

抗菌肽的研究进展

李 聪^{2*}, 燕 安¹, 俞利凤¹, 刘维全¹

(² 中国农业大学动物医学院, ¹ 中国农业大学生物学院, 北京 100094)

摘 要: 抗菌肽又称抗微生物肽(antimicrobial peptide)或肽抗生素(peptide antibiotics), 在动植物体内分布广泛, 是天然免疫防御系统的一部分。抗菌肽不仅有广谱抗菌能力, 而且对真菌、病毒及癌细胞也有作用。对抗菌肽作用机理的研究是近来的热点之一, 本文综述了此方面近来的进展, 并对微生物针对抗菌肽的耐药性进行了讨论。

关键词: 抗菌肽; 作用机理; 耐受性

中图分类号: Q936

文献标识码: A

文章编号: 0253-9977(2004)02-125-04

抗菌肽在动植物体内分布广泛, 在复杂的多细胞生物对微生物的防御过程中发挥了重要作用。人们一度认为, 病毒、细菌、真菌能够对任何抗微生物物质产生耐受性, 然而抗菌肽在这一点上打破了人们的传统看法。抗菌肽发挥防御作用的基础在于微生物的细胞膜结构的特点, 这些特点是动植物所不具备的。这方面的大量研究, 使人们对抗菌肽的认识更加深入, 也促使人们去创造新的抗感染疗法。

1 抗菌肽的分子结构

抗菌肽是一类对抗外界病原体感染的肽类活性物质, 它们多为 13~45 个氨基酸组成的短肽。有些抗菌肽全部由 L-氨基酸组成, 而有些抗菌肽分子中同时包含了 L-氨基酸和 D-氨基酸, 分子量一般为几千 Da, 常带正电荷。

抗菌肽在各种生物体中分布广泛, 结构多样, 只能依二级结构做一个大致的划分:

(1) 线形螺旋结构的肽, 有两性的 α -螺旋状的二级结构^[1], 如蚕蛾分泌的天蚕素(cecropin)和爪蟾分泌的马盖宁(magainin)。大多数延伸的线形肽分子以一种或两种氨基酸为主要成分, 如牛的嗜中性细胞分泌的 indolicidin 以色氨酸为主, 猪的嗜中性细胞分泌的 PR39 以脯氨酸和精氨酸为主。

(2) 分子内有一个二硫键的抗菌肽, 其二硫键位置通常在 C 末端, 故在分子的 C 末端有一环链结构, N 端则为长的线状, 如爪蟾皮肤细胞产生的 brevinin, bactenecin 等。

(3) β 片层结构的抗菌肽, 分子内有 2~3 个二硫键,

如防御素^[2]。

所有抗菌肽分子在二级结构上都有一个共同的特点, 那就是其分子中的疏水部分与阳离子氨基酸部分分别位于分子结构的不同区域, 形成了一个双亲分子的结构, 即与水与脂类物质都有具有亲和力的结构, 这也是抗菌肽能够发挥抗菌作用的基础。

抗菌肽和常规的抗生素不同, 抗生素是通过一系列酶合成的产物, 而抗菌肽则是某个特定基因编码的产物。所有的抗菌肽均由更长的包含信号序列的前体物经翻译修饰而来, 其分子的形成包括蛋白质的水解, 糖基化, 碳端的酰基化, 氨基酸的异构和卤化等过程。更复杂的形成过程还包括环化作用, 如由短尾猿(*Rhesu*)中分离出来的 θ 防御素^[3], 就是由两个小的肽链的环化作用而形成了一个完整的环。人们发现不管是来源于同一种生物的不同抗菌肽, 还是来自于多种生物的同一种抗菌肽, 它们的分子结构中的氨基酸序列与前体物质存在着很大的保守性, 这说明在抗菌肽的翻译、分泌和细胞内的转运过程中存在着许多限制性因素, 这个特点在 cathelicidins 中表现得尤为明显^[4]。

2 抗菌肽作用的选择性

微生物的细胞膜和多细胞生物的细胞膜在结构

收稿日期: 2003-05-16; 修回日期: 2003-06-03

国家自然科学基金资助项目(No.39870552)

