



向盈盈, 博士, 主任医师, 硕士研究生导师, 教授。入选 2025 年度云南省“兴滇英才支持计划”“医疗卫生人才专项”, 云南省高层次卫生健康技术人才医学学科带头人, 昆明市春城计划青年拔尖人才, 昆明市卫生科技人才培养百工程带头人, 担任中华口腔医学会全科口腔医学专委会青年委员, 中华口腔医学会口腔修复学专委会青年委员, 云南省口腔医学会生物医学专委会副主任委员, 云南省口腔医学会修复专委会常务委员, 云南女医师协会口腔分会常务委员、秘书。长期从事 3D 数字化精准口腔种植技术、CAD/CAM 制作全瓷冠、嵌体及各类牙体缺损、牙列缺损、牙列缺失等疑难复杂病例临床诊疗工作及噬菌体疗法在口腔临床医学中的应用研究。主持国家自然科学基金 1 项, 省级项目 3 项, 获云南省科技进步奖三等奖 1 项, 云南省卫生科技成果奖三等奖 4 项, 获授权发明专利 6 项、实用新型专利 24 项。建立向盈盈专家工作站 2 个, 开展新技术 8 项。以第一作者及通讯作者发表学术论文 27 篇, 其中 SCI 论文 12 篇, 代表性成果发表于 Canadian Journal of Microbiology、Dyes and Pigments、Journal of Aoac International 等期刊, 在组织工程 TOP 期刊 Applied Microbiology and Biotechnology 发表高水平论文 1 篇, 在 Microbial Pathogenesis 期刊发表系列文章 3 篇。

噬菌体内溶素的应用及其作用机制研究进展

韩泽华¹⁾, 杨小燕²⁾, 李 莲³⁾, 陈昱良¹⁾, 杨 爱¹⁾, 李雪林¹⁾, 向盈盈¹⁾

(1) 昆明医科大学附属延安医院口腔科; 2) 皮肤科, 云南 昆明 650031;

3) 云南省机关事务管理局第一卫生所口腔科, 云南 昆明 650100)

[摘要] 细菌耐药性的持续蔓延已成为全球公共卫生领域的重大挑战。噬菌体衍生的内溶素因其独特的抗菌机制, 逐渐成为替代传统抗生素的新型抗菌物质。内溶素是噬菌体编码的肽聚糖水解酶, 通过裂解细菌细胞壁发挥杀菌作用, 具有宿主特异性强、不易耐药、菌群干扰小及多靶点协同等优势。内溶素在人类医学、兽医学及食品工业等领域中对多种耐药菌表现出强效裂解活性。内溶素与传统抗生素联合应用可产生协同效应, 显著降低抗生素的最低抑菌浓度, 并提高感染模型的生存率。对内溶素作为新型抗菌剂的应用及作用机制进展进行综述, 以期后续将噬菌体内溶素应用于细菌耐药性感染的研究提供参考。

[关键词] 内溶素; 噬菌体; 噬菌体疗法; 细菌耐药性

[中图分类号] R37 [文献标志码] A [文章编号] 2095-610X(2026)06-0001-10

Application and Mechanism of Endolysins in Bacteriophages

HAN Zehua¹⁾, YANG Xiaoyan²⁾, LI Lian³⁾, CHEN Yuliang¹⁾,

YANG Ai¹⁾, LI Xuelin¹⁾, XIANG Yingying¹⁾

(1) Department of Stomatology; 2) Department of Dermatology, Yan'an Hospital Affiliated to Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650031; 3) Department of Stomatology, No.1 Health Center, Yunnan Provincial Bureau of Institutional Affairs Management, Kunming Yunnan 650100, China)

[Abstract] The continued spread of bacterial antibiotic resistance has become a major challenge in global

[收稿日期] 2026-03-17

[基金项目] 国家自然科学基金(82360189); 云南省科技厅基础研究专项基金(202301AT070483); 云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项基金(202301AY070001-105); 云南省高层次卫生健康技术人才培养专项基金(D2024005)

[作者简介] 韩泽华(1999~), 男, 白族, 云南大理人, 在读硕士研究生, 主要从事口腔临床工作。

[通信作者] 向盈盈, E-mail: 25591394@qq.com

public health. Endolysins derived from bacteriophages, with their unique antimicrobial mechanisms, are gradually emerging as novel antibacterial agents to replace conventional antibiotics. Endolysins are peptidoglycan hydrolases encoded by bacteriophages that exert bactericidal effects by lysing bacterial cell walls, with advantages such as strong host specificity, low propensity for resistance development, minimal disruption to the microbiota, and synergistic multi-target mechanisms. Endolysins have demonstrated potent lytic activity against various antibiotic-resistant bacteria in human medicine, veterinary medicine, and the food industry. When combined with conventional antibiotics, endolysins can produce synergistic effects, significantly reducing the minimum inhibitory concentration of antibiotics and improving survival rates in infection models. This review summarizes the application and mechanisms of action of endolysins as novel antimicrobial agents, with the aim of providing reference for future research on the application of bacteriophage endolysins in treating bacterial antibiotic-resistant infections.

[**Key words**] Endolysin; Bacteriophage; Phage therapy; Bacterial resistance

半个多世纪以来, 抗生素一直是人类对抗细菌感染的核心药物, 为全球公共卫生作出了巨大贡献。然而, 随着抗生素的过度使用与滥用, 耐药菌株不断出现, 已逐渐演变为全球性健康危机。目前, 临床分离株中已普遍出现多重耐药、广泛耐药乃至泛耐药菌株^[1-2], 严重削弱了现有抗生素的治疗效果。耐药性的传播不仅依赖于遗传物质在菌种内部的垂直传递, 还可通过水平基因转移在不同菌种和菌属之间迅速扩散, 进一步加剧了耐药问题的复杂性和广泛性^[3-5]。由此引发的难治性感染, 不仅导致临床治疗失败风险增加, 也大幅增加了畜牧业、食品工业及农业生产中的经济负担。面对日益严峻的“后抗生素时代”, 开发新型抗感染策略已成为医学研究的紧迫任务。

1 细菌耐药性危机与应对策略

细菌耐药性危机的形成主要可归因于以下三个关键因素: (1) 抗生素的滥用: 流行病学研究已证实, 抗生素的滥用与耐药菌株的出现及传播之间存在直接关联^[5-6]; (2) 不当的处方行为: 在临床实践中不合理使用抗生素(缺乏明确适应症、药物选择不当或用药疗程不适宜)均可能促进耐药菌株的增殖^[7-8]; (3) 抗生素在农业领域的广泛使用: 施用于牲畜的抗生素中, 高达 90% 的抗生素以原形或代谢物形式通过粪便和尿液排出体外后在环境中广泛扩散^[5, 7], 进而增加环境敏感菌群的耐药性。

