *Int J Antimicrobial Agents*, 2019, 53(4): 371-382.
- [4] Economou V, Gousia P. Agriculture and food animals as a source of antimicrobial-resistant bacteria [J]. *Infect Drug Resist*, 2015, 8: 49-61.
- [5] World Health Organization. Antimicrobial resistance: global report on surveillance [R]. Geneva: World Health Organization, 2014.
- [6] Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic Resistance Threats in the United States. 2019 [R/OL]. <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/82532>
- [7] Seale A C, Gordon N C, Islam J, *et al.* AMR Surveillance in low and middle-income settings - A roadmap for participation in the Global Antimicrobial Surveillance System (GLASS) [J]. *Wellcome Open Res*, 2017, 2: 92.
- [8] de Kraker M E, Wolkewitz M, Davey P G, *et al.* Burden of antimicrobial resistance in European hospitals: excess mortality and length of hospital stay associated with bloodstream infections due to *Escherichia coli* resistant to third-generation cephalosporins [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2011, 66(2): 398-407.
- [9] Ballesterio J G A, Garcia J M, Bollela V R, *et al.* Management of multidrug-resistant tuberculosis: Main recommendations of the Brazilian guidelines [J]. *J Bras Pneumol*, 2020, 46(2): e20190290.
- [10] Subramaniam G, Girish M. Antibiotic resistance - A cause for reemergence of infections [J]. *Indian J Pediatr*, 2020, 87(11): 937-944.
- [11] Chokshi A, Sifri Z, Cennimo D, *et al.* Global contributors to antibiotic resistance [J]. *J Glob Infect Dis*, 2019, 11(1): 36-42.
- [12] Munita J M, Arias C A. Mechanisms of antibiotic resistance [J]. *Microbiol Spectr*, 2016, 4(2):10.
- [13] Hall C W, Mah T F. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria [J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2017, 41(3): 276-301.
- [14] Pang Z, Raudonis R, Glick B R, *et al.* Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies [J]. *Biotech Adv*, 2019, 37(1): 177-192.
- [15] Holmes A H, Moore L S, Sundsfjord A, *et al.* Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance [J]. *Lancet*, 2016, 387(10014): 176-187.
- [16] Zhao R, Feng J, Liu J, *et al.* Deciphering of microbial community and antibiotic resistance genes in activated sludge reactors under high selective pressure of different antibiotics [J]. *Water Res*, 2019, 151: 388-402.
- [17] Marc C, Vrignaud B, Levieux K, *et al.* Inappropriate prescription of antibiotics in pediatric practice: Analysis of the prescriptions in primary care [J]. *J Child Health Care*, 2016, 20(4): 530-536.
- [18] Almagor J, Temkin E, Benenson I, *et al.* The impact of antibiotic use on transmission of resistant bacteria in hospitals: Insights from an agent-based model [J]. *PLoS One*, 2018, 13(5): e0197111.
- [19] Sulis G, Daniels B, Kwan A, *et al.* Antibiotic overuse in the primary health care setting: a secondary data analysis of standardised patient studies from India, China and Kenya [J]. *BMJ Glob Health*, 2020, 5(9): e003393.
- [20] Manyi-Loh C, Mamphweli S, Meyer E, *et al.* Antibiotic

