

综 述

声动力治疗在抗菌领域的研究进展*

胡建楠 李紫玲 许淑云*

华中科技大学同济医学院附属同济医院呼吸与危重症医学科,湖北武汉 430030

关键词 声动力治疗; 抗菌; 机制; 声敏剂; 综述

中图分类号 R319;O426.9

文献标识码 A

DOI 10.11768/nkjwzzzz20230512

抗生素在临床广泛使用,多重耐药菌感染日趋严重^[1]。抗生素耐药已经成为一个急需解决的临床问题^[2]。声动力治疗(sonodynamic therapy, SDT)是近些年来提出的一种结合了低强度超声和声敏剂的新型无创治疗方式。因其具有良好的抗菌治疗效果、穿透深度深(达到 10 cm 以上)、成本低、副作用少、不易产生耐药性等优点^[3]被视为有前景的抗菌治疗策略之一。SDT 是指在超声波的作用下,激活声敏剂分子产生一系列杀菌物质,从而达到灭菌效果的方法^[4]。1989 年,日本学者 Umemura 等^[5]采用超声波及血卟啉联合治疗肿瘤,发现血卟啉在超声作用下可产生细胞毒性。随后,Umemura 等将这种治疗方法命名为声动力治疗。2011 年,Liu 等^[6]首次提出 SDT 具有抗菌潜能。随后声动力抗菌治疗开始了广泛研究。本文主要阐述声动力抗菌治疗的机制、抗菌效果的影响因素,并对 SDT 目前在抗菌领域的相关研究进展进行总结。

声动力抗菌治疗的机制

目前认为声动力治疗机制主要为机械效应及活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生。

机械效应^[7]主要包括空化效应和声孔效应。空化效应是指超声与水环境相互作用而产生的一种独特现象。在超声波作用下,形成的空化气泡可发生振荡、膨胀和破裂。通常,在低强度超声作用下,液体产生微小的气泡可发生周期性的收缩和膨胀,称为稳定空化。当超声强度足够大时,会加速气泡的动态变化过程,形成惯性空化。在惯性空化过程中,气泡迅速增长膨大,然后突然破裂。以上现象产生的剪切力、冲击波等可对细菌造成机械损伤^[8]。除此之外,空化诱导的剪切力和微流可以在细胞膜上形成短暂的孔隙,从而产生声孔效应。声孔效应

可以提高细胞膜对药物的通透性,使分子或纳米颗粒通过细胞膜,从而增加对药物分子的摄取与累积^[9]。

除了超声的机械作用外,超声作用于声敏剂产生细胞毒性 ROS 被认为是实现 SDT 杀菌的另一重要机制。声致发光^[10]是 SDT 中 ROS 形成最常见的机制,指的是在空化过程中,气泡快速爆裂所释放的能量迸发出非常短暂的亮光现象。声致发光可使声敏剂发生如光敏剂样的光化学反应并产生 ROS,这揭示了大多数光敏剂具有作为声敏剂的潜力。SDT 诱导 ROS 产生的另一种机制被称为“热解”^[11]。在惯性空化过程中,气泡爆裂释放的能量可使周围形成高温高压的微环境。在高温高压下,声敏剂被热解后与 O₂ 相互作用生成 ROS。

声动力抗菌治疗的影响因素

影响声动力治疗抗菌效果的因素有许多,主要包括超声参数、感染微环境缺氧、声敏剂的类型等。

在声动力治疗中,大多数研究采用低强度(0.3~3 W/cm²)和低频超声(≤1 mHz)来研究 SDT 对微生物的有效性^[12]。虽然高强度超声能产生更多的 ROS,对细菌造成不可逆的损伤,但在体内实验中,也可能对正常组织产生较大副作用^[13]。

在 SDT 作用过程中,周围环境中的 O₂ 是激活声敏剂产生 ROS 的必要条件。细菌感染部位的缺氧微环境在很大程度上限制了 SDT 的杀菌效果。SDT 对氧的消耗可能会加重感染组织的缺氧状态,从而进一步导致 SDT 效果不佳。因此,为了克服细菌感染部位缺氧,许多研究人员尝试在声动力体系中增加氧气供应。

声敏剂是一类能与超声相互作用产生 ROS 的物质,在 SDT 抗菌中起着重要作用。声敏剂可分为

* 基金项目:国家自然科学基金(No:81370134)