近二十年来, 随着多重耐药菌的流行率持续上升, 利用噬菌体^[9-10]及其衍生的内溶素(Endolysin)对抗“超级细菌”的研究重新成为热点^[11-12]。在噬菌体裂解周期的末期, 内溶素通过特异性降解宿主菌细胞壁中的肽聚糖(peptidoglycan, PG), 导致细菌发生渗透性裂解,

最终引起细菌死亡并释放子代噬菌体^[13]。尽管内溶素天然存在于噬菌体中, 克隆其基因并进行重组表达看似步骤繁琐, 但与抗生素和噬菌体相比, 内溶素在杀菌特异性、作用方式及杀菌速度等方面仍展现出多项独特优势, 成为极具潜力的抗菌候选分子, 见表 1。

2 内溶素结构与功能

肽聚糖是构成细菌细胞壁刚性的网状聚合物, 由聚糖骨架与肽桥交联而成, 其水解将导致细胞壁完整性破坏, 细菌因渗透压失衡而裂解。内溶素是由噬菌体在裂解周期末期编码的一类肽聚糖水解酶, 负责降解宿主菌细胞壁以完成裂解释放过程。内溶素结构特征与所感染的宿主类型密切相关: 作用于革兰氏阳性菌及分枝杆菌的噬菌体内溶素多呈现典型的模块化结构^[25], 而靶向革兰氏阴性菌的内溶素则通常为简单的球状结构。

模块化内溶素主要由两个核心结构域构成, 即催化结构域(enzymatic active domain, EAD)和细胞壁结合结构域(cell wall-binding domain, CBD)。EAD 通常位于蛋白质的 N 端(氨基端), 负责识别并水解肽聚糖中的特定化学键; CBD 则位于 C 端(羧基端), 特异性识别并结合细菌细胞壁上的靶标组分。EAD 与 CBD 之间通过一段柔性氨基酸序列相连, 称为“铰链区”, 该结构赋予分子整体构象的灵活性, 确保催化域能够有效定位至底物^[26]。CBD 通过识别细胞壁中特定组分, 使 EAD 能够精准作用于底物, 从而显著提升裂解效率^[27]。

尽管“EAD-铰链-CBD”是内溶素的经典模块化结构, 见图 1A, 自然界中仍存在丰富的结构变异。例如, 部分内溶素含有两个及以上不同的 CBD, 见图 1B, 可同时识别并结合多种细胞壁成

表 1 抗生素、噬菌体和内溶素抗菌特性对比

Tab. 1 Comparison of antibacterial properties of antibiotics, bacteriophages, and endolysins

特性维度	抗生素	噬菌体	内溶素	参考文献
杀菌特异性	广谱/窄谱, 易扰乱微生态	种/株特异性极强, 精准靶向致病病菌	相对广谱的溶菌活性, 可作用于多种口腔革兰氏阳性/阴性菌	[14–15]
增殖特性	非增殖, 浓度依赖	在宿主菌内自我增殖, 理论上单次给药可放大效应	非增殖, 作用剂量可精确控制	[16–17]
作用方式	干扰细菌关键代谢(如细胞壁合成、蛋白合成)	劫持宿主菌代谢系统, 破坏多个核心生物学过程	胞外酶解作用, 靶向水解肽聚糖中特定化学键	[15, 18]
杀菌速度	起效较慢, 需数小时至数天	依赖感染周期, 裂解释放耗时长	快速裂解, 接触后数秒至数分钟内即发挥杀菌效应	[19–20]
胞内活性	部分可穿透宿主细胞膜, 治疗胞内菌感染	无法穿透真核细胞膜, 对胞内菌无效	天然活性有限, 但经融合细胞穿透肽等改造后可增强胞内递送	[20–21, 65]
耐药性风险	广泛存在且日益严重	细菌可通过受体突变等机制产生抗噬菌体性	至今未见临床耐药报道, 可有效应对多重耐药菌株	[22–23]
抗生物被膜能力	渗透受限, 对成熟生物膜效果差	渗透能力有限, 难以清除生物膜深层细菌	可穿透生物膜基质, 直接裂解其中细菌, 破坏生物膜结构	[15, 37]
免疫原性	多数无免疫原性	可被机体免疫系统识别并产生中和抗体	免疫原性较低, 抗体中和作用较弱	[24, 59, 64]
药代动力学	体内过程明确, 浓度-效应关系清晰	体内行为复杂, 临床证据有限	可定量测定感染部位及血药浓度	[22–23, 60]

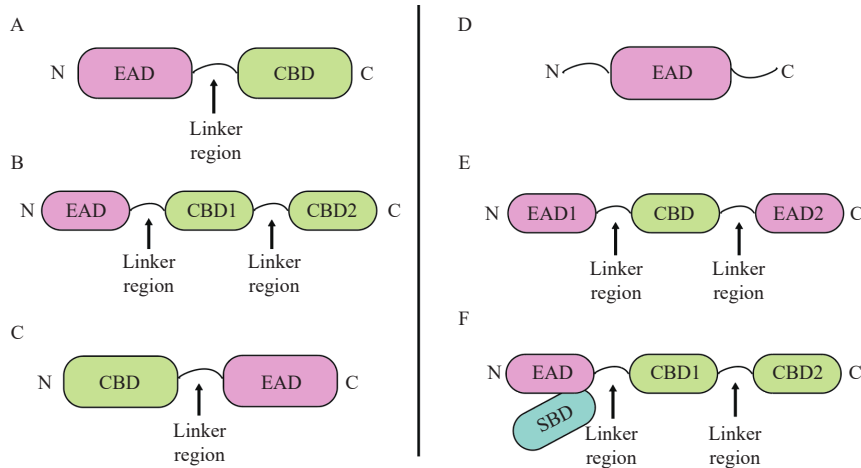


图 1 噬菌体内溶素的模块化结构及其多样性

Fig. 1 Modular structure of phage endolysins and their diversity

A: 具有一个 N 端 EAD 和一个 C 端 CBD 的模型; B: 具有一个 N 端 EAD 和两个 C 端 CBD 的多域模型; C: 具有一个 C 端 EAD 和一个 N 端 CBD 的模型; D: 无 CBD 的 EAD 简单球形模型; E: CBD 位于两个 EAD 之间的多域模型; F: 除一个 N 端 EAD 和两个 C 端 CBD 外, 还含有一个孢子结合结构域 SBD。