* 通讯作者, E-mail: licongss@sina.com

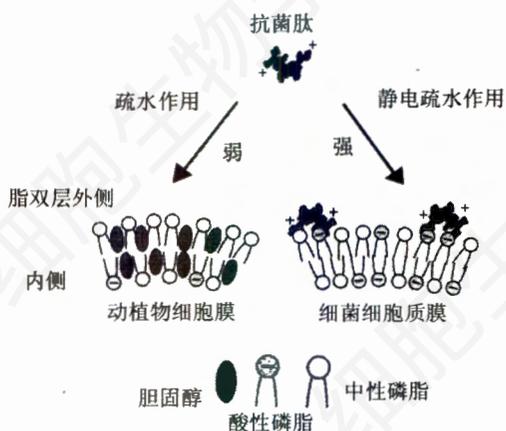


图1 抗菌肽作用的选择性(改自文献^[18])

特点上的不同决定了抗菌肽作用的选择性。微生物的细胞膜由脂质双分子层组成，其带有负电荷的磷脂头暴露在外层，而动植物的脂质双层的外层则没有净电荷的分布，其大部分的带负电荷的磷脂的头均面向细胞质而位于脂双层的内层^[5]。

抗菌肽的正电荷是其结合细菌细胞壁和外膜层的基础。对于G⁻菌，具阳离子型的抗菌肽易与其外膜上的带负电脂多糖相互作用，从而破坏外膜结构以穿越内膜；而G⁺菌不具有脂多糖膜，但其表面由于肽聚糖中胞壁酸、糖醛酸、磷壁酸和氨基酸羧基的存在而带负电，抗菌肽也能破坏肽聚糖层而穿透质膜^[6]。

3 抗菌肽的作用机制

抗菌肽的双亲分子结构决定了其特殊的作用机制，正电荷区域首先与微生物膜外的负电荷相互作用，接着抗菌肽的疏水部分与微生物膜表面的磷脂发生互换，并促使肽分子进入细胞内部。具体的作用过程是^[5,7,8]：抗菌肽首先平铺在细胞膜上，通过其所带的正电荷与脂双层外侧带负电荷的磷脂结合，然后取代脂类分子的位置，使脂双层外侧发生扭曲，细胞膜产生了相变，并且出现了短暂的离子通道。在离子通道形成之后，抗菌肽的作用过程可以分为两种情况。

有时抗菌肽与细胞膜作用直接导致细胞死亡，在此情况下，可能的机制有以下几种：

- (1) 膜的裂解产生严重的物理性破坏，导致内容物外泄。
- (2) 在脂双层中，脂质的不规则分布造成了细胞膜功能的紊乱^[8]。

(3) 去极化作用，通过改变膜构象，形成众多离子通道，膜内的K⁺通过离子通道大量外流，造成ATP合成下降，最后菌体因细胞呼吸受阻而死亡。

另一种情况下，抗菌肽形成离子通道的时间很短，这样不足以立即杀死病原体。抗菌肽通过进入靶细胞内部，导致一系列关键物质的破坏^[9]，可能包括以下过程：

- (1) 抗菌肽诱导菌体产生降解细胞膜的水解酶，从而导致整个细胞的解体。
- (2) 抗菌肽与胞内多聚阴离子(如DNA)起作用，使DNA失活，从而杀死病原体。

目前的研究尚未完全揭示出抗菌肽导致细菌死亡过程的全部细节，可能这个过程比以上所列的要复杂得多，也许细菌的致死过程是多个因素(甚至是尚不清楚的因素)联合作用的结果。

有些因素可以显著地抑制抗菌肽的生物活性。动植物细胞膜中的胆固醇能稳定脂质双层，还可以与抗菌肽相互作用，降低其活性^[5,8]。另外，在动植物细胞中，静电荷是抗菌肽作用开始时所必需的，离子强度的增加会导致静电荷的减少，从而减弱大部分抗菌肽的活性。因此，抗菌肽在抗菌过程中，其作用效力与机体内盐浓度有关， α 和 β 防御素在盐浓度达到100mmol/L时就会迅速失去作用^[10]。

