

镓在抗菌方面的研究进展

吕毅华¹ 李昕¹ 刘周² 李家斌^{2,3,4,*} 王岱¹ 薛云新¹ 赵西林^{1,*}

(1 分子疫苗学和分子诊断学国家重点实验室, 厦门大学公共卫生学院, 厦门 361102; 2 安徽医科大学第一附属医院感染病科, 合肥 230022; 3 安徽省细菌耐药性监测中心, 合肥 230022; 4 安徽医科大学附属巢湖医院感染病科, 巢湖 238000)

摘要: 抗生素发现“黄金时代”的结束以及日趋严重的抗生素耐药性问题给我们留下一个戏剧性的、缺乏新型药物来防治耐药病原体感染的难题。这使得从现有非抗生素药物中筛查抗菌活性药物成为一种新尝试。近期研究表明: 美国食品药品监督管理局(FDA)批准的、本来用于治疗高血钙的药物硝酸镓具有良好的抗菌活性。不同于其他抗生素, 镓的药理性质依靠化学拟态, 它可以在目标酶分子中取代铁, 从而干扰、扰乱细菌含铁蛋白的功能及细菌代谢, 无论是在体外实验还是在体内实验中, 镓对多种病原体, 包括多重耐药病原体都表现出杀菌活性。因此一些含镓制剂有望被开发成有潜力的非传统抗菌药物, 帮助治疗多重耐药细菌感染。

关键词: 镓; 抗菌; 多重耐药病原菌

中图分类号: R9, Q939.92 文献标志码: A

DOI:10.13461/j.cnki.cja.006220

Antimicrobial activity of gallium

Lü Yi-hua¹, Li Xin¹, Liu Zhou², Li Jia-bin^{2,3,4}, Wang Dai¹, Xue Yun-xin¹ and Zhao Xi-lin¹

(1 State Key Laboratory of Molecular Vaccinology and Molecular Diagnostics, Xiamen University, Xiamen 361102; 2 Department of Infectious Diseases, First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022; 3 Aihui Bacterial Drug Resistance Surveillance Center, Hefei 230022; 4 Department of Infectious Diseases, Chaohu Hospital Affiliated to Anhui Medical University, Chaohu 238000)

Abstract The end of the "golden age" of antibiotic discovery along with the growing antibiotic resistance left us a dramatic shortage of new drugs to prevent and cure drug-resistant pathogens. This makes it a new alternative approach to screen antibacterial activity from existing non-antimicrobial drugs. Recent studies show that gallium nitrate, a compound approved for treatment of hypercalcemia by US FDA, has potent antibacterial activities. Unlike classical antibiotics, the pharmacological property of gallium lies on its chemical mimicry, which can cause malfunction and disruption of enzymes using iron as a co-factor, and thus interfere with bacterial metabolism. Gallium has shown bactericidal activity against many pathogens, including multidrug-resistant ones, both *in vitro* and *in vivo*. Some gallium-containing regimens are expected to be developed as non-traditional and potentially effective anti-infective agents that help combat multidrug-resistant bacterial infections.

Key words Gallium; Antibacterial; Multidrug-resistant pathogens

收稿日期: 2018-01-02

基金项目: 国家自然科学基金(No.81673242、No.81473251、No.31741006、No.31370166和No.81301474); 福建省自然科学基金(No.2014J01139和No.2015J01345); 厦门大学校长基金(No.20720160060)

作者简介: 吕毅华, 男, 生于1991年, 在读硕士研究生, 研究方向为病原微生物学, E-mail: lvyihua666@163.com

*通讯作者, 李家斌, E-mail: lijiaabin948@vip.sohu.com; 赵西林, E-mail: zhaox5@xmu.edu.cn

抗生素是在低浓度下就能选择性地抑制某些生物生命活动的微生物次级代谢产物,及其化学半合成或全合成的衍生物。抗生素自问世以来,为人类的医疗事业做出了巨大贡献。1928年, Fleming首次发现了能杀死细菌的青霉素,在之后几十年又相继发现了多种类型的抗生素,开启了抗生素时代的新纪元。但是由于早期人们对抗生素的不合理使用乃至滥用,使得细菌的耐药性不断增强,甚至出现了超级细菌,随着多黏菌素抗药性出现,抗多重耐药细菌“最后一道防线”——多黏菌素岌岌可危。再加上新抗生素开发越来越困难,近20年来几乎没有发现新型抗生素,致使人类可能面临耐药菌感染无药可治的难题,因此研发新型抗菌药品迫在眉睫。