分, 从而增强结合亲和力与宿主特异性^[28]。另一些内溶素则呈现结构域倒置, 即 CBD 位于 N 端而 EAD 位于 C 端, 见图 1C, 甚至可出现双 CBD 或双 EAD 的排布^[29]。作用于革兰氏阴性菌的内溶素大多仅由单一的 EAD 球形模块构成, 见图 1D, 缺乏独立的 CBD^[29]。此外, 某些内溶素还演化出特殊的功能结构域: 如葡萄球菌内溶素 λ SA2 呈中央 CBD 与两侧 EAD 的对称结构^[30], 见图 1E; 蜡样芽孢杆菌内溶素 LysPBC2 除 EAD

和 CBD 外, 还含有一个孢子结合结构域(spore binding domain, SBD), 见图 1F, 可特异性识别芽孢^[31]。根据水解化学键的类型, 内溶素主要分为三类: (1)糖苷酶(Glycosidases): 水解聚糖骨架中 N-乙酰胞壁酸(MurNAc)与 N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc)之间的 β -1, 4 糖苷键^[32–33]; (2)酰胺酶(Amidases): 水解 N-乙酰胞壁酸乳酸基与肽侧链首位 L-丙氨酸之间的酰胺键^[32]; (3)内肽酶(Endopeptidases): 水解肽桥或肽侧链内部的肽键^[33]; 见图 2。

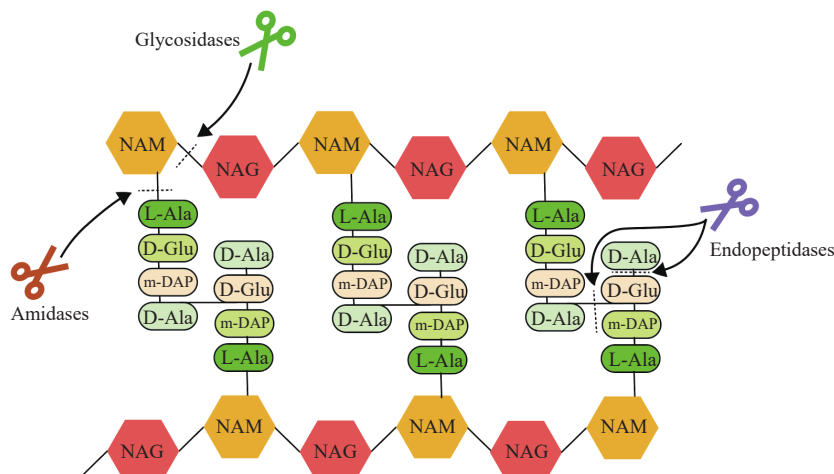


图 2 细菌细胞壁肽聚糖结构及内容素作用位点示意图

Fig. 2 Bacterial cell wall peptidoglycan structure and endotoxin action sites

注：糖苷酶(Glycosidases)：水解 MurNAc-GlcNAc 间的 β -1, 4 键；酰胺酶(Amidases)：水解 MurNAc 乳酸基与 L-Ala 间的酰胺键；内肽酶(Endopeptidases)：水解肽桥或肽侧链内部肽键。

3 内容素的溶菌机制

噬菌体通过特异性吸附于宿主细菌表面，将其遗传物质注入菌体内，利用宿主细胞完成子代噬菌体的组装与复制。在裂解周期的末期，噬菌体编码的三类关键蛋白协同作用以裂解宿主细胞，包括内容素、穿孔素(Holin)和斯潘素(Spanin)，它们分别靶向细菌的肽聚糖层、内膜及外膜，最终导致细胞裂解^[34]。内容素通过一系列的反应来发挥作用：CBD 识别细胞壁中特定组分，EAD 精准作用于底物，其中 EAD(主要为糖苷酶、酰胺酶、内肽酶)又根据其水解化学键的类型不同分别作用于细菌肽聚糖层中的不同位点，见图 2。内容素发挥溶菌功能通常需要穿越细菌内膜到达肽聚糖层。针对革兰氏阳性菌，由于革兰氏阳性菌细胞壁天然暴露于外部环境(无外膜结构)，外源性应用的内容素可直接通过其 CBD 结合到细胞壁，进而由 EAD 水解肽聚糖，实现细菌的快速裂解，内容素的作用机制使其在抗革兰氏阳性菌感染方面具有天然优势^[35]；针对革兰氏阴性菌，由于革兰氏阴性菌具有外膜保护，肽聚糖层不直接暴露。为此，噬菌体进化出两条不同的裂解途径，见图 3：(1)经典的“Holin-Endolysin”机制：在裂解后期，穿孔素在细菌细胞质膜上组装形成非特异性跨膜通道，允许内容素穿越内膜进入周质空间，进而作用于肽聚糖层，水解特定化学键，破坏细胞壁结构的完整性^[36]，见图 3A；(2)“信号锚定释放”型内容素机制(SAR-Endolysin)：该机制不依赖 Holin，专见于感染革兰氏阴性菌的

噬菌体。在“Pinholin-SAR”机制中，微孔蛋白(Pinholin)首先介导膜去极化，激活以非活性形式锚定于内膜的 SAR-Endolysin，活化后的内容素释放至周质空间并降解肽聚糖，见图 3B；内容素水解肽聚糖后，以上两种裂解途径都需要 Spanin 复合物(由内膜蛋白 i-spanin 和外膜脂蛋白 o-spanin 组成)协助破坏外膜，Spanin 复合物将内膜与外膜拉近，促使内膜与外膜在局部高压下融合并形成裂口，最终导致细菌裂解^[37]。

4 内容素治疗的优势

4.1 内容素的耐药性

内容素的核心优势在于其对靶标细菌具有高度的种属特异性，能够精准识别并裂解特定致病菌，而对人类或动物细胞无显著毒性作用。与广谱抗生素相比，内容素不易诱发耐药性，且其作用机制决定其具备更高的靶向选择性，这一特性在当前多重耐药菌广泛流行的背景下尤为重要，因其可有效避免对机体正常菌群造成非特异性杀伤，从而减轻对有益微生物群的选择压力^[38-39]。

细菌对内容素产生耐药性的可能性较低，其主要原因可归纳为以下几点：(1)内容素的作用靶点为细菌细胞壁中的肽聚糖，该结构在进化上高度保守，突变频率低，难以通过单点突变获得耐药性；(2)噬菌体与宿主细菌之间存在长期共进化关系，这种动态博弈使得内容素能够持续适应宿主变化，进一步降低耐药性产生的概率；(3)内容素作用于细胞壁而不需进入细菌胞内，因此可有效规避传统抗生素常见的耐药机制，如药物外排

