

# 抗菌胜肽之理論與應用

林志勳

台灣動物科技研究所 副研究員兼組長

## 前言

仔豬在 3 至 4 週齡離乳面對很多有害的潛在性緊迫因子，尤其是從母乳為主的液體食物改變為固體的飼料，此階段的仔豬消化和免疫系統仍尚未發展成熟，故仔豬會有離乳成長停滯現象的發生。仔豬採食量減少、生長性能下降、發病與死亡率增加。故尋找如何強化仔豬離乳時的免疫能力為目前重要的研究議題。

抗生素當作飼料添加劑以促進動物生長已經有很長的歷史，這類添加劑若不當使用，會導致抗生素殘留，影響消費者健康，還可能造成環境或畜禽動物腸胃道中出現抗藥菌株。

抗菌胜肽(Antimicrobial peptides)又稱抗微生物肽、抗菌肽、肽抗生素等，廣泛存在於自然界生物中，是動植物用來抵抗外來病原菌的先天性免疫分子，大多是由數十個胺基酸所組成的多胜肽，多樣性豐富，幾乎每一個動植物都有自己獨特的抗菌胜肽。抗菌胜肽能抑制大部分動植物病原菌的生長，且成分為易消化吸收的胺基酸，可作為飼料添加劑取代或部分取代抗生素的使用，以減少對動物體或消費者的危害。

## 抗菌胜肽 (Antimicrobial Peptides, AMPs)

### 分類

自從 20 世紀 80 年代初 Boman *et al.* 從天蠶蛹中分離出具有抗菌活性的胜肽“天蠶素”之後，陸續從昆蟲、植物、動物、細菌、真菌等物種發現不同的抗菌胜肽，目前已知近兩千種，可在 The Antimicrobial Peptide Database (APD 資料庫)網站中查詢(Wang *et al.*, 2009)。若依據其胺基酸結構大致可分五類(Reddy *et al.*, 2004)：

1.  $\alpha$ -螺旋型：如天蠶素(cecropins)。
2. 富含半胱胺酸型：如人類嗜中性白血球多胜肽 HNP-1, -2 和 -3。
3.  $\beta$ -Sheet 型：如蠶肽素(tachyplesins)、tachystatins 和 polyphemusins。
4. 胺基酸豐富型：包括富含組胺酸的 histatin、富含脯胺酸的 cathelicidins 以及色胺酸豐富的 indolicidins 和 tritripticin 等。
5. 罕見胺基酸修飾型：如乳酸鏈球菌素(nisin)，一種由罕見的胺基酸(即 lanthionine)

組成的抗菌胜肽。

## 抗菌機制

所有抗菌胜肽都是來自較大的前驅體(包括一個信號序列)，經過轉錄後修飾：蛋白加工、糖基化、羧基末端醯胺化、胺基酸異構化或是鹵化，而得到具有活性的多胜肽鏈；有些是由較大的蛋白質水解而得的，例如從乳鐵蛋白水解的 lactoferricin。抗菌胜肽大多具有以下特點：帶正電荷、有親水端跟疏水端(兩性分子)、N 端由鹼性胺基酸組成、C 端醯胺化、第二位置為色胺酸等。當它遇到帶負電荷的病原體時，親水端會以靜電力黏附於病原體表面，再用疏水端插入其脂質膜中，藉物理性質使細胞膜穿孔造成內外離子濃度失衡，或裂解細胞膜使病原體死亡等，大致可分為以下幾種模式(黃現青等人，2010)：

1. 桶狀穿孔模式：由具有螺旋結構胜肽穿插細菌細胞膜，使細胞膜形成桶狀孔洞，造成滲透壓失衡使細菌死亡。
2. 地毯模式：抗菌胜肽由靜電力吸附散佈整個細胞膜上，當濃度超過臨界值時會在表面形成環狀孔，使其他抗菌胜肽進入細胞膜，最後經過翻轉作用使細胞膜分裂致死。
3. 環狀穿孔模式：螺旋狀胜肽插入細胞膜中，導致脂雙層結構持續彎曲通過孔洞，以致於被插入的肽和脂質頭部拉成線型，在細胞膜內外造成跨膜孔洞，滲透壓失衡而致死。