由于开发传统抗生素越来越困难,近年来人们开始大量尝试变通方法。其中最具潜能的方法之一是老药新用:在已经批准的非抗感染药品中寻求抗感染活性。硝酸镓是美国食品药品监督管理局(FDA)批准的用于治疗肿瘤病人高血钙的处方药。近期研究结果表明:硝酸镓(gallium nitrate)及多种其他镓(gallium, Ga)盐都对多种病原体表现出了良好抗菌活性,对多种动物感染模型也有很好的疗效,某些镓制剂如氯化镓(gallium chloride)、麦芽酚镓(gallium maltolate),已经发展到提高抗代谢物的活性来减轻毒性的影响,原卟啉镓(gallium protoporphyrin IX)已经处于临床前研究^[1-2],但是镓的作用机制和分子靶点仍未明确。目前正在进行的基础研究已经获取了镓与细菌铁代谢相互作用的重要信息,增大了镓化合物作为某些细菌感染治疗药物的潜力。明确镓杀菌的分子机制,寻找镓作用的靶标,有望推动镓作为一种新型抗菌制剂的进程,为有效治疗抗生素耐药菌引起的感染提供一条全新途径。

1 抗菌类镓制剂的发展

镓作为一种诊断和化疗药物有着悠久的历史。镓化合物最早应用于临床是在19世纪60年代末,研究发现注射到移植肿瘤动物体内的放射性柠檬酸镓(⁶⁷Gallium citrate, ⁶⁷Ga)会集中在肿瘤快速生长的部位^[3]。之后的研究在人体内也证实了这些发现,⁶⁷Ga可以作为肿瘤定位物和亲肿瘤扫描剂^[4]。在多种恶性肿瘤中评估发现⁶⁷Ga对淋巴瘤最具诊断价值,可以用来判断肿块在治疗之后是否存活^[5]。⁶⁷Ga可以被肿瘤吸收,其他的非放射性镓化合物也能聚集到肿瘤生长部位并且抑制肿瘤的生长。例如临床前研究发现,将硝酸镓注射到皮

下植入肿瘤的Sprague-Dawley大鼠和CDFI小鼠体内,也可以抑制肿瘤的生长^[6]。其他的研究也证实了硝酸镓在非霍奇金淋巴瘤和膀胱癌中的抗肿瘤活性^[7-8]。

关于镓抗微生物作用的研究首次发表于1931年,该研究表明酒石酸镓(gallium tartrate)能够根除家兔试验性梅毒,治愈被伊氏锥虫(*Trypanosoma evansi*)感染的小鼠^[9],同时报道了镓在相对高剂量下的有效性和毒性。镓的潜在治疗用途研究开始于20世纪70年代, Emery在1971年发现Ga³⁺能与真菌嗜铁素铁色素(siderophore ferrichrome)结合并被输送到体内^[10]。随后发现其他微生物的铁载体(siderophores)(低分子量Fe³⁺转运体),包括铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)铁载体和去铁胺(deferoxamine),也可以结合Ga³⁺。上述研究结果表明,镓可能可以作为抗菌剂,但到2000年前均未取得明显进展。

如表1所示,自20世纪90年代末以来,关于镓制剂抗菌性能的研究不断拓展,研究结果表明不同镓类化合物,包括硝酸镓,麦芽酚镓,去铁胺镓(gallium deferoxamine),原卟啉镓都具有抗菌活性,原卟啉镓更是对许多革兰阴性菌和革兰阳性菌都有较好的抑制效果。绝大多数医院内感染为细菌所致,其中大部分为革兰阴性菌,如大肠埃希菌(*Escherichia coli*)、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)、肺炎克雷伯菌(*Klebsiella Pneumoniae*);少部分为革兰阳性菌,如金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)等。其中铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、鲍曼不动杆菌多为多重耐药菌,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*)更是被称为超级细菌。目前对多重耐药菌通常采用联合用药处理,但是某些多重耐药菌联合用药效果欠佳,而镓类化合物对这些从临床分离出来的多重耐药菌株有较好的抑制效果。