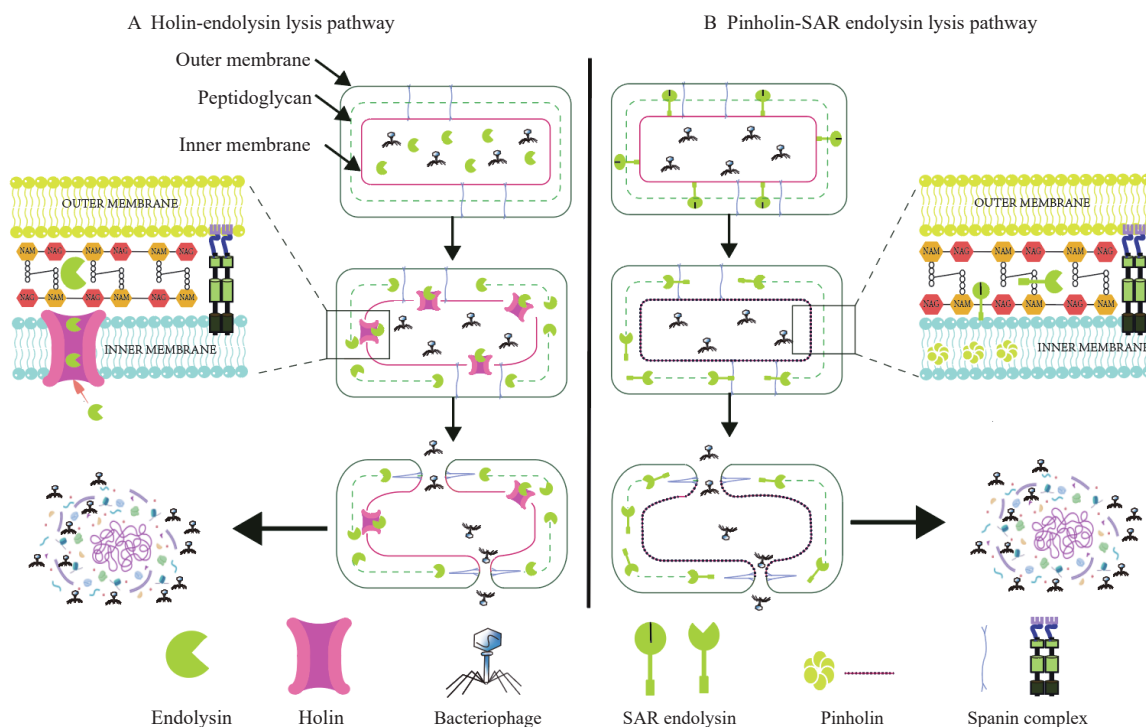


图3 噬菌体裂解革兰氏阴性菌的两条途径示意图

Fig. 3 Two pathways by which bacteriophages lyse Gram-negative bacteria

A: “Holin-Endolysin” 机制: 穿孔素在内膜形成大孔道, 内容素借此进入周质空间降解肽聚糖, 最终由斯潘素介导外膜破裂; B: “Pinholin-SAR endolysin” 机制: 微孔蛋白引发膜去极化, 使锚定于内膜的非活性内容素释放并活化, 降解肽聚糖后同样由斯潘素完成裂解。

泵的主动外排或膜通透性降低等; (4)多数内容素含有两个不同的催化结构域, 可同时水解肽聚糖中的多种化学键, 这种多靶点作用模式进一步限制细菌通过单一突变产生完全耐药的可能性^[40]。

4.2 内容素的免疫原性、毒性及安全性

内容素作为新型抗菌制剂, 其临床应用安全性是必须重点考量的问题。大量动物实验研究表明^[41-42], 内容素无论经局部还是全身给药, 均未对小鼠产生明显毒性反应。以抗金黄色葡萄球菌内容素候选药物 SAL200 为例, 在临床前安全性评估中, 静脉注射 SAL200 的犬和猴均未观察到任何不良反应或异常表现^[43-45]。进一步的人体临床试验亦对 SAL200 的安全性及耐受性进行了系统评估: 少数受试者报告的不良反应主要包括疲劳、僵硬、头痛及肌痛, 所报告的不良反应多为一过性、轻微且可自行缓解^[43]。

在另一项针对内容素 LysGH15 的动物研究中^[46], 大剂量注射该酶并未对小鼠主要器官造成明显病理损伤或功能异常。免疫学评估显示, LysGH15 未引起血清总 IgE 水平升高。IgE 作为介导速发型过敏反应的关键抗体, 其激活可诱导肥大细胞及嗜碱性粒细胞释放组胺等炎症介质, 是多数过敏反应的核心环节。组织学分析进一步证

实, 反复注射及大剂量输注 LysGH15 均未诱发小鼠主要器官的炎症浸润或肥大细胞活化, 提示该内容素引发过敏反应的风险较低。

SAL200、CF-301 等内容素候选药物在临床前及临床研究中均未报告严重过敏反应或不良事件^[47-48]。从生物学角度而言, 真核细胞本身不含肽聚糖结构, 因此内容素对哺乳动物细胞理论上具有良好的安全性^[49]。然而, 内容素应用过程中仍需关注细菌裂解所释放的促炎因子及细胞壁成分对机体潜在的免疫刺激风险^[50]。截至目前, 尚未报道由内容素引发的严重不良反应, 现有证据充分支持其作为新型抗菌药物的安全性。

5 内容素作为抗菌剂的应用进展

5.1 内容素在医学中的应用

5.1.1 内容素作为抗菌剂 在医学领域, 内容素已展现出作为新型抗菌制剂的巨大潜力。CF-301 作为代表性内容素之一, 对 250 株金黄色葡萄球菌 (包括 120 株耐甲氧西林金黄色葡萄球菌) 均表现出高效裂解活性^[51]。与万古霉素或达托霉素联用时, CF-301 在体外显示出协同杀菌效应, 并在葡萄球菌诱导的菌血症动物模型中显著提高生存率, 疗

效优于单用抗生素^[51]。此外,从新型金黄色葡萄球菌噬菌体 phi MR11 中克隆获得的内溶素 MV-L,经纯化后同样表现出强大的抗菌能力。MV-L 不仅可有效清除小鼠鼻腔内人工接种的 MRSA,其腹腔注射还可保护小鼠免受 MRSA 引起的致死性菌血症,且未观察到明显毒副作用^[52]。