傳統抗生素易讓細菌產生抗藥性，但是微生物幾乎不可能對抗菌胜肽產生抗藥性，因為它是直接與細胞膜磷脂質結合，不需要特殊受體，因此微生物難以透過基因突變產生抗藥性。少數具抗藥性的菌種，如 *Morganella* 和 *Serratia* 屬，外膜缺乏足夠的酸性脂質讓胜肽結合；*Porphyromonas gingivalis* 則會分泌消化蛋白酶破壞胜肽。相關研究指出，這些特殊基因通常和致病力有關，若這些基因表現受中斷時會使病原菌對其它種類的抗菌胜肽更敏感而不利生存 (Zasloff, 2002)。

## 畜產業的應用

### ◆ 飼料添加劑

抗生素作為飼料添加劑促進動物生長，但造成抗藥菌株出現。不當使用會導致抗生素殘留，可能會影響消費者健康。抗菌胜肽能抑制大部分動物病原體的生長，且成分為易消化吸收的胺基酸，可作為飼料添加劑取代或部分取代抗生素的使用，減少對動物的危害或藥物殘留。

目前有許多抗菌胜肽在畜產業的相關研究：溫劉發等人(2001)用含抗菌胜肽的柞蠶免疫血淋巴粉添加於離乳仔豬飼料中。結果顯示，柞蠶抗菌胜肽可減輕離乳仔豬的腹瀉。他們又將抗菌胜肽的發酵製劑添加於飼料餵飼粵黃鴨，發現該製劑可促進小鴨生長

和減少排泄物氮含量。

許多抗菌胜肽的熱穩定性強，可以耐受飼料生產時的高溫。例如，Kuwata *et al.* (2001) 研究指出，抗菌胜肽“Lfcin”的免疫原性小、水溶性好、具有殺細菌、真菌和原蟲等功效，並且能耐受胃腸道中蛋白酶及胜肽酶的降解。抗菌胜肽有良好的熱穩定性，特別是在酸性條件下，加熱甚至是高溫高壓處理不會影響其抗菌活性。因此 Lfcin 不僅能夠耐受飼料加工過程中高溫高壓條件，並可以在飼料保存過程中保持飼料品質，延長貯存期限 (林承德等人，2007)。

#### ◆ 轉殖基因表現抗病原菌能力

以層析法分離、化學純化或重組合成來生產抗菌胜肽應用於畜牧業的成本較高，技術上亦有所限制。因此，有利用重組基因表達抗菌胜肽的研究。例如，Kerr *et al.* (2001) 在小鼠乳腺細胞表現溶葡萄球菌酶(lysostaphin)基因以抑制感染金黃色葡萄球菌造成的乳腺炎。另外，Fan *et al.* (2002)將此基因導入山羊乳腺和 Donovan *et al.* (2005)等人將之應用於乳牛上也確定能表現。其他相關研究如將“牛乳鐵蛋白”和“牛氣管抗菌胜肽”在乳牛乳腺細胞成功表現(Zhang *et al.*, 2007)，並使所泌乳汁具有抵抗不同病原菌的能力 (Keymanesh *et al.*, 2009)。

#### 結論

許多學者正積極研究用抗菌胜肽取代抗生素在畜產上的使用，以解決抗藥性問題；也期望透過抗菌胜肽增進畜產動物免疫力的效果，降低動物受感染的機率，這不但能降低養殖成本，且能提供消費者更安全健康的畜產品。

人工合成抗菌胜肽的成本太高，不符合經濟效益；必須透過一些基因工程改造，才能在微生物表現載體中大量生產。但是微生物（原核細胞）不像真核細胞具有轉錄後修飾的能力，可能會造成所生產的抗菌胜肽喪失活性。如何讓微生物表現載體所生產的出抗菌胜肽依然保有抗菌、增進免疫的活性？例如只表現具有活性的胜肽小片段，或是尋找不需轉錄後修飾的活性抗菌胜肽等，都需更進一步的研究探討。

其實從另一個角度來看，若能將天然富含抗菌胜肽的產物直接加工添加於畜禽飼料，就省去生產抗菌胜肽的麻煩。例如，乳鐵蛋白可從乳汁中萃取，其為醣蛋白具有抗菌作用、調節免疫功能和強化轉錄活性功能(Wang *et al.*, 2006)。

