

抗微生物肽(AMPs)對乳房炎的防控應用成效

陳崑、張緒民

前言

抗微生物肽又稱抗菌胜肽(antimicrobial peptides, 縮寫為 AMPs), 胜肽(peptide)是長度較短的胺基酸鏈之通稱, 一般由數十個胺基酸組成, 大於 50 個胺基酸者則通常稱為蛋白質。AMPs 最早是在 1960 年代被發現, 科學家從實驗中發現動植物被細菌入侵時, 會分泌胜肽物質攻擊細菌, 使其迅速死亡, 因此便將此類胜肽命名為抗菌胜肽; 後來發現, 免疫系統中的顆粒性免疫細胞(如嗜中性白血球)為對抗細菌時所釋放的殺菌物質(細胞激素)也是抗菌胜肽的其中一類, 利用胜肽結構殺菌的機制普遍出現在哺乳類, 魚類, 昆蟲及無脊椎動物, 可以說, AMPs 是動物體內產生, 用以調節體內外微生物最常用、最天然的方式。

AMPs 作用機制

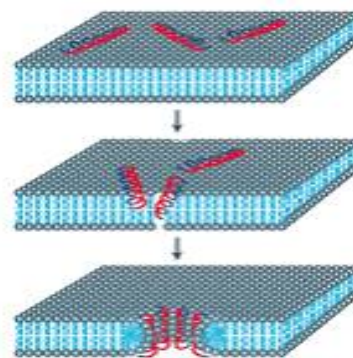
大部份的 AMPs 帶正電, 同時具有親水性和疏水性, 這些特性正是 AMPs 擊殺細菌的重要作用機制:

一、辨識細菌、附著細胞膜

正電荷可以使 AMPs 快速偵測出細菌的入侵, 因為大部份的細菌細胞膜都帶負電, 利用正負電相吸原理, 細菌很快就會被 AMPs 圍攻。

二、細胞膜打洞

細菌的細胞膜主要是由脂質分子(lipid)排列成雙層結構, 脂質分子有疏水的碳氫鏈和親水的磷酸根, 向外的一面是親水端。AMPs 也有疏水端和親水端, 當它靠近細菌時, 因為疏水、親水作用力的關係, AMPs 的疏水端會把細菌脂質分子的親水端推開, 與細胞膜上疏水的碳氫鏈接在一起, 因此會平貼在細胞膜面, 進一步把膜上的脂質分子推開, 讓兩邊的疏水端接在一起。脂質分子被推開後, 疏水的碳氫鏈會彎曲填補多出的空間, 最後整個膜面因此變薄, 同時表面也被延展開來。當越來越多 AMPs 吸附在細胞膜表面, 使細胞膜面積被延展到一定極限, 就會出現破洞。



圖一、AMPs 作用示意圖(引自 Brogden, 2005)

三、滲透壓失衡，胞液流出，完成殺菌

破洞產生後，散佈在細胞膜上的 AMPs 會聚集到洞口，並垂直插入破洞，把洞口固定住，使細胞膜無法收縮。接著細胞內外的物質從洞口自由進出，細胞因此失衡，最後導致死亡。

AMPs 作用特性

AMPs 作為一種抗菌物質，與其他類型的抗菌物相比，有以下特性：

一、抗菌性廣泛

AMPs 使用極性結構產生破洞的原理，因此無論是陰性菌還是陽性菌，都是可抗菌的範圍，AMPs 的種類繁多，以市售 AMPs(肽清爽 11 peptide，德樂寶企業有限公司)而言，目前已測得的對 18 種有害的致病菌皆有顯著效果(表一)，並且不受傳統抗生素的抗藥性突變株影響殺菌效用。

二、對動物體親和力高

由 AMPs 的起源可知，AMPs 是動物體調節體內外微生物所使用的天然機制，因此在各類殺菌物質中，AMPs 對於動物體的親和力最高，當前 AMPs 已被廣泛使用於親近肌膚的母嬰抗菌產品、化妝品、保養品，足以可見對於動物體是刺激性低、是相

對安全的選擇，但 AMPs 的種類繁多，目前科學界已發表的有效結構已有上千種，其中也不乏高刺激性、會造成動物細胞變形、紅血球溶血的動物細胞高敏感結構，因此在選擇使用上仍須特別注意，應選擇使用有完善安全性測試的種類。