针对万古霉素耐药肠球菌,单次给予内溶素 LysEF-P10(5 μ g)即可有效保护小鼠免受致死性 VREF 感染,且 LysEF-P10 特异性抗体的存在并未影响其杀菌活性与治疗效果。进一步研究表明,LysEF-P10 可显著减少肠道内肠球菌定植数量,并缓解由 VREF 引起的肠道微生态失衡^[53]。在肺炎链球菌血症模型中,静脉注射肺炎链球菌噬菌体来源的内溶素 Cpl-1(2000 μ g)可在 15 min 内将血液中肺炎链球菌滴度由中位数降至检测下限以下。于感染后 1 h 给药,治疗组 48 h 生存率达 100%,而缓冲液对照组仅为 20%;即使在晚期菌血症模型中,感染后 5 h 及 10 h 两次给药仍可显著延长生存期^[54]。

针对鲍曼不动杆菌,研究者从噬菌体 ϕ AB2 中分离并鉴定出一种新型内溶素 LysAB2。酶学检测显示,仅完整结构的 LysAB2 可有效裂解鲍曼不动杆菌的肽聚糖及金黄色葡萄球菌细胞壁;抗菌活性分析进一步证实,完整 LysAB2 保留了全面的杀菌能力。外源性应用时,LysAB2 对多种革兰氏阴性菌及革兰氏阳性菌均表现出广谱裂解活性^[55]。

5.1.2 内溶素与抗生素的协同作用 内溶素作为单一抗菌剂已在多种感染模型中证实其有效性,将内溶素与传统抗生素联合使用以实现协同抗感染效应正成为研究热点^[56-57]。在内溶素与抗生素协同作用的协同效应主要属于药效学协同:(1)外膜突破与靶点暴露:多黏菌素等抗生素可破坏革兰氏阴性菌外膜,内溶素得以穿越外膜到达肽聚糖层,从而发挥水解作用;(2)细胞壁降解增效:内溶素水解肽聚糖后,细菌结构完整性丧失,促进抗生素进入细菌胞内,显著降低其最低抑菌浓度;(3)生物膜瓦解:内溶素穿透生物膜基质、裂解深层细菌,同时分散胞外聚合物,使抗生素更易清除残余菌;(4)耐药性恢复:内溶素降解细胞壁后,使原本无法进入细胞的抗生素重新发挥抗菌作用;(5)多靶点互补:内溶素物理性裂解细胞壁与抗生素干扰代谢/合成的作用协同,且协同效果具有组合特异性^[58]。

内溶素与抗生素联合应用的抗菌活性显著优于单一药物治疗,该联合策略有望成为未来应对

耐药菌感染的重要候选方案。Daniel 等^[57]将 phiNM3 噬菌体内溶素的催化结构域与另一金黄色葡萄球菌内溶素的细胞壁结合结构域融合,构建了嵌合内溶素 ClyS,该酶对多种金黄色葡萄球菌菌株均表现出广谱裂解活性。在 MRSA 败血症模型中,ClyS 联合苯唑西林治疗可将小鼠存活率从对照组的 13% 显著提升至 80%~82%。Kim 等^[59]开展的系列研究也证实,内溶素 SAL200 与萘夫西林或万古霉素联用,不仅显著降低抗生素对金黄色葡萄球菌的 MIC 值,还可有效减少循环系统中的细菌载量;与单用 SAL200 或抗生素相比,联合治疗组小鼠脾脏及血液组织中的细菌密度均显著降低。针对多重耐药革兰氏阴性菌,Thumeepak 等^[60]评估了内溶素 LysABP-01 与粘菌素联合应用对鲍曼不动杆菌的抗菌效果。结果显示,联合用药组的抗菌活性显著优于单一治疗组,提示内溶素与抗生素在抗革兰氏阴性菌感染中同样具备协同潜力。

在内溶素与抗生素的联合应用中,协同作用并非普遍存在,而是高度依赖于特定条件;不当组合也可能带来拮抗风险^[61]。协同效果取决于抗生素种类(如多黏菌素类常呈协同,而某些 β -内酰胺类或氨基糖苷类仅相加或无关)、浓度阈值(低于临界浓度无法有效破坏外膜,内溶素难以抵达肽聚糖层)以及给药顺序(先抗生素后内溶素优于反向或同时)。拮抗风险包括:高浓度抗生素可能诱导细菌应激反应,改变细胞壁结构或电荷特性,阻碍内溶素结合;部分抗生素与内溶素靶向同一通路的多个环节,过度抑制可能导致非典型耐药或代谢紊乱^[62-64]。

5.2 内溶素在兽医行业的应用

内溶素在兽医领域展现出广阔的应用前景。源自产肠毒性产气荚膜梭菌 A 型菌株 SM101 的噬菌体 phiSM101 所编码的内溶素 Psm,对绝大多数产气荚膜梭菌菌株均表现出强效裂解活性^[65-66]。此外,研究人员探索了噬菌体裂解酶 PlyC 作为针对马链球菌的窄谱消毒剂的潜在应用。该酶对超过 20 株马链球菌临床分离株具有显著杀菌活性,包括马链球菌马亚种及马链球菌兽疫亚种。其中,PlyC 的单位重量活性约为常用消毒剂 Virkon-S 的 1000 倍,仅需 1 μ g 酶即可在 30 min 内将浓度为 10^8 CFU/mL 的马链球菌培养物完全杀灭^[67]。另一项研究中,内溶素 LySMP 对 17 株猪链球菌 2 型血清型中的 15 株具有裂解活性,同时对猪链球菌(7 型和 9 型)、马链球菌及金黄色葡萄球菌也表现出不同程度的杀菌作用^[68]。此外,从炭疽

杆菌 γ 噬菌体中分离获得的内溶素 PlyG, 可在体内及体外特异性杀灭炭疽杆菌分离株及炭疽芽孢杆菌“簇”中的其他成员, 其作用对象涵盖萌发中的芽孢^[69]。

5.3 内溶素在食品工业与生物技术领域的应用

内溶素在食品加工及生物技术领域同样展现出广阔的应用前景。源自致病性金黄色葡萄球菌噬菌体 SA11 的内溶素 LysSA11, 在冷藏温度(4℃)下处理15 min, 可使牛奶及火腿中污染的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌数量显著降低^[70]。另一项研究中, 内溶素 SPN1S 对多数受试革兰氏阴性菌株具有裂解活性, 而革兰氏阳性菌则对其表现出耐药性, 提示 SPN1S 具备作为革兰氏阴性菌靶向治疗剂的开发潜力^[71]。内溶素 LysCs4 可水解 4 个不同属共计 25 株革兰氏阴性菌的肽聚糖, 凸显其作为阪崎肠杆菌及其他革兰氏阴性食源性病原体生物防治新型候选分子的应用价值^[72]。来源于裂解性噬菌体 ATCC 8074-B1 的内溶素 CS74L, 由 ORF 22 编码; 在大肠杆菌中重组表达后, 外源性添加该蛋白可有效裂解芽孢杆菌的孢子细胞^[73]。此外, 内溶素 LysB4 表现出较广的抗菌谱, 在 EDTA 协同作用下, 不仅能裂解蜡样芽孢杆菌、枯萎杆菌及单核细胞增生李斯特菌等革兰氏阳性菌, 还可作用于部分革兰氏阴性菌株^[74]。