* 通信作者:许淑云, E-mail: sxu@ hust. edu. cn, 湖北省武汉市硚口区解放大道 1095 号

有机声敏剂和无机声敏剂^[11]。有机声敏剂具有稳定的理化性质。与光敏剂类似,有机声敏剂主要是卟啉及其衍生物,如血卟啉单甲醚(hematoporphyrin-monomethyl ether, HMME)、原卟啉 IX (protoporphyrin IX, PPIX) 等。除此之外,二氢卟吩 e6 (chlorin e6, Ce6)、玫瑰红(rose bengal, RB)、喹诺酮类、天然产物(姜黄素),部分化疗药物(阿霉素)、吲哚菁绿(indocyanine green, ICG)等也被发现具有声敏效果。虽然有机声敏剂已被证明在抗菌 SDT 中有效,但存在生物利用度低、稳定性欠佳、合成复杂、水溶性差等不足,从而显著减少超声激活声敏剂产生的 ROS^[14],降低抗菌效果。此外,因有机声敏剂大多来源于光敏剂,易产生光毒性和皮肤过敏。

近年来,无机声敏剂因其优异的理化特性和多功能性显示出巨大的 SDT 潜力^[15],限制其广泛应用的主要因素为生物安全性问题。目前无机声敏剂的大多数研究集中在抗肿瘤 SDT 领域。一些无机声敏剂已应用于抗菌 SDT,主要是指金属氧化物(如 Ag_2O_2 , ZnO , 和 TiO_2 等)和压电材料(黑磷,钛酸钡)^[16~18]。

声动力抗菌治疗进展

迄今为止,声动力治疗在抗菌领域进行了多项体外和动物模型研究。Zhuang 等^[19]研究了 HMME 介导的声动力抗菌治疗对金黄色葡萄球菌的作用:50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ HMME 联合 1 MHz、6 W/ cm^2 的超声参数可有效杀死 95% 以上的细菌菌落,但在仅有同样参数的超声波作用下菌落形成单位(colony forming units, CFU)仅降低 38%。而在没有超声的实验条件下,不同浓度的 HMME 均未显示出杀菌效果。该项研究结果显示了 SDT 的抗菌潜力。Wang 等^[20]报道了将姜黄素作为声敏剂通过 SDT 治疗耐甲氧西林葡萄球菌(methicillin-resistant staphylococcus aureus, MRSA)感染,结果显示,姜黄素对 MRSA 具有显著的声动力杀伤作用,且呈剂量依赖性。在室温避光条件下姜黄素(40 μM)孵育 50 min,再暴露于 1.56 W/ cm^2 强度的超声下 5 min,CFU 减少 5 个对数值。

SDT 在抗细菌生物膜方面也具有良好效果。细菌生物膜对细菌菌落具有保护作用,可以保护病原体免受抗生素和宿主免疫系统的攻击^[21],是细菌耐药性形成的重要原因。一般情况下,存在于生物膜中的细菌对抗生素的耐药性比浮游细菌高出 1 000 倍^[21]。一些研究报道 SDT 可有效去除细菌生物膜。

Dong 等^[22]提出了一种生物膜微环境响应纳米体系,该纳米体系中的 α -淀粉酶可降解生物膜的细胞外聚合物以促进声敏剂 Ce6 渗透,最终有效治疗了 MRSA 感染的小鼠。烧伤创面的感染常因致病菌生物膜的形成增加了治疗难度。Pourhajibagher 等^[23]为有效去除烧伤感染创面金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌等致病菌形成的细菌生物膜设计了以大黄素作为声敏剂的 SDT 治疗策略,结果显示该体系介导的 SDT 可有效抑制烧伤感染创面细菌生物膜形成、降解已形成的细菌生物膜并显著降低了细菌毒力因子。此外,Pourhajibagher 等^[24]还设计了基于壳聚糖-吲哚菁绿纳米粒,联合应用光动力治疗(photodynamic therapy, PDT)及 SDT,有效抑制了钛种植体表面细菌生物膜。

尽管基于 SDT 的治疗策略在治疗细菌感染的斗争中取得了巨大成功,但仍存在无法完全根除感染的问题。因此,迫切需要提高声动力抗菌治疗效果的策略。主要策略包括:增强声敏剂目标部位靶向累积、克服感染微环境缺氧及与其他疗法的联合应用等。

当声动力治疗在体内作用于微生物时,声敏剂靶向细菌感染部位的能力是影响其杀菌能力的关键因素。通过靶向细菌感染部位可以减少对正常组织的损伤,以及克服声敏剂在目标部位积累不足的问题来增强 SDT 的抗菌效果。为有效解决该问题,一些研究尝试将 SDT 与纳米技术相结合^[7, 25, 26]。