镓不仅在体外有较好抑菌效果,在体内的抑菌效果也很好。如表2所示,许多动物感染模型的体内实验结果表明镓能够治愈细菌感染,具有作为抗菌药物的潜力。Olakanmi^[21]的研究表明硝酸镓通过扰乱结核分枝杆菌的铁代谢发挥抗菌活性,进一步的研究表明,硝酸镓在小鼠肺结核模型中可以抑制结核分枝杆菌的生长。Harrington^[13]发现,在小鼠感染模型中,口服麦芽酚镓可以治愈由马红球菌引起的

表1 镓类化合物对不同病原体的体外抑制浓度
Tab. 1 Inhibitory concentration of gallium compounds *in vitro*

镓化合物	病原体	抑制浓度	参考文献
硝酸镓	铜绿假单胞菌	MIC=2mg/mL	[11]
	金黄色葡萄球菌	MIC>32mg/mL	[12]
	鲍曼不动杆菌	MIC>32mg/mL	[12]
	马红球菌(<i>Rhodococcus equi</i>)	MBC=50μmol/L	[13]
麦芽酚镓	马红球菌	MIC=0.6mg/mL	[14]
	金黄色葡萄球菌	MIC: 75~2000mg/mL	[15]
	表皮葡萄球菌	MIC: 94~200mg/mL	[15]
去铁胺镓	奇异变形菌(<i>Proteus mirabilis</i>)	IC ₉₀ =1280mmol/L	[16]
	铜绿假单胞菌	MIC=3 mmol/L	[17]
	金黄色葡萄球菌	IC ₉₀ : 320~5120mmol/L	[16]
原卟啉镓	大肠埃希菌	MIC: <0.5mg/mL	[18]
	耻垢分枝杆菌(<i>Mycobacterium smegmatis</i>)	MIC=0.4mg/mL	[18]
	结肠炎耶尔森菌(<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>)	MIC=0.4mg/mL	[18]
	金黄色葡萄球菌	MIC: 1~2.5mg/mL	[18]
	结核分枝杆菌(<i>Mycobacterium tuberculosis</i>)	MIC=0.4mg/mL	[18]
	肺炎克雷伯菌	MIC=2mg/mL	[18]
	鲍曼不动杆菌	MIC=20mg/mL	[19]
	铜绿假单胞菌	MIC>50mg/mL	[20]
	耐甲氧西林金黄色葡萄球菌	MIC=50mg/mL	[20]

注: MIC: 最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration); MBC: 最低杀菌浓度(minimum bactericidal concentration); IC₉₀: 被测试剂抑制90%细菌生长的浓度(compound concentrations that inhibit growth by 90%)。

表2 镓在体内抗菌活性
Tab. 2 *In vivo* antibacterial activity of gallium

镓类化合物	动物模型	病原菌	剂量	用药方式	参考文献
硝酸镓	小鼠肺结核模型	结核分枝杆菌	10mg/kg	注射	[21]
	小鼠肺炎感染模型	铜绿假单胞菌	50μL 250mmol/L	注射	[11]
去铁胺镓	兔角膜划伤模型	铜绿假单胞菌	3.5mmol/L	外用	[17]
麦芽酚镓	小鼠烧伤感染模型	铜绿假单胞菌	25mg/kg	注射	[22]
		金黄色葡萄球菌	100mg/kg	注射	[22]
		鲍曼不动杆菌	100mg/kg	注射	[22]
柠檬酸镓	小鼠感染模型	马红球菌	10~50mg/kg	口服	[13]
原卟啉镓	小鼠伤口感染模型	肺炎克雷伯菌	0.1%~0.3%wt/vol	外用	[23]
	A549人肺泡上皮细胞单层培养	鲍曼不动杆菌	20mg/mL或40mg/mL	外用	[19]
	大蜡螟幼虫模型	鲍曼不动杆菌	20mg/mL或40mg/mL	注射	[19]
	人工创伤模型	金黄色葡萄球菌	500mg/mL	外用	[20]
		耐甲氧西林金黄色葡萄球菌	500mg/mL	外用	[20]
	铜绿假单胞菌	500mg/mL	外用	[20]	