6 内溶素临床转化面临的挑战

内溶素针对耐药性细菌感染的治疗潜力已在多项研究中得到证实, 然而从实验室研究向临床应用转化过程中, 仍面临以下亟待解决的关键挑战: (1)稳定性与递送问题: 内溶素在临床转化过程中首先面临稳定性挑战, 尤其针对革兰氏阴性菌来源的内溶素, 其生产、储存及体内递送过程中的结构完整性亟待保障^[75]。口服给药虽为肠道靶向治疗的首选途径, 但对蛋白类药物构成显著障碍。经消化道转运时, 内溶素需耐受胃内强酸性环境、多种消化酶(如胰蛋白酶、胃蛋白酶)的水解作用及机械性消化, 极易发生降解或构象改变, 导致生物利用度下降^[76-77]; (2)生理条件下的失活: 环境因素如盐离子浓度及蛋白质相互作用可显著影响革兰氏阴性菌源内溶素的抗菌活性。Khan 等^[78]报道鲍曼不动杆菌内溶素 LysAB54 在血清中完全丧失抗菌能力, 推测其失活可能与离子交换中和活性所依赖的电荷特性有关, 该特性限制了其在烧伤创面或关节感染等局部感染中的应用^[79]; (3)热稳定性: 内溶素作为蛋白质制剂,

其活性对温度变化高度敏感, 这一特性不仅决定药物储存稳定性, 亦影响体内实际效能。多数内溶素在 30~40℃ 范围内表现最佳催化活性, 为其临床应用提供了基本温度条件^[75]; (4)储存稳定性: 从商业化开发角度, 理想的抗菌药物应能在冷藏(2~8℃)或室温条件下保持至少12个月的稳定性。然而, 目前关于革兰氏阴性菌源内溶素储存稳定性的系统数据有限, 现有信息多局限于1周至6个月的短期观察, 尚不足以支持其长期商业化应用^[75]。

7 小结

抗生素耐药菌株的持续涌现已成为临床抗感染治疗领域不可回避的重大挑战, 对患者预后及公共卫生安全构成严重威胁。寻找抗生素的有效替代策略成为医学研究的重点方向之一, 噬菌体及其衍生蛋白因其独特的抗菌机制及对耐药菌的显著疗效, 逐渐展现出作为新型生物制剂的巨大潜力。目前, 从噬菌体中分离获得的内溶素已在多项研究中证实对多重耐药菌、广泛耐药菌乃至全耐药菌均具有高效裂解活性。动物实验及人体研究结果表明, 内溶素在治疗复杂细菌感染方面展现出良好的应用前景, 为临床应对耐药菌感染提供了新的策略。

然而, 内溶素的临床转化仍面临诸多挑战, 包括其稳定性、体内递送效率、免疫原性及与宿主微环境的相互作用等问题, 限制了其单独或联合应用的最佳效果。为此, 持续开展深入的临床前及临床研究以阐明噬菌体及其内溶素与宿主细菌之间的精确互作机制, 将为开发更具靶向性和高效性的制剂奠定理论基础。随着合成生物学及蛋白质工程技术的不断发展, 工程化噬菌体、结构优化的嵌合内溶素及多组分噬菌体鸡尾酒疗法有望成为应对耐药菌感染的主流策略, 尤其是针对对最后防线抗生素已产生耐药性的难治性感染, 这些新型治疗手段将展现出巨大的临床价值。

[参考文献]

- [1] 周路路, 曹荷清, 欧维正, 等. 贵阳市 2018—2021 年 83 株临床分离非结核分枝杆菌的菌种分布及流行情况 [J]. 贵州医科大学学报, 2024, 49(10): 1464-1470.
- [2] 王佳妮, 周殿友, 武丽娟. 肠道菌群在类风湿关节炎研究中的应用进展 [J]. 河北医科大学学报, 2025, 46(2):