三、可能較不易產生抗藥性

AMPs 的殺菌機制是透過極性結構打動穿孔的方式，一般認為較不易產生抗藥性。

四、降解速度快

由氨基酸構成的 AMPs 會受到多種酵素、蛋白酶影響而分解，此類特性造成此結構若要達到長效使用，應做額外包覆技術，防止被破壞而失去效用，但容易降解的特性對於要避免殺菌物質殘留的農畜產品而言，會是一種更安全的選擇。

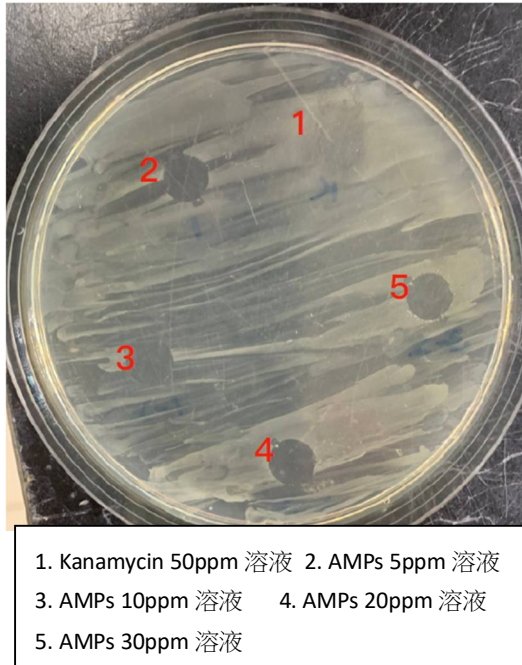
五、分子量較大，應注意其擴散性

AMPs 大多在 6-40 個氨基酸大小，分子量多介於 1000-6000Da，而傳統抗生素的分子量多介於 400~600Da 之間，相較之下 AMPs 重量較重，對於擴散性是較不利的，但擴散性牽涉其他藥物動力學之研究，例如親水性及親油性也會影響作用地點的擴散效果，因此分子量大小僅是選擇上的一項考量指標。

表一、10ppm 濃度的 AMPs 作用 10 分鐘的殺菌效率

菌種	殺菌率	菌種	殺菌率
腸炎弧菌 (<i>V. parahaemolyticus</i>)	> 99.99 %	腐生葡萄球菌 (<i>S. saprophyticus</i>)	99.42%
大腸桿菌 (<i>E. coli</i>)	> 99.99 %	克雷伯氏肺炎菌 (<i>K. pneumoniae</i>)	99.17%
幽門螺旋桿菌 (<i>H. pylori</i>)	> 99.99 %	青黴素抗藥性 AB 菌 (Carbapenem-resistant <i>A. baumannii</i>)	99.16%
綠膿桿菌 (<i>P. aeruginosa</i>)	> 99.99 %	腸道沙門氏菌 (<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i>)	98.94%
白色念珠菌 (<i>C. albicans</i>)	99.99%	多重抗藥性綠膿桿菌 (Multidrug-resistant <i>P. aeruginosa</i>)	98.93%
粘杆菌素&青黴素抗藥性克雷伯氏肺炎菌 (Colistin & Carbapenem-resistant <i>K. pneumoniae</i>)	99.78%	金黃色葡萄球菌 (<i>S. aureus</i>)	98.74%
青黴素抗藥性綠膿桿菌 (Carbapenem-resistant <i>P. aeruginosa</i>)	96.80%	痤瘡丙酸桿菌 (<i>C. acnes</i>)	87.50%
AB 菌 (<i>A. baumannii</i>)	91.56%	牙齦紫質單孢菌 (<i>P. gingivalis</i>)	79.03%
表皮葡萄球菌 (<i>S. epidermidis</i>)	76.66%	黑色麴菌 (<i>A. niger</i>)	76.25%

圖二、以紙錠浸泡不同溶液貼上大腸桿菌培養基



如圖二所示，AMPs 與 kanamycin 在大腸桿菌上的作用差異在於：

1. AMPs 的作用並不會像 kanamycin 會向外延伸出較大範圍的抑菌圈，AMPs 的殺菌範圍僅限接觸到的面積內，可推測作用在相同容積下，AMPs 的影響範圍較傳統抗生素可能較小，因此在每劑用量上，AMPs 每劑量應設計比抗生素多。
2. 在不同濃度下可見 AMPs 較 kanamycin 的殺菌效力更強，因此在設計上可與現行抗生素相似濃度作為測試使用的指標。