小鼠感染。Kaneko^[11]研究表明镓对铜绿假单胞菌的生长有抑制作用,可以抑制生物膜的形成,杀死浮游细菌和形成生物膜的细菌,而且对小鼠肺炎感染模型有效。在Banin^[17]所做的研究中发现,去铁胺镓联合庆大霉素对铜绿假单胞菌感染后的模型有明显作用。Deleon^[22]发现因感染铜绿假单胞菌而接受皮下注射麦芽酚镓治疗的烧伤小鼠,麦芽酚镓可以显

著降低伤口内的热损伤,减少金黄色葡萄球菌、鲍曼不动杆菌的定植,使全部动物免于全身感染和死亡。其他研究表明,将柠檬酸镓应用于局部感染肺炎克雷伯菌的皮肤伤口,可以减少细菌感染和细菌生物膜的形成^[23]。原卟啉镓均对大蜡螟幼虫模型和A549人肺泡上皮细胞的鲍曼不动杆菌感染有效^[19]。在人工创伤模型中均可清除金黄色葡萄球菌、耐甲

氧西林金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌^[20]。

2 镓的抑菌杀菌机制

镓的药理性质与核半径、配位化学和电离势有关。 Ga^{3+} 的八面体离子半径为 0.620\AA ，而高自旋 Fe^{3+} 为 0.645\AA 。此外，对于 Ga^{3+} 和 Fe^{3+} ，四面体离子半径分别为 0.47\AA 和 0.49\AA 。 Ga^{3+} 的电离势和电子亲和力分别为 64eV 和 30.71eV ，而对于高自旋 Fe^{3+} ，它们分别为 54.8eV 和 30.65eV 。这些特征使镓和铁有相似性，生物系统可能无法分辨镓和铁。外源性镓在进入胞内后可以取代蛋白结构中的铁。铁转运蛋白，如转铁蛋白(transferrin)和乳铁蛋白(lactoferrin)，能够与镓结合并输送到细胞^[24-25]。在pH为7.4和 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 情况下， Ga^{3+} 的溶解度约为 1mmol/L ($98.4\%[\text{Ga}(\text{OH})_4]^-$, $1.6\% \text{Ga}(\text{OH})_3$)，而 Fe^{3+} 溶解度只有 10^{-18}mol ，因此生理条件下，在少量非蛋白结合的 Ga^{3+} 存在的溶液中，仅有极少量的非蛋白结合的 Fe^{3+} ，允许镓替代铁进行生物学相互作用，但是不可能完全替代 Fe^{3+} 。铁对于大多数微生物的新陈代谢和生长是至关重要的。病原微生物入侵宿主后，必须从宿主中获得游离的铁离子才能满足正常的生长。许多动物物种，包括人类，利用铁的可用性作为宿主防御的手段。在宿主体内，三价铁主要与铁转运蛋白结合，或以铁蛋白(ferrin)的形式储存在细胞内，或结合在血红素(heme)分子，游离 Fe^{3+} ($<10^{-18}\text{mol/L}$)可以忽略不计^[26]，从而限制了自身 Fe^{3+} 进入病原菌。在治疗上，利用病原微生物的铁依赖性抑制了多种细菌性疾病^[27]。镓正是利用细菌对铁的依赖性发挥抗菌作用，细胞内的镓通过代替铁进入必要的蛋白质和酶而扰乱铁代谢。 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} 是许多细胞代谢的关键步骤，因为许多蛋白质需要 Fe^{3+} 作为关键辅助因子。与铁不同，镓在生理条件下不能还原，因此不能参与氧化还原反应，最终抑制细菌的基本功能，抑制细菌生长甚至导致细菌死亡。

在迄今为止研究的任何细菌中，镓的抗菌活性都可以被过量的铁所抵消。许多含铁酶参与细菌的关键功能，如DNA合成和修复、蛋白合成、呼吸和氧化应激反应^[28]。在DNA合成的关键酶—RDR酶(ribonucleoside diphosphate reductase)中，就存在镓与铁的竞争^[29]。研究证实，镓是从结核分枝杆菌中纯化出来的RDR酶的有效抑制剂^[12]。镓参与多种代谢途径，包括 Fe^{3+} 依赖和独立的酶，可能对细菌细胞引起多种有害影响。快速增长的细胞，如癌细胞和