Pang 等^[27]构建了细菌靶向性及可视化的 SDT 智能体系。该研究以脂质体为纳米载体框架,利用细菌特有的麦芽糊精运输途径,在脂质体上结合了麦芽六糖修饰的胆固醇以特异性靶向细菌感染位点。装载的卟啉结构分子紫红素 18 除作为声敏剂在超声波的作用下产生 ROS 杀灭耐药细菌外,还可作为光学成像试剂从而实现诊疗一体化。通过原位核磁共振监测显示该 SDT 体系成功根除了小鼠细菌性肌炎的炎症和脓肿。Wang 等^[28]设计了一种酶响应性聚合物-抗菌肽-卟啉偶联物,它可以在细菌产生的明胶酶作用下脱去保护性聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)层,导致在细菌周围发生二次组装并形成聚集体,特异性地累积到细菌感染部位,并可在感染部位进行实时监测声敏剂浓度,当浓度达到最小抑菌浓度时,通过 SDT 消除细菌。Pan 等^[29]将肺吸入给药与 SDT 相联合用于治疗多重耐药菌感染的细菌性肺炎。该研究创新给药方式(雾化),构建由沸石咪唑酯骨架-8(zeoliticimidazolate frame-

work-8,ZIF-8)与TiO₂形成的纳米粒精确地递送到肺部感染部位,并在免疫功能正常和免疫缺陷小鼠的肺部感染模型中显示出基于SDT的多重耐药革兰氏阴性杆菌的有效消除。核酸适配体具有优异的靶向能力、低免疫原性和良好的生物相容性。Li等^[30]将可靶向结核杆菌细胞壁的核酸适配体与负载左氧氟沙星的纳米粒相结合可以实现靶向SDT,该纳米颗粒可以有效地将治疗药物转移到感染部位,并在超声作用下实现良好的杀菌效果,提供了一种有前途的靶向治疗结核分枝杆菌感染的方法,具有较高的生物安全性。

此外,因细菌细胞壁结构的差异,不同种类的细菌对声敏剂的亲和力不同^[31],从而导致声敏剂靶向细菌感染部位的能力存在差异。革兰氏阳性菌与中性、带正电或负电的声敏剂易聚集结合,而革兰氏阴性菌通常对带正电的声敏剂亲和力高。这一现象导致了在类似条件下SDT对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌的杀菌效果差异显著。例如:Xu等^[32]比较了声敏剂Ce6(带负电荷)对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的SDT作用,结果表明,在声动力处理后大肠杆菌CFU降低2个对数值,而金黄色葡萄球菌CFU降低7个对数值。此外,一项研究发现,当带正电荷的声敏剂RB与抗菌肽的偶联物作用于铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌时^[33],SDT效果显示,铜绿假单胞菌菌落比金黄色葡萄球菌减少得更明显。可能因为带正电荷的偶联物和带负电荷的细菌细胞壁之间的相互作用增强了声敏剂对细菌的表面附着从而造成了SDT效果的差异。

为了克服感染微环境缺氧对SDT效果的影响,Sun等^[34]提出了一种超声可切换的纳米酶体系(Pd@Pt-T790)。该体系中Pd@Pt具有过氧化氢酶样活性,在超声作用下,可催化内源H₂O₂分解为O₂,从而克服低氧微环境放大SDT的疗效。该体系成功应用于根除MRSA诱导的肌炎。Heng等^[35]通过使用具有携氧功能的血红蛋白修饰装载声敏剂HMME的ZIF-8纳米颗粒治疗MRSA诱导的小鼠深部细菌性肌炎。结果显示修饰血红蛋白组相较于非修饰组的杀菌效果更佳。Dong等^[22]设计体系中通过利用二氧化锰纳米片催化内源过量产生的H₂O₂在感染组织中转化为O₂,缓解低氧微环境,进一步增强SDT的抗细菌生物膜功效。

近年来,许多研究者将SDT与其他疗法如PDT、光热疗法和免疫疗法等相结合,协同策略的应用进一步增强了整体抗菌疗效。

Alves等^[36]评估了由姜黄素介导的SDT、PDT以及两种疗法联合对金黄色葡萄球菌及其生物膜的作用,结果显示两种疗法联合对生物膜的破坏及细菌的灭活效果优于PDT和SDT单独治疗。Pang等^[37]提出了将SDT和抗细菌毒素免疫疗法结合治疗多重耐药菌感染,该研究的亮点是在包载了声敏剂的纳米囊泡表面修饰了具有中和MASA α -毒素功能的抗体,通过抗体导向可以成功定位MRSA感染部位。研究结果显示小鼠MRSA肌炎在SDT联合免疫治疗中完全根除。