一般抗菌肽的有效浓度是微摩尔浓度，但是对乳链菌肽(nisin)而言，甚至在纳摩尔浓度下即可以发挥作用。它由14个氨基酸组成，与微生物细胞膜Lipid II(一种细胞壁形成的前体物质)具有很强的亲和性，它们之间的作用导致了细胞膜的穿孔。传统的万古霉素的作用的靶标也是Lipid II，但与万古霉素不同，乳链菌肽不是通过一些特殊的受体而起作用的，所以至今还没有发现对乳链菌肽的耐受菌株，这表明在万古霉素产生普遍耐受性的今天，乳链菌肽有望被开发成为新一代的抗菌药物^[11]。乳链菌肽的作用机制很具有代表性，有些植物防御素的作用就与乳链菌肽很相似^[12]。

4 抗菌肽与耐受性

微生物很容易通过基因突变对传统的抗生素产生耐受性，然而，微生物在通过基因突变的方式来产生对抗菌肽的耐受性几乎是不可能的。因为其抗菌机制是不同的：抗生素一般是通过抑制细菌的细胞壁、蛋白质或DNA等的合成来发挥作用的，这种作用需要一些特殊受体；而抗菌肽一般是通过物

理作用造成细胞膜的穿孔, 这样就不需要一些特殊的受体。微生物要产生对抗菌肽的耐受性, 有两大难点:

(1) 抗菌肽的作用目标是细菌的细胞膜, 因此微生物要不被抗菌肽攻击, 就必须改变其膜的结构, 然而这一点是很难作到的。

(2) 大多数的抗菌肽是由无特点的氨基酸序列组成, 缺少一个独特的可被蛋白水解酶识别的抗原决定基, 因此微生物要破坏抗菌肽也十分不易。

但目前也发现了一些对抗菌肽作用不敏感的菌株。一些不敏感菌株, 如摩根氏菌属(*Morganella*)和沙雷氏菌属(*Serratia*), 其外膜缺少合适的酸性脂质密度, 失去了与抗菌肽作用的位点。其他的不敏感菌株, 如牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*), 能够分泌出特殊的蛋白酶来水解抗菌肽。在对抗菌肽的获得性耐受所做的研究基本上证实了这些蛋白酶对应的基因, 这些基因在被破坏时, 微生物对抗菌肽的敏感性就会加强, 后续的研究还发现这些基因在微生物的毒力方面起到了重要作用^[13]。

5 结束语

在过去的二十多年里, 通过对抗菌肽的研究, 我们对自身防御系统有了新的认识。动植物体每天要与环境中几百万种的病原菌接触, 随时有被感染发病的机会, 单靠病原特异性免疫应答是不够的, 因为它们的反应速度十分缓慢, 所以大自然选择了具广谱抗菌性并在几分钟或几小时就可杀死病原菌的抗菌肽, 抗菌肽构成了自身防御系统的一部分^[14]。而对于低等动物, 它们在没有淋巴细胞、胸腺和抗体的情况下, 依赖于体内抗菌肽的有效作用来抵抗微生物的入侵, 抗菌肽的存在对于它们抵抗微生物显得尤为重要^[15]。

过去, 在一种抗生素因为耐受性的产生而失去作用时, 人们通常通过对其分子进行修饰来寻找新的抗生素, 但不久之后微生物的耐受性依然会出现。临床和实验所进行的研究证实了抗菌肽所引起的微生物耐受性, 与传统的抗生素相比, 微乎其微, 这为解决在临床上日益棘手的细菌对传统抗生素产生耐药性问题提供了新的途径。如最近提出通过重新设计巨噬细胞而提高其分泌 β 防御素防御分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)的能力^[16], 在动物中, 转录的基因能表达超过生理水平的LL37, 从

而有利于防治肺部细菌感染的囊肿性纤维化^[17]。不仅如此, 抗菌肽对真菌、病毒、癌细胞也有作用。但是, 将抗菌肽大规模应用到临床治疗, 还有许多问题有待于解决, 如抗菌肽的分子量比大部分抗生素大, 生产成本昂贵, 还有临床安全性问题等等。