细菌，对铁的需求最高，同时代谢也最旺盛，因而镓诱导的代谢对这些细胞杀伤能力最强^[30]。镓是潜在的有效杀菌剂，由于大多数微生物都需要铁来存活，作为一种铁类似物，镓有可能作为广谱抗感染药物发挥作用。但是镓的抗菌活性是依赖于对细菌铁代谢的一般干扰还是对特定的酶或者是细胞通路的抑制，仍然是一个悬而未决的问题。

不管作用机制如何，镓要想发挥其功能，就必须进入细菌以达到其分子靶点，因此首先应该探究镓如何进入细菌内。然而镓被细菌内化的方式还不清楚，需要在分子水平上做进一步研究来阐明镓进入细菌的途径。镓在微生物生理学和生物系统中没有已知的作用，生物无法区分铁和镓，已有研究表明镓可以和铁载体结合^[16]，因此最合理的假设是，镓利用铁转运系统穿过细菌的细胞膜，而不是通过专门的运输系统。另外由于胞内游离铁浓度较低，细菌难以生存，它们已经进化出精致的铁获取和吸收机制，即从宿主环境获得原本被隔离的铁^[26]。细菌通过3种主要机制来摄取铁，分别是基于铁载体的铁转运系统、基于血红素的铁转运系统和基于转铁蛋白与乳铁蛋白受体的铁转运系统。大多数微生物都有冗余的铁转运系统，所以一个成功的镓类抗菌药物开发策略将取决于铁转运系统目标的选择和合理的分子设计。目前在抗菌方面研究的镓制剂都由镓和配体构成，配体一方面通过与镓形成配合物阻止氢氧化镓不溶物的形成，提高镓的生物利用度；另一方面通过不同的铁转运系统增大细菌对镓的吸收。简单的镓盐，如硝酸镓、麦芽酚镓，简单的镓铁载体复合物，如柠檬酸镓，都表现出良好的抗菌活性。目前研究人员正在利用致病性细菌和真菌产生的铁载体和血红素的结构特征合成新的镓配合物，靶向目标病原体。比如，柠檬酸镓被发现对许多细菌物种，包括大肠埃希菌具有抑制作用，但其对大肠埃希菌的抑制效果并不好，探究其原因可能是柠檬酸介导铁转运系统摄取镓的能力不足。而原卟啉镓对大肠埃希菌的MIC小于 0.5mg/mL ^[18]，表明在大肠埃希菌中原卟啉介导的基于血红素的铁转运系统能更好的吸收镓。而缺乏血红素参与铁转运系统的革兰阴性菌，如鼠伤寒沙门菌(*Salmonella typhimurium*)，则对原卟啉镓有耐药性^[18]。

在分子水平上，还需要进一步的研究来阐明镓抑制细菌生长和导致细菌死亡的机制。一个有效获

取镓作用机制的方法是筛选出镓耐受的变异体,寻找突变位点,然后通过组学技术和功能鉴定进行分析。研究人员利用转座子诱变和自发突变筛选出对硝酸镓耐药的铜绿假单胞菌,通过连续传代获得一株MIC增加12倍的自发突变的铜绿假单胞菌。基因组测序揭示64个突变位点,这些突变位点的基因大部分涉及代谢、膜运输、细胞分裂、DNA重组修复、信号转导、铁载体和吩嗪的合成^[31]。该研究发现了一些参与镓适应和抵抗的细胞过程,表明镓在细菌细胞中可能具有多个作用靶点,但是仍未明确其基因调控的分子机制。

Rzhepishevskaja^[16]发现镓对铜绿假单胞菌的抗菌活性受碳源的影响,表明一些代谢途径可能需要更多的铁,从而对镓更敏感;接触镓导致铜绿假单胞菌的主要代谢物谷氨酸和许多氨基酸的浓度较低,表明镓影响各种生物合成途径;在镓存在情况下,蛋白表达谱的改变提示了一些代偿机制在细菌中被激活。此外,铜绿假单胞菌荧光分析结果表明,适应在高浓度镓(1mmol/L)环境下生存的细菌显示出增强的活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)和活性氧解毒酶的过表达^[30],这提示镓的毒性不仅是由于铁代谢紊乱,也可能是由于氧化应激。然而,还需要进一步的研究来明确具体是哪些基因和代谢通路在镓引起的细菌死亡中发挥了突出作用,正如许多传统的杀菌性抗生素都有自己的靶点^[32],找到镓作用的靶点对其分子机制的阐明具有重要意义。