在声动力抗菌治疗临床转化过程中,仍有以下几个挑战需要解决:①进一步探究声动力抗菌作用机制;②研究优化SDT超声应用参数;③携带声敏剂的纳米颗粒的局部组织累积,有效释放声敏剂和纳米颗粒载体本身的降解问题;④寻找并开发具有良好特异性、声敏效率高和生物相容性的新型声敏剂等。

参考文献

- 1 Krell T,Matilla MA. Antimicrobial resistance: progress and challenges in antibiotic discovery and anti-infective therapy[J]. Microb Biotechnol,2022,15(1):70-78.
- 2 魏晶晶,张铮.重症监护病房耐碳青霉烯类肠杆菌的现状 & 最新治疗进展[J]. 内科急危重症杂志,2021,27(2):153-156.
- 3 Pang X,Li D,Zhu J,et al. Beyond antibiotics:photo/sonodynamic approaches for bacterial theranostics [J]. Nanomicro Lett,2020,12(1):144.
- 4 Canaparo R,Foglietta F,Barbero N,et al. The promising interplay between sonodynamic therapy and nanomedicine [J]. Adv Drug Deliv Rev,2022,189:114495.
- 5 Umemura SI,Yumita N,Nishigaki R,et al. Sonochemical activation of hematoporphyrin:a potential modality for cancer treatment; proceedings of the Ultrasonics Symposium,1989 Proceedings,IEEE 1989,F,1989[C].
- 6 Liu B,Wang DJ,Liu BM,et al. The influence of ultrasound on the fluoroquinolones antibacterial activity [J]. Ultrason Sonochem,2011,18(5):1052-1056.
- 7 Wang R,Liu Q,Gao A,et al. Recent developments of sonodynamic therapy in antibacterial application [J]. Nanoscale,2022,14(36):12999-13017.
- 8 Zhao P,Deng Y,Xiang G,et al. Nanoparticle-assisted sonosensitizers and their biomedical applications [J]. Int J Nanomedicine,2021,16:4615-4630.
- 9 Tharkar P,Varanasi R,Wong WSF,et al. Nano-enhanced drug delivery and therapeutic ultrasound for cancer treatment and beyond [J]. Front Bioeng Biotechnol,2019,7:324.
- 10 Chio V,Rajora MA,Zheng G. Activating drugs with sound:mechanisms behind sonodynamic therapy and the role of nanomedicine [J]. Bioconjug Chem,2020,31(4):967-989.