- 235–240.
- [3] Yang Y S, Wei W, Hu X X, et al. Evolution and antibacterial evaluation of 8-hydroxy-cycloberberine derivatives as a novel family of antibacterial agents against MRSA[J]. *Molecules*, 2019, 24(5): 984.
 - [4] Fair R J, Tor Y. Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century[J]. *Perspect Medicin Chem*, 2014, 6: 25–64.
 - [5] Bartlett J G, Gilbert D N, Spellberg B. Seven ways to preserve the miracle of antibiotics[J]. *Clin Infect Dis*, 2013, 56(10): 1445–1450.
 - [6] 《Nature》编辑部. The antibiotic alarm[J]. *Nature*, 2013, 495(7440): 141.
 - [7] Solomon S L, Oliver K B. Antibiotic resistance threats in the United States: Stepping back from the brink[J]. *Am Fam Physician*, 2014, 89(12): 938–941.
 - [8] Luyt C E, Br é chot N, Trouillet J L, et al. Antibiotic stewardship in the intensive care unit[J]. *Crit Care*, 2014, 18(5): 480.
 - [9] 彭秀玲, 邵瑞瑞, 田艳, 等. 肺炎克雷伯菌裂解性噬菌体 KP-ZS5 的分离及鉴定 [J]. *贵州医科大学学报*, 2023, 48(3): 259–265.
 - [10] 韩泽华, 杨小燕, 陈昱良, 等. 噬菌体在龋病防治中的研究进展 [J]. *昆明医科大学学报*, 2026, 47(1): 140–147.
 - [11] Sulakvelidze A, Alavidze Z, Morris J G Jr. Bacteriophage therapy[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, 45(3): 649–659.
 - [12] Fischetti V A. Bacteriophage lysins as effective antibacterials[J]. *Curr Opin Microbiol*, 2008, 11(5): 393–400.
 - [13] Young R. Bacteriophage lysis: Mechanism and regulation[J]. *Microbiol Rev*, 1992, 56(3): 430–481.
 - [14] Gilmer D B, Schmitz J E, Euler C W, et al. Novel bacteriophage lysin with broad lytic activity protects against mixed infection by *Streptococcus pyogenes* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57(6): 2743–2750.
 - [15] Loc-Carrillo C, Abedon S T. Pros and cons of phage therapy[J]. *Bacteriophage*, 2011, 1(2): 111–114.
 - [16] Lu Y, Wang Y, Wang J, et al. Phage endolysin LysP108 showed promising antibacterial potential against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 668430.
 - [17] Fischetti V A, Nelson D, Schuch R. Reinventing phage therapy: Are the parts greater than the sum?[J]. *Nat Biotechnol*, 2006, 24(12): 1508–1511.
 - [18] Zhu Y, Hao W, Wang X, et al. Antimicrobial peptides, conventional antibiotics, and their synergistic utility for the treatment of drug-resistant infections[J]. *Med Res Rev*, 2022, 42(4): 1377–1422.
 - [19] Fischetti V A. Bacteriophage lytic enzymes: Novel anti-infectives[J]. *Trends Microbiol*, 2005, 13(10): 491–496.
 - [20] Kortright K E, Chan B K, Koff J L, et al. Phage therapy: A renewed approach to combat antibiotic-resistant bacteria[J]. *Cell Host Microbe*, 2019, 25(2): 219–232.
 - [21] Röhrig C, Huemer M, Lorg é D, et al. Targeting hidden pathogens: Cell-penetrating enzybiotics eradicate intracellular drug-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *mBio*, 2020, 11(2): e00209–e00220.
 - [22] Yılmaz Ç, Özcengiz G. Antibiotics: Pharmacokinetics, toxicity, resistance and multidrug efflux pumps[J]. *Biochem Pharmacol*, 2017, 133: 43–62.
 - [23] Hatfull G F, Dedrick R M, Schooley R T. Phage therapy for antibiotic-resistant bacterial infections[J]. *Annu Rev Med*, 2022, 73: 197–211.
 - [24] G ó rski A, Dąbrowska K, Międzybrodzki R, et al. Phages and immunomodulation[J]. *Future Microbiol*, 2017, 12(10): 905–914.
 - [25] Oliveira H, São-Jos é C, Azeredo J. Phage-derived peptidoglycan degrading enzymes: Challenges and future prospects for *in vivo* therapy[J]. *Viruses*, 2018, 10(6): 292.
 - [26] Oliveira H, Melo L D R, Santos S B, et al. Molecular aspects and comparative genomics of bacteriophage endolysins[J]. *J Virol*, 2013, 87(8): 4558–4570.
 - [27] Matamp N, Bhat S G. Phage endolysins as potential antimicrobials against multidrug resistant *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus*: Current status of research and challenges ahead[J]. *Microorganisms*, 2019, 7(3): 84.
 - [28] Eugster M R, Haug M C, Huwiler S G, et al. The cell wall binding domain of *Listeria* bacteriophage endolysin PlyP35 recognizes terminal GlcNAc residues in cell wall teichoic acid[J]. *Mol Microbiol*, 2011, 81(6): 1419–1432.
 - [29] Briers Y, Volckaert G, Cornelissen A, et al. Muralytic activity and modular structure of the endolysins of *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophages ϕ KZ and EL[J]. *Mol Microbiol*, 2007, 65(5): 1334–1344.
 - [30] Garc í a P, Garc í a J, Garc í a E, et al. Modular organization of the lytic enzymes of *Streptococcus pneumoniae* and its bacteriophages[J]. *Gene*, 1990, 86(1): 81–88.
 - [31] Kong M, Na H, Ha N C, et al. LysPBC2, a novel endolysin harboring a *Bacillus cereus* spore binding domain[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2019, 85(5): e02462–e02418.
 - [32] Hóltje J V, Mirelman D, Sharon N, et al. Novel type of

- murein transglycosylase in *Escherichia coli*[J]. *J Bacteriol*, 1975, 124(3): 1067–1076.
- [33] Rodr í guez-Rubio L, Gerstmans H, Thorpe S, et al. DUF3380 domain from a *Salmonella phage* endolysin shows potent N-acetylmuramidase activity[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2016, 82(16): 4975–4981.
- [34] Thurber R V. Current insights into phage biodiversity and biogeography[J]. *Curr Opin Microbiol*, 2009, 12(5): 582–587.
- [35] V á zquez R, Guti é rrez D, Criel B, et al. Diversity, structure–function relationships and evolution of cell wall-binding domains of staphylococcal phage endolysins[J]. *Int J Biol Macromol*, 2025, 310: 143093.
- [36] Wang I N, Smith D L, Young R. Holins: The protein clocks of bacteriophage infections[J]. *Annu Rev Microbiol*, 2000, 54: 799–825.
- [37] Chamblee J S, Ramsey J, Chen Y, et al. Endolysin regulation in phage mu lysis[J]. *mBio*, 2022, 13(3): e00813–e00822.
- [38] Abdelrahman F, Easwaran M, Daramola O I, et al. Phage-encoded endolysins[J]. *Antibiotics*, 2021, 10(2): 124.
- [39] Taati Moghadam M, Mohebi S, Sheikhi R, et al. Phage and endolysin therapy against antibiotics resistant bacteria: From bench to bedside[J]. *MedComm*, 2025, 6(7): e70280.
- [40] Haddad Kashani H, Schmelcher M, Sabzalipoor H, et al. Recombinant endolysins as potential therapeutics against antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*: Current status of research and novel delivery strategies[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2018, 31: e00071–e00017.
- [41] Borysowski J, Weber-Dabrowska B, G ó rski A. Bacteriophage endolysins as a novel class of antibacterial agents[J]. *Exp Biol Med*, 2006, 231(4): 366–377.
- [42] Nelson D, Loomis L, Fischetti V A. Prevention and elimination of upper respiratory colonization of mice by group A streptococci by using a bacteriophage lytic enzyme[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(7): 4107–4112.
- [43] Jun S Y, Jang I J, Yoon S, et al. Pharmacokinetics and tolerance of the phage endolysin-based candidate drug SAL200 after a single intravenous administration among healthy volunteers[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61(6): e02629–e02616.
- [44] Jun S Y, Jung G M, Yoon S J, et al. Preclinical safety evaluation of intravenously administered SAL200 containing the recombinant phage endolysin SAL-1 as a pharmaceutical ingredient[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58(4): 2084–2088.
- [45] Jun S Y, Jung G M, Yoon S J, et al. Pharmacokinetics of the phage endolysin-based candidate drug SAL200 in monkeys and its appropriate intravenous dosing period[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2016, 43(10): 1013–1016.
- [46] Zhang L, Li D, Li X, et al. LysGH15 kills *Staphylococcus aureus* without being affected by the humoral immune response or inducing inflammation[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 29344.
- [47] Gerstmans H, Criel B, Briers Y. Synthetic biology of modular endolysins[J]. *Biotechnol Adv*, 2018, 36(3): 624–640.
- [48] Burgin D J, Liu R, Hsieh R C, et al. Investigational agents for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bacteremia: Progress in clinical trials[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2022, 31(3): 263–279.
- [49] Fischetti V A. Novel method to control pathogenic bacteria on human mucous membranes[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2003, 987: 207–214.
- [50] Nau R, Eiffert H. Modulation of release of proinflammatory bacterial compounds by antibacterials: Potential impact on course of inflammation and outcome in sepsis and meningitis[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2002, 15(1): 95–110.
- [51] Schuch R, Lee H M, Schneider B C, et al. Combination therapy with lysin CF-301 and antibiotic is superior to antibiotic alone for treating methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* - induced murine bacteremia[J]. *J Infect Dis*, 2014, 209(9): 1469–1478.
- [52] Rashel M, Uchiyama J, Ujihara T, et al. Efficient elimination of multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* by cloned lysin derived from bacteriophage phi MR11[J]. *J Infect Dis*, 2007, 196(8): 1237–1247.
- [53] Cheng M, Zhang Y, Li X, et al. Endolysin LysEF-P10 shows potential as an alternative treatment strategy for multidrug-resistant *Enterococcus faecalis* infections[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 10164.
- [54] Loeffler J M, Djurkovic S, Fischetti V A. Phage lytic enzyme cpl-1 as a novel antimicrobial for pneumococcal bacteremia[J]. *Infect Immun*, 2003, 71(11): 6199–6204.
- [55] Lai M J, Lin N T, Hu A, et al. Antibacterial activity of *Acinetobacter baumannii* phage ϕ AB2 endolysin (LysAB2) against both Gram-positive and Gram-negative bacteria[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2011, 90(2): 529–539.
- [56] Daniel A, Euler C, Collin M, et al. Synergism between a novel chimeric lysin and oxacillin protects against infec-