3 镓类抗菌药物的优缺点

正如表1~2所示,丰富的体外和体内的数据表明,镓制剂对许多革兰阴性菌和革兰阳性菌都有较好的抗菌活性,对多重耐药菌株也有较好的杀菌效果。这些镓类化合物对许多革兰阴性菌的MIC较小,有较强的生物活性,抗药性低,在体内的有较好疗效。例如,铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌持续感染对目前可用的抗生素耐药性极强,而这两种细菌对镓都非常敏感。镓涂层生物材料和缓释制剂近年来被开发出来,为防止或者抑制医疗植入物上细菌生长和生物膜的形成提供了新的手段^[33]。

与大多数在细菌中有单一靶点的抗生素不同,镓是一种典型的多靶点药物,它会干扰铁代谢,损害多种铁依赖性的功能,而铁元素是细菌必需的,靶突变、药物修饰或替代代谢途径等耐药机制均不可能使细菌克服镓的抑制作用。相反,通过膜转运

蛋白突变降低渗透性、主动外排,理论上可能成为镓耐药的机制;然而,镓与铁的相似性可能意味着耐药细菌需要付出巨大的适度性代价,因为降低镓摄入的同时也会降低铁的摄入,故预期细菌不易对镓产生耐药性。

另一个使镓成为有潜力的抗菌药物的原因是其在炎症部位聚集的能力^[34]。多种因素导致镓在炎症病变中的积累和滞留,其中大部分是由于损伤组织的非特异性反应所致。发生急性炎症时,高浓度的转铁蛋白和乳铁蛋白出现在炎症部位^[35],镓在体内可以和转铁蛋白与乳铁蛋白结合,而中性粒细胞蛋白酶和低pH值可以促进镓从转铁蛋白和乳铁蛋白解离下来,从而导致在感染组织中存在高浓度游离镓。由于镓从转铁蛋白释放的pH值(约6.5)比铁释放时的pH(约5.5)大,细菌内环境的pH使镓优先于铁的释放,使镓与铁相比更有竞争力^[12]。

镓具有成为临床应用的抗菌剂的潜力,但是值得注意的是,镓会抑制巨噬细胞和T细胞免疫活性^[36-37],长期使用可能削弱宿主的免疫反应。同时也应该考虑患者的铁状况,因为病理性铁过载,如地中海贫血,将降低镓的杀菌效果。另外,镓的生物利用度是另一个主要问题,据观察,口服镓盐吸收差主要是由于胃肠道中不溶性镓氢氧化物的形成^[38]。镓离子很容易水解,水解几乎完全,在较宽的pH范围内,形成各种羟基化的化合物,伴随着氢离子的释放,导致pH值降低,如果pH值升高,产生高度不溶物 $\text{Ga}(\text{OH})_3$ 沉淀。在pH为7.4和温度为25℃时,会发生 $\text{Ga}(\text{OH})_3$ 沉淀,基本上没有游离金属,但是这是细菌病原体生长的最佳pH值。镓发挥作用时对外部条件要求很高,培养基成分、pH、铁含量都会影响药敏实验结果。在不同生长条件下评价镓对不同病原体的抑制活性,结果往往差异很大,阻碍了研究之间的可比性,究其原因不同培养基中的铁含量差异很大,一般来说,培养基中铁含量越低,镓活性越高。另外,还有一个比较明显的问题,镓对好氧菌的杀菌效果更好,而对兼性厌氧菌如化脓性链球菌(*Streptococcus pyogenes*)和粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)^[18]的效果则没有那么理想,这也暗示了活性氧可能参与镓的抗菌活性。

4 展望

镓是否以及何时可以用作抗菌剂,临床试验还未提供确凿的证据。原卟啉镓对多种革兰阳性菌和

革兰阴性致病菌包括分枝杆菌等都有较好的体外生长抑制活性,对恶性疟原虫也有抑制活性,且其复合物的抗菌活性比原卟啉或镓强一百倍^[18]。原卟啉镓主要是通过血红素铁转运系统进入细菌,已有研究表明,其杀菌活性的产生可能是由原卟啉镓分子与细胞色素或苯二酚氧化酶结合,破坏了电子传递链,导致ROS的生成所致^[39]。该化合物对人原代成纤维细胞没有毒性,也未表现出急性毒性作用^[1],是目前最有望成为抗生素的镓类化合物。体外和动物感染的研究表明,镓具有作为抗菌药物最后防线的潜在用途,可以通过与具有协同作用的抗生素联合使用来加强其体内活性,将治疗潜力扩大,治疗其他抗生素无法治愈的细菌感染。最后,镓涂层生物材料、镓铁载体、镓缓释制剂等也是未来镓类化合物作为药物使用的一个有意义的研究方向。