- 11 Liang S, Deng X, Ma P, et al. Recent advances in nanomaterial-assisted combinational sonodynamic cancer therapy [J]. *Adv Mater*, 2020, 32(47): e2003214.
- 12 Fan L, Idris Muhammad A, Bilyaminu Ismail B, et al. Sonodynamic antimicrobial chemotherapy: An emerging alternative strategy for microbial inactivation [J]. *Ultrason Sonochem*, 2021, 75: 105591.
- 13 Martins YA, Pavan TZ, Lopez RFV. Sonodynamic therapy: ultrasound parameters and in vitro experimental configurations [J]. *Int J Pharms*, 2021, 610: 121243.
- 14 Xing X, Zhao S, Xu T, et al. Advances and perspectives in organic sonosensitizers for sonodynamic therapy [J]. *Coord Chem Rev*, 2021, 445: 214087.
- 15 Sun L, Wang P, Zhang J, et al. Design and application of inorganic nanoparticles for sonodynamic cancer therapy [J]. *Biomater Sci*, 2021, 9(6): 1945-1960.
- 16 Li Z, Zhang T, Fan F, et al. Piezoelectric materials as sonodynamic sensitizers to safely ablate tumors: a case study using black phosphorus [J]. *J Phys Chem Lett*, 2020, 11(4): 1228-1238.
- 17 Wu M, Zhang Z, Liu Z, et al. Piezoelectric nanocomposites for sonodynamic bacterial elimination and wound healing [J]. *Nano Today*, 2021, 37: 101104.
- 18 Wang G, Wu W, Zhu JJ, et al. The promise of low-intensity ultrasound: A review on sonosensitizers and sonocatalysts by ultrasonic activation for bacterial killing [J]. *Ultrason Sonochem*, 2021, 79: 105781.
- 19 Zhuang D, Hou C, Bi L, et al. Sonodynamic effects of hematoporphyrinmonomethyl ether on staphylococcus aureus in vitro [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2014, 361(2): 174-180.
- 20 Wang X, Ip M, Leung AW, et al. Sonodynamic inactivation of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in planktonic condition by curcumin under ultrasound sonication [J]. *Ultrasonics*, 2014, 54(8): 2109-2014.
- 21 Ciofu O, Moser C, Jensen P, et al. Tolerance and resistance of microbial biofilms [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2022, 20(10): 621-635.
- 22 Heng D, Weijun X, Ling W, et al. Biofilm microenvironment response nanoplatform synergistically degrades biofilm structure and relieves hypoxia for efficient sonodynamic therapy [J]. *Chem Eng J*, 2023, 453: 139839.
- 23 Pourhajibagher M, Rahimi-Esboei B, Ahmadi H, et al. The anti-biofilm capability of nano-emodin-mediated sonodynamic therapy on multi-species biofilms produced by burn wound bacterial strains [J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2021, 34: 102288.
- 24 Pourhajibagher M, Rokn AR, Barikani HR, et al. Photo-sonodynamic antimicrobial chemotherapy via chitosan nanoparticles-indocyanine green against polymicrobialperiopathogenic biofilms; Ex vivo study on dental implants [J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2020, 31: 101834.
- 25 Xu Q, Xiu W, Li Q, et al. Emerging nanosonosensitizers augment sonodynamic-mediated antimicrobial therapies [J]. *Materials Today Bio*, 2023, 19: 100559.
- 26 Dong X, Zhang CY, Jin G, et al. Targeting of nanotherapeutics to infection sites for antimicrobial therapy [J]. *Adv Ther (Weinh)*, 2019, 2(11): 1900095.
- 27 Pang X, Xiao Q, Cheng Y, et al. Bacteria-responsive nanoliposomes as smart sonotheranostics for multidrug resistant bacterial infections [J]. *ACS Nano*, 2019, 13(2): 2427-2438.
- 28 Wang D, Cheng DB, Ji L, et al. Precise magnetic resonance imaging-guided sonodynamic therapy for drug-resistant bacterial deep infection [J]. *Biomaterials*, 2021, 264: 120386.
- 29 Pan X, Wu N, Tian S, et al. Inhalable MOF-Derived nanoparticles for sonodynamic therapy of bacterial pneumonia [J]. *Adv Funct Mater*, 2022, 32(25): 2112145.
- 30 Li G, Li J, Hou Y, et al. Levofloxacin-loaded nanosonosensitizer as a highly efficient therapy for bacillus calmette-Guérin infections based on bacteria-specific labeling and sonotheranostic strategy [J]. *Int J Nanomedicine*, 2021, 16: 6553-6573.
- 31 Fan L, Idris Muhammad A, Bilyaminu Ismail B, et al. Sonodynamic antimicrobial chemotherapy: An emerging alternative strategy for microbial inactivation [J]. *Ultrason Sonochem*, 2021, 75: 105591.
- 32 Xu C, Dong J, Ip M, et al. Sonodynamic action of chlorin e6 on Staphylococcus aureus and Escherichia coli [J]. *Ultrasonics*, 2016, 64: 54-57.
- 33 Costley D, Nesbitt H, Terman N, et al. Sonodynamic inactivation of Gram-positive and Gram-negative bacteria using a rose bengal-antimicrobial peptide conjugate [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2017, 49(1): 31-36.
- 34 Sun D, Pang X, Cheng Y, et al. Ultrasound-switchable nanozyme augments sonodynamic therapy against multidrug-resistant bacterial infection [J]. *ACS Nano*, 2020, 14(2): 2063-2076.
- 35 Geng X, Chen Y, Chen Z, et al. Oxygen-carrying biomimetic nanoplatform for sonodynamic killing of bacteria and treatment of infection diseases [J]. *Ultrason Sonochem*, 2022, 84: 105972.
- 36 Alves F, Guimarães GG, Inada NM, et al. Strategies to improve the antimicrobial efficacy of photodynamic sonodynamic, and sonophotodynamic therapies [J]. *Lasers Surg Med*, 2021, 53(8): 1113-1121.
- 37 Pang X, Liu X, Cheng Y, et al. Sono-immunotherapeutic nanocapturer to combat multidrug-resistant bacterial infections [J]. *Adv Mater*, 2019, 31(35): e1902530.

(2023-05-04 收稿 2023-08-28 修回)