- tion by methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54(4): 1603–1612.
- [57] 李雪林, 杨小燕, 韩泽华, 等. 噬菌体联合抗生素疗法的协同作用机制及应用进展 [J]. *昆明医科大学学报*, 2025, 46(12): 1–8.
- [58] Harshitha N, Saha A, Mandal A, et al. Combination of endolysin LysK04 and cinnamaldehyde potentially inhibits Gram-negative pathogens via outer membrane disruption and peptidoglycan hydrolysis[J]. *Microb Pathog*, 2026, 211: 108262.
- [59] Kim N H, Park W B, Cho J E, et al. Effects of phage endolysin SAL200 combined with antibiotics on *Staphylococcus aureus* infection[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2018, 62(10): e00731–e00718.
- [60] Thummeepak R, Kittit T, Kunthalert D, et al. Enhanced antibacterial activity of *Acinetobacter baumannii* bacteriophage ØABP-01 endolysin (LysABP-01) in combination with colistin[J]. *Front Microbiol*, 2016, 7: 1402.
- [61] Kunz Coyne A J, Eshaya M, Bleick C, et al. Exploring synergistic and antagonistic interactions in phage-antibiotic combinations against ESKAPE pathogens[J]. *Microbiol Spectr*, 2024, 12(10): e00427–e00424.
- [62] Jo J, Myung H. Comparative combinatorial effects of endolysins LNT103 with ten conventional antibiotics against gram-negative bacterial pathogens[J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2026, 36: e2601019.
- [63] Shannon R, Radford D R, Balamurugan S. Impacts of food matrix on bacteriophage and endolysin antimicrobial efficacy and performance[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2020, 60(10): 1631–1640.
- [64] Dörr T. Understanding tolerance to cell wall – active antibiotics[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2021, 1496(1): 35–58.
- [65] Tamai E, Yoshida H, Sekiya H, et al. X-ray structure of a novel endolysin encoded by episomal phage phiSM101 of *Clostridium perfringens*[J]. *Mol Microbiol*, 2014, 92(2): 326–337.
- [66] Nariya H, Miyata S, Tamai E, et al. Identification and characterization of a putative endolysin encoded by episomal phage phiSM101 of *Clostridium perfringens*[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2011, 90(6): 1973–1979.
- [67] Hoopes J T, Stark C J, Kim H A, et al. Use of a bacteriophage lysin, PlyC, as an enzyme disinfectant against *Streptococcus equi*[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2009, 75(5): 1388–1394.
- [68] Wang Y, Sun J H, Lu C P. Purified recombinant phage lysin LySMP: An extensive spectrum of lytic activity for swine streptococci[J]. *Curr Microbiol*, 2009, 58(6): 609–615.
- [69] Schuch R, Nelson D, Fischetti V A. A bacteriolytic agent that detects and kills *Bacillus anthracis*[J]. *Nature*, 2002, 418(6900): 884–889.
- [70] Chang Y, Kim M, Ryu S. Characterization of a novel endolysin LysSA11 and its utility as a potent biocontrol agent against *Staphylococcus aureus* on food and utensils[J]. *Food Microbiol*, 2017, 68: 112–120.
- [71] Lim J A, Shin H, Kang D H, et al. Characterization of endolysin from a *Salmonella* Typhimurium-infecting bacteriophage SPN1S[J]. *Res Microbiol*, 2012, 163(3): 233–241.
- [72] Endersen L, Coffey A, Ross R P, et al. Characterisation of the antibacterial properties of a bacterial derived peptidoglycan hydrolase (LysCs₄), active against *C. sakazakii* and other Gram-negative food-related pathogens[J]. *Int J Food Microbiol*, 2015, 215: 79–85.
- [73] Mayer M J, Gasson M J, Narbad A. Genomic sequence of bacteriophage ATCC 8074-B1 and activity of its endolysin and engineered variants against *Clostridium sporogenes*[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2012, 78(10): 3685–3692.
- [74] Son B, Yun J, Lim J A, et al. Characterization of LysB4, an endolysin from the *Bacillus cereus*-infecting bacteriophage B4[J]. *BMC Microbiol*, 2012, 12(1): 33.
- [75] Lai W C B, Chen X, Ho M K Y, et al. Bacteriophage-derived endolysins to target gram-negative bacteria[J]. *Int J Pharm*, 2020, 589: 119833.
- [76] Murray E, Draper L A, Ross R P, et al. The advantages and challenges of using endolysins in a clinical setting[J]. *Viruses*, 2021, 13(4): 680.
- [77] Bruno B J, Miller G D, Lim C S. Basics and recent advances in peptide and protein drug delivery[J]. *Ther Deliv*, 2013, 4(11): 1443–1467.
- [78] Khan F M, Gondil V S, Li C, et al. A novel *Acinetobacter baumannii* bacteriophage endolysin LysAB54 with high antibacterial activity against multiple gram-negative microbes[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 637313.
- [79] Yang H, Wang M, Yu J, et al. Antibacterial activity of a novel peptide-modified lysin against *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Front Microbiol*, 2015, 6: 1471.