另外，對於蛆(maggot)相關的研究正逐漸增加，除了具有高蛋白營養之外，蠅蛆具有許多抗菌胜肽。例如，從絲光綠蠅(*Lucilia sericata*)幼蟲純化的“lucifensin”，具有 40 個胺基酸殘基和 3 個分子內二硫鍵，具有很強的抗菌特性，能有效抵抗金黃色葡萄球菌、化膿性鏈球菌鏈、肺炎球鏈菌等格蘭氏陽性菌 (Cerovsky *et al.*, 2010; Andersen *et al.*, 2011)。抗菌胜肽是待開發的寶藏，期望更多研發團隊的投入。

## 參考文獻

1. 林承德，彭鴻娟，王衍海，2007，抗菌肽的應用及存在的問題。熱帶醫學雜誌 7(1): 86-90.
2. 黃現青，高曉平，趙改名，李苗雲，柳艷霞，張秋會，孫靈霞，袁勇軍，2010，抗菌肽抑菌機制研究進展。生物學雜誌 27(2): 62-66.
3. 溫劉發，何丹林，張常明，翁照南，黃自然，畢英佐，2001，抗菌肽酵母製劑的生產及其作飼料添加劑應用價值的探討。廣東蠶業 35(2):34-36
4. Andersen A. S., D. Sandvang, K. M. Schnorr, T. Kruse, S. Neve, B. Joergensen, T. Karlsmark and K. A. Krogh, 2010, A novel approach to the antimicrobial activity of maggot debridement therapy. *J Antimicrob Chemother* 65:1646-1654.
5. Boman, H. G. and D. Hultmark, 1987, Cell-free immunity in insects. *Annu. Rev. Microbiol.* 41:103–126.
6. Cerovsky V., J. Zdarek, V. Fucik, L. Monincova, Z. Voburka and R. Bem, 2010, Lucifensin, the long-sought antimicrobial factor of medicinal maggots of the blowfly *Lucilia sericata*. *Cell Mol Life Sci* 67:455–66.
7. Donovan, D. M., D. E. Kerr and R. J. Wall, 2005, Engineering disease resistant cattle. *Transgenic Res* 14:563–567.
8. Fan, W., K. Plaut, A. J. Bramley, J. W. Barlow and D. E. Kerr, 2002, Adenoviral-mediated transfer of a lysostaphin gene into the goat mammary gland. *J Dairy Sci* 85:1709–1716.
9. Kerr, D. E., K. Plaut, A. J. Bramley, C. M. Williamson, A. J. Lax, K. Moore, K. D. Wells, R. J. Wall, 2001, Lysostaphin expression in mammary glands confers protection against staphylococcal infection in transgenic mice. *Nat Biotechnol* 19:66–70.
10. Keymanesh, K., S. Soltani and S. Sardari, 2009, Application of antimicrobial peptides in agriculture and food industry. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 25: 933-944.
11. Kuwata, H., K. Yamauchi, S. Teraguchi, Y. Ushida, Y. Shimokawa, T. Toida and H. Hayasawa, 2001, Functional fragments of ingested lactoferrin are resistant to proteolytic degradation in the gastrointestinal tract of adult rats. *J. Nutr.* 131: 2121–2127
12. Reddy, K. V. R., R. D. Yedery and C. Aranha, 2004, Antimicrobial peptides: premises and promises. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 24:536–547.
13. Wang, G., X. Li, and Z. Wang, 2009, APD2: the updated antimicrobial peptide database and its application in peptide design. *Nucleic Acids Research*, 37: D933-D937. [APD 網站: <http://aps.unmc.edu/AP/main.php> ]
14. Wang, Y., T. Shan, Z. Xu, J. Liu, and J. Feng, 2006. Effect of lactoferrin on the growth

performance, intestinal morphology, and expression of PR-39 and protegrin-1 genes in weaned piglets. *J. Anim. Sci.* 2006. 84:2636–2641.

15. **Zhang, J. X., S. F. Zhang, T. D. Wang, X. J. Guo, R. L. Hu, 2007,** Mammary gland expression of antibacterial peptide genes to inhibit bacterial pathogens causing mastitis. *J Dairy Sci* 90:5218–5225.
16. **Zasloff, M., 2002,** Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature*, 415: 389-395.

AMIA