- use in agriculture and its consequential resistance in environmental sources: Potential public health implications [J]. *Molecules*, 2018, 23(4): 795.
- [21] Reygaert W C. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria [J]. *AIMS Microbiol*, 2018, 4(3): 482-501.
- [22] Culyba M J, Mo C Y, Kohli R M. Targets for combating the evolution of acquired antibiotic resistance [J]. *Biochemistry*, 2015, 54(23): 3573-3582.
- [23] Kapoor G, Saigal S, Elongavan A. Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians [J]. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol*, 2017, 33(3): 300-305.
- [24] Blair J M, Webber M A, Baylay A J, *et al.* Molecular mechanisms of antibiotic resistance [J]. *Nature Rev Microbiol*, 2015, 13(1): 42-51.
- [25] Iredell J, Brown J, Tagg K. Antibiotic resistance in Enterobacteriaceae: Mechanisms and clinical implications [J]. *BMJ*, 2016, 352: h6420.
- [26] Grossman T H. Tetracycline antibiotics and resistance [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2016, 6(4): a025387.
- [27] Bush K, Bradford P A. β -Lactams and β -lactamase inhibitors: An overview [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2016, 6(8): a025247.
- [28] Peterson E, Kaur P. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: Relationships between resistance determinants of antibiotic producers, environmental bacteria, and clinical pathogens [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 2928.
- [29] Nainu F, Masyita A, Bahar M A, *et al.* Pharmaceutical prospects of bee products: Special focus on anticancer, antibacterial, antiviral, and antiparasitic properties [J]. *Antibiotics* (Basel), 2021, 10(7): 822.
- [30] Stein G E, Craig W A. Tigecycline: A critical analysis [J]. *Clin Infect Dis*, 2006, 43(4): 518-524.
- [31] Wong D, van Duin D. Novel beta-lactamase inhibitors: Unlocking their potential in therapy [J]. *Drugs*, 2017, 77(6): 615-628.
- [32] Alam M K, Alhhazmi A, DeCoteau J F, *et al.* RecA inhibitors potentiate antibiotic activity and block evolution of antibiotic resistance [J]. *Cell Chem Biol*, 2016, 23(3): 381-391.
- [33] Adnani N, Rajski S R, Bugni T S. Symbiosis-inspired approaches to antibiotic discovery [J]. *Nat Prod Rep*, 2017, 34(7): 784-814.
- [34] Zipperer A, Konnerth M C, Laux C, *et al.* Human commensals producing a novel antibiotic impair pathogen colonization [J]. *Nature*, 2016, 535(7613): 511-516.
- [35] Kallifidas D, Kang H, Brady S F. Tetarimycin A, An MRSA-active antibiotic identified through induced expression of environmental DNA gene clusters [J]. *J Am Chem Soc*, 2012, 134(48): 19552-19555.
- [36] Pinkner J S, Remaut H, Buelens F, *et al.* Rationally designed small compounds inhibit pilus biogenesis in uropathogenic bacteria [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(47): 17897-17902.
- [37] Vila J, Moreno-Morales J, Balleste-Delpierre C. Current landscape in the discovery of novel antibacterial agents [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2020, 26(5): 596-603.
- [38] Aggarwal C, Jimenez JC, Lee H, *et al.* Identification of quorum-sensing inhibitors disrupting signaling between Rgg and short hydrophobic peptides in *Streptococci* [J]. *mBio*, 2015, 6(3): e00393-00315.
- [39] Theuretzbacher U, Piddock L J V. Non-traditional antibacterial therapeutic options and challenges [J]. *Cell Host Microbe*, 2019, 26(1): 61-72.
- [40] Sully E K, Malachowa N, Elmore B O, *et al.* Selective chemical inhibition of agr quorum sensing in *Staphylococcus aureus* promotes host defense with minimal impact on resistance [J]. *PLoS Pathog*, 2014, 10(6): e1004174.
- [41] Seil J T, Webster T J. Antimicrobial applications of nanotechnology: Methods and literature [J]. *Int J Nanomedicine*, 2012, 7: 2767-2781.
- [42] Slomberg D L, Lu Y, Broadnax A D, *et al.* Role of size and shape on biofilm eradication for nitric oxide-releasing silica nanoparticles [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2013, 5(19): 9322-9329.
- [43] Molchanova N, Hansen P R, Franzyk H. Advances in development of antimicrobial peptidomimetics as potential drugs [J]. *Molecules*, 2017, 22(9): 1430.
- [44] Olekson M A, You T, Savage P B, *et al.* Antimicrobial ceragenins inhibit biofilms and affect mammalian cell viability and migration *in vitro* [J]. *FEBS Open Bio*, 2017, 7(7): 953-967.
- [45] Jault P, Leclerc T, Jennes S, *et al.* Efficacy and tolerability of a cocktail of bacteriophages to treat burn wounds infected by *Pseudomonas aeruginosa*

- (PhagoBurn): A randomised, controlled, double-blind phase 1/2 trial [J]. *Lancet Infect Dis*, 2019, 19(1): 35-45.
- [46] Díez-Martínez R, De Paz H D, García-Fernández E, *et al.* A novel chimeric phage lysin with high *in vitro* and *in vivo* bactericidal activity against *Streptococcus pneumoniae* [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2015, 70(6): 1763-1773.
- [47] Ciudad C J, Rodríguez L, Villalobos X, *et al.* Polypurine reverse hoogsteen hairpins as a gene silencing tool for cancer [J]. *Curr Med Chem*, 2017, 24(26): 2809-2826.
- [48] Abushahba M F, Mohammad H, Thangamani S, *et al.* Impact of different cell penetrating peptides on the efficacy of antisense therapeutics for targeting intracellular pathogens [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 20832.

[责任编辑 解学星]