致谢:感谢厦门大学分子疫苗学和分子诊断学国家重点实验室提供的研究平台,感谢厦门大学公共卫生学院病原微生物与抗感染治疗课题组和安徽医科大学第一附属医院感染病科的老师 and 同学在文献撰写方面提供的宝贵意见和帮助。

参考文献

- [1] Gielen M, Tiekink E R T. Metallotherapeutic drugs and metal-based diagnostic agents: The use of metals in medicine[M]. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd, 2005: 259-277.
- [2] Chitambar C R. Medical applications and toxicities of gallium compounds[J]. *Int J Env Res Pub Heal*, 2010, 7(5): 2337-2361.
- [3] Edwards C L, Hayes R L. "Tumor scanning with ⁶⁷Ga citrate"[J]. *J Nucl Med*, 1969, 10: 103-105.
- [4] Hoffer P. Status of gallium-67 in tumor detection[J]. *J Nucl Med*, 1980, 21(4): 394-398.
- [5] Front D, Israel O. The role of Ga-67 scintigraphy in evaluating the results of therapy of lymphoma patients[C]. *Semin Nucl Med*, 1995, 25(1): 60-71.
- [6] Hart M M, Smith C F, Yancey S T, et al. Toxicity and antitumor activity of gallium nitrate and periodically related metal salts²[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1971, 47(5): 1121-1128.
- [7] Chitambar C R. Gallium nitrate for the treatment of non-Hodgkin's lymphoma[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2004, 13(5): 531-541.
- [8] Straus D J. Gallium nitrate in the treatment of lymphom[J]. *Semin Oncol*, 2003, 30(5): 25-33.
- [9] Levaditi C, Bardet J, Tchakirian A, et al. Le gallium, propriétés thérapeutiques dans la syphilis et les trypanosomiasis expérimentales[J]. *CR Hebd Seances Acad Sci Ser D Sci Nat*, 1931, 192: 1142-1143.
- [10] Emery T. Role of ferrichrome as a ferric ionophore in *Ustilago sphaerogena*[J]. *Biochemistry*, 1971, 10(8): 1483-1488.
- [11] Kaneko Y, Thoendel M, Olakanmi O, et al. The transition metal gallium disrupts *Pseudomonas aeruginosa* iron metabolism and has antimicrobial and antibiofilm activity[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(4): 877-888.
- [12] Olakanmi O, Britigan B E, Schlesinger L S. Gallium disrupts iron metabolism of mycobacteria residing within human macrophages[J]. *Infect Immun*, 2000, 68(10): 5619-5627.
- [13] Harrington J R, Martens R J, Cohen N D, et al. Antimicrobial activity of gallium against virulent *Rhodococcus equii* in vitro and in vivo[J]. *J Vet Pharmacol Ther*, 2006, 29(2): 121-127.
- [14] Coleman M, Kuskie K, Liu M, et al. In vitro antimicrobial activity of gallium maltolate against virulent *Rhodococcus equi*[J]. *Vet Microbiol*, 2010, 146(1-2): 175-178.
- [15] Baldoni D, Steinhuber A, Zimmerli W, et al. In vitro activity of gallium maltolate against staphylococci in logarithmic, stationary, and biofilm growth phases: comparison of conventional and calorimetric susceptibility testing methods[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54(1): 157-163.
- [16] Rzhepishevskaya O, Ekstrand-Hammarström B, Popp M, et al. The antibacterial activity of Ga³⁺ is influenced by ligand complexation as well as the bacterial carbon source[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55(12): 5568-5580.
- [17] Banin E, Lozinski A, Brady K M, et al. The potential of desferrioxamine-gallium as an anti-*Pseudomonas* therapeutic agent[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(43): 16761-16766.
- [18] Stojiljkovic I, Kumar V, Srinivasan N. Non-iron metalloporphyrins: potent antibacterial compounds that exploit haem/Hb uptake systems of pathogenic bacteria[J]. *Mol Microbiol*, 1999, 31(2): 429-442.
- [19] Arivett B A, Fiester S E, Ohneck E J, et al. Antimicrobial activity of gallium protoporphyrin IX against *Acinetobacter baumannii* strains displaying different antibiotic resistance phenotypes[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59(12): 7657-7665.
- [20] Richter K, Thomas N, Claeys J, et al. A topical hydrogel with deferiprone and gallium-protoporphyrin targets bacterial iron metabolism and has antibiofilm activity[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61(6): AAC.00481-17.
- [21] Olakanmi O, Kesavalu B, Pasula R, et al. Gallium nitrate is efficacious in murine models of tuberculosis and inhibits key bacterial Fe-dependent enzymes[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57(12): 6074-6080.
- [22] DeLeon K, Balldin F, Watters C, et al. Gallium maltolate treatment eradicates *Pseudomonas aeruginosa* infection in thermally injured mice[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(4): 1331-1337.