参 考 文 献

- [1] NIV P, ZIV O, ULRIKE P, *et al.* The consequence of sequence alteration of an amphipathic helical antimicrobial peptide and its diastereomers [J]. *J Biol Chem*, 2002, **277**: 33913—33921.
- [2] TOMAS G. Versatile defensins [J]. *Science*, 2002, **298**: 977—979.
- [3] YIQUN T, JUN Y, GEORGE Ö, *et al.* A cyclic antimicrobial peptide produced in primate leukocytes by the ligation of two truncated defensins [J]. *Science*, 1999, **286**: 498—502.
- [4] ZANETTI M, GENNARO R, SCOCCHI M, *et al.* Structure and biology of cathelicins [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2000, **479**: 203—218.
- [5] MATSUZAKI K. Why and how are peptide-lipid interactions utilized for self-defense? Magainin and tachyplesins as archetypes [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1999, **1462**: 1—10.
- [6] FERNANDEZ L S, HUISUN K, ELLEN C C, *et al.* Antibacterial agents based on the cyclic D, L- α -peptide architecture [J]. *Nature*, 2001, **412**: 452—455.
- [7] YANG L, WEISS T M, LEHRER R I, *et al.* Crystallization of antimicrobial pores in membranes: magainin and protegrin [J]. *Biophys J*, 2000, **79**: 2002—2009.
- [8] SHAI Y. Mechanism of the binding, insertion and destabilization of phospholipid bilayer membranes by α -helical antimicrobial and cell non-selective membrane-lytic peptides [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1999, **1462**: 55—70.
- [9] KRAGOL G, SANDOR L, GYORGYI V, *et al.* The antibacterial peptide pyrrolicin inhibits the ATPase actions of DnaK and prevents chaperone-assisted protein folding [J]. *Biochemistry*, 2001, **40**: 3016—3026.
- [10] JAMES P T, YUAN L, JINLONG Y. Correlations of cationic charges with salt sensitivity and microbial specificity of cystine-stabilized Strand antimicrobial peptides [J]. *J Biol Chem*, 2002, **277**: 50450—50456.
- [11] BREUKINK E, WIEDEMANN I, C VAN KRAAIJ, *et al.* Use of the cell wall precursor Lipid II by a pore-forming peptide antibiotic [J]. *Science*, 1999, **286**: 2361—2364.
- [12] THEVISSSEN K, BRUNO C, KATLEEN L, *et al.* A gene encoding a sphingolipid biosynthesis enzyme determines the sensitivity of *Saccharomyces cerevisiae* to an antifungal plant defensin from dahlia (*Dahlia merckii*) [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**: 9531—9536.
- [13] YEAMAN M R, YOUNT N Y. Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance [J]. *Pharmacological Reviews*, 2003, **55**: 27—55.
- [14] BALS R, WEINER D J, MOSCIONI A D, *et al.* Augmen-

- tation of innate host defense by expression of a cathelicidin antimicrobial peptide [J]. *Infect Immun*, 1999, **67**: 6084 – 6089.
- [15] KIMBRELL D A, BEUTLER B. The evolution and genetics of innate immunity [J]. *Nature Rev Genet*, 2001, **2**: 256 – 267.
- [16] KISICH K O, HEIFETS L, HIGGINS M, *et al.* Antimycobacterial agent based on mRNA encoding human b-Defensin2 enables primary macrophages to restrict growth of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Infect Immun*, 2001, **69**: 2692 – 2699.
- [17] KOJI H, LARS E, JOHN D L, *et al.* Cell differentiation is a key determinant of cathelicidin LL-37/human cationic antimicrobial protein 18 expression by human colon epithelium [J]. *Infection and Immunity*, 2002, **70**: 953 – 963.
- [18] MICHAEL Z. Antimicrobial peptides of multicellular organisms [J]. *Nature*, 2002, **415**: 389 – 395.

Research Progress in Antimicrobial Peptides

LI Cong^{2*}, YAN An¹, YU Li Feng¹, LIU Wei Quan¹

(²College of Veterinary Medicine of China Agricultural University, ¹College of Biological Sciences of China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: Antimicrobial peptides or peptide antibiotics, a part of innate immune system, are widely spread in both plants and animals. They have a wide antibacterial spectrum, and some even have effects on fungi, virus and cancer cells. Recent study of their mechanism and resistance is rather intensive, which will be reviewed in this article.

Key words: antimicrobial peptides; mechanism; resistance

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.39870552)

*Corresponding author, E-mail: licongss@sina.com