六、極性帶電結構容易受作用環境影響效力

以肽清爽 11 peptide 為例，該結構是屬於親水性極強的胜肽種類，因此在水性環境下可均勻擴散並正常發揮效用，而在油性環境中，則會發現胜肽因較不親油，導致胜肽聚集而凝固沈澱，無法發揮正常效用。

AMPs 與乳房炎

目前乳牛乳房炎以使用抗生素軟膏作為主流的應對方式，而常出現幾種問題：1. 抗藥性產生導致用藥無效。2. 停藥期導致產乳無法出售，造成損失。3. 用藥後有誤擠入儲乳槽的可能，導致整槽無法出售的大量損失。將 AMPs 的作用原理對應至目前乳房炎的現狀，AMPs 的作用會產生以下特性：

一、無藥物殘留

以肽清爽 11 peptide 研究發現，該結構接觸到牛奶後便會失去其抗菌活性，這是由於牛乳中大量蛋白質與之結合，使其喪失活性。因此特性，證明在乳房中使用此 AMPs，並不會造成牛乳中抗菌物質殘留。另一方面，肽清爽 11 peptide 接觸到牛奶則大量失活的特性，因此在使用前需將乳房中殘餘奶搾乾，搾乾的完成度直接影響 AMPs 的作用，若是殘餘大量牛奶，使用 AMPs 幾近是無效果的。

二、減少藥物依賴性及抗藥性產生

因 AMPs 與傳統抗生素的作用原理不同，並且作用機制也不相衝突，而每項不同的抗菌物質都有敏感與不敏感的對應菌種，因此 AMPs 也可以作為傳統抗生素治療的輔助劑，減少用藥比例與降低抗藥性產生的機率。

三、刺激性小，保持最長的乳房使用年限

以肽清爽 11 peptide 進行動物體刺激性測試（表二），使用濃度至 2000ppm 以上時，可觀察到顯著的細胞存活率降低，從而得知一般使用濃度在 10~100ppm 的肽清爽 11 peptide 對於動物細胞安全係數是極高的，在對乳腺細胞溫和的機制下實現殺滅病原菌的作用。

四、對應乳房炎的成效

乳房炎的成因包含細菌感染、真菌感染、藻類感染、環境緊迫等各項成因，而 AMPs 僅是作用於微生物類感染的類別，且各酪農場對於產品使用的操作方式各有迥異（例如使用前殘乳榨乾的程度不同，將影響

表二、ToughSoft 11 peptide 濃度對動物細胞存活測試

Concentration (ppm)	Absorbance (570nm)	Survival rate (%)
0.0	0.0842±0.0105	100.0
1500.0	0.0801±0.0174	95.1
1695.0	0.0778±0.0319	92.4
2000.0	0.0610±0.0019	72.4
2542.5	0.0339±0.0022	40.2
3390.0	0.0217±0.0085	25.7

AMPs 的作用)，在成效判定上若以使用 AMPs 的牛隻數量做為統計基數，則會因為不同牧場乳房炎常發因素不同而不夠客觀，且乳房炎發生原因與治療成效，往往是酪農場主的主觀推斷，因此在判定牧場實際使用 AMPs 對乳房炎的有效性上有相當難度。

結論

AMPs 的應用及研究有助於發展非抗生素類的抗病機制，特別是針對目前對抗生素產生抗藥性的細菌，應用在養殖漁業及畜產等產業，可避免抗生素的殘留問題。目前看 AMPs 使用於乳牛乳房炎的問題上是利大於弊，是值得深入研究的課題且對於產業提升的前景看好。

參考文獻

- KA Brogden (2005):Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? Nat. Rev. Microbiol. 3, 238-250
- Park, Y. (2005). Antimicrobial Peptides (AMPs): Peptide Structure and Mode of Action. J Biochem Mol Biol., 38(5), 507-16. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16202228/>
- lei, J. (2019). The Antimicrobial Peptides and Their Potential Clinical Applications. Am J Transl Res., 11(7), 3919-3931. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31396309/>