- [23] Thompson M G, TruongLe V, Alamneh Y A, *et al.* Evaluation of gallium citrate formulations against a multidrug-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae* in a murine wound model of infection[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59(10): 6484-6493.
- [24] Hoffer P B, Huberty J, Khayambashi H. The association of Ga-67 and lactoferrin[J]. *J Nucl Med*, 1977, 18(7):713-717.
- [25] Vallabhajosula S R, Harwig J F, Siemsen J K, *et al.* Radiogallium localization in tumors: blood binding and transport and the role of transferrin[J]. *J Nucl Med*, 1980, 21(7): 650-656.
- [26] Skaar E P. The battle for iron between bacterial pathogens and their vertebrate hosts[J]. *PLoS Pathog*, 2010, 6(8): e1000949.
- [27] Byrd T F, Horwitz M A. Regulation of transferrin receptor expression and ferritin content in human mononuclear phagocytes. Coordinate upregulation by iron transferrin and downregulation by interferon gamma[J]. *J Clin Invest*, 1993, 91(3): 969-976.
- [28] Litwin C M, Calderwood S. Role of iron in regulation of virulence genes[J]. *Clin Microbiol Rev*, 1993, 6(2): 137-149.
- [29] Reichard P. From RNA to DNA, why so many ribonucleotide reductases[J]. *Science*, 1993, 260(5115): 1773-1777.
- [30] Al-Aoukaty A, Appanna V D, Falter H. Gallium toxicity and adaptation in *Pseudomonas fluorescens*[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 1992, 92(3): 265-272.
- [31] Garciacontreras R, Lirasilva E, Jassochávez R, *et al.* Isolation and characterization of gallium resistant *Pseudomonas aeruginosa* mutants[J]. *Int J Med Microbiol*, 2013, 303(8): 574-582.
- [32] Kohanski M A, Dwyer D J, Hayete B, *et al.* A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics[J]. *Cell*, 2007, 130(5): 797-810.
- [33] Valappil S P, Ready D, Neel E A A, *et al.* Antimicrobial gallium-doped phosphate-based glasses[J]. *Adv Funct Mater*, 2010, 18(5): 732-741.
- [34] Lavender J P, Lowe J, Barker J R, *et al.* Gallium 67 citrate scanning in neoplastic and inflammatory lesions[J]. *Br J Radiol*, 2014, 44(521): 361-366.
- [35] Tsan M F. Studies on gallium accumulation in inflammatory lesions: III. roles of polymorphonuclear leukocytes and bacterial[J]. *J Nucl Med*, 1978, 19(5): 492-495.
- [36] Huang E H, Gabler D M, Krecic M E, *et al.* Differential effects of gallium nitrate on tlymphocyte and endothelial cell activation[J]. *Transplantation*, 1994, 58(11): 1216-1222.
- [37] Drobyski W R, Ul-Haq R, Majewski D, *et al.* Modulation of *in vitro* and *in vivo* T-cell responses by transferrin-gallium and gallium nitrate[J]. *Blood*, 1996, 88(8): 3056-3064.
- [38] Chitambar C R. Medical applications and toxicities of gallium compounds[J]. *Inter J Env Res Pub Heal*, 2010, 7(5): 2337-2361.
- [39] Stojiljkovic I, Evavold B D, Kumar V. Antimicrobial properties of porphyrins[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2001, 10(2): 309-320.