

防治多重抗藥性細菌的後抗生素時代——單株抗體治療策略

江明憲¹ 莊依萍² 陳筱珺² 林德宇^{3,4} 楊雅頌^{3,4}

國防醫學院¹ 生物及解剖學研究所² 微生物及免疫學科暨研究所
國防醫學中心三軍總醫院³ 感染管制中心⁴ 感染及熱帶醫學科

多重抗藥性細菌的嚴重性並未因 COVID-19 疫情停下腳步，儘管依據 WHO 指引，除非臨床懷疑有細菌感染，否則不建議對疑似或確診 SARS-CoV-2 輕症或肺炎患者常規給予抗生素治療，近期研究卻指出 SARS-CoV-2 患者的非必要抗生素治療比例，依舊居高不下。因此，無論是否面臨疫情威脅，抗生素抗藥性的沉默流行，依舊是亙久不變的議題。身處在後抗生素時代的我們，舉凡長期推廣合理使用抗生素、優化感染控制流程、開發新的抗菌藥劑與疫苗，都應納入抗菌工具箱的重要成員。其中疫苗及單株抗體的發展，這幾年隨著生物技術的進步及抗癌領域的發展，正逐漸受到重視。儘管在研究及臨床試驗的產品上已有不錯的進展，然而要於臨床上大量應用仍有需多挑戰，本文將闡述目前抗菌單株抗體的優勢、臨床試驗發展及未來挑戰，期待未來有更多工具來抵抗抗藥性細菌的感染，讓治療策略更有彈性。（**感控雜誌 2022;32:169-178**）

關鍵詞： 抗生素、抗藥性、單株抗體、感染

前言

COVID-19 疫情肆虐全球方興未艾，多重抗藥性細菌的沉默流行 (silent pandemic) 卻從未停歇[1]。根據最新的統合研究分析指出，約有四

分之三感染 SARS-CoV-2 的病人曾被開立預防性抗生素治療，然而實際上卻僅有 8.6% 的繼發性細菌感染 (95% CI 4.7~15.2%)，持續的不適當抗生素處方，將助長抗生素抗藥性問題日益嚴重[2]。研究發現，與抗藥性相關

民國 111 年 3 月 1 日受理
民國 111 年 4 月 21 日接受刊載

通訊作者：楊雅頌
通訊地址：臺北市內湖區成功路二段325號
連絡電話：(02)87927257

DOI: 10.6526/ICJ.202206_32(3).0003

中華民國 111 年 6 月第三十二卷三期

因而導致死亡的前六大細菌群分別是大腸桿菌 (*Escherichia coli*)、金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、肺炎克雷伯菌 (*Klebsiella pneumoniae*)、肺炎鏈球菌 (*Streptococcus pneumoniae*)、鮑氏不動桿菌 (*Acinetobacter baumannii*) 及綠膿桿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)。以上菌種涵蓋了所有可歸因死亡 (attributable deaths) 的 73.4% [3]。

近期在新生兒病房[4]、加護病房[5,6]及長期照護中心[7,8]常見的 *Elizabethkingia* species 伊莉莎白菌屬，更以其強勢的內源性 (intrinsic) 多重抗藥性能力，使得 β -lactams、carbapenems、 β -lactam/ β -lactamase inhibitor、aminoglycosides，甚至是 tigecycline 及 colistin 等後線藥物失效，凸顯後抗生素時代抗藥性細菌感染控制的重要性[9]。面對層出不窮的細菌抗藥性問題，我們已經知道各項的感染管制相關措施，如環境清消、洗手，以及避免不適當使用抗生素等，但面對當下情況，抗藥性增長的速度，已遠遠超越新藥研發的速度。長遠而言，我們除了需致力於發展新型抗生素之外，亦需發展其他的對抗多重抗藥菌的策略，例如：疫苗 [10]。

細菌疫苗研發挑戰

從人類醫學史到近期 COVID-19 的經驗，疫苗已證實是預防感染症的

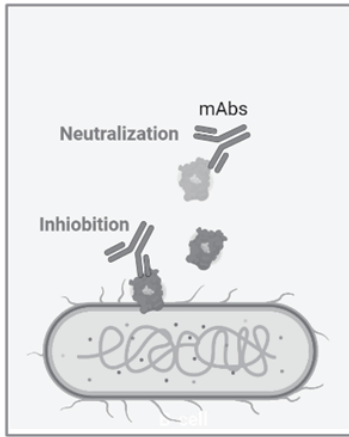
最具成本效益的策略之一，對付多變的多重抗藥性細菌，在抗生素已漸漸黔驢技窮的現在進行式中，開發新的治療方針更是刻不容緩，其中，疫苗的開發，不單單只是話題，亦具有臨床運用的可行性[11,12]。然而，研發多重抗藥性細菌疫苗，有三大挑戰需要克服：技術面、適用族群、經濟面 [13]。

首先，在尋找適當疫苗候選次單元的技術部分，從過往以毒力因子 (virulence factor)、表面醣分子或莢膜 (capsule) 及外膜蛋白為抗原的方式，到後來以生物資訊學 (bioinformatics) 方法去篩選出具有抗原決定位潛力、暴露於細胞表面及高度保守的蛋白質後，逐步去進行實驗測試[14,15]。而當中花費許多時間及精力的驗證過程中，最後成功的案例寥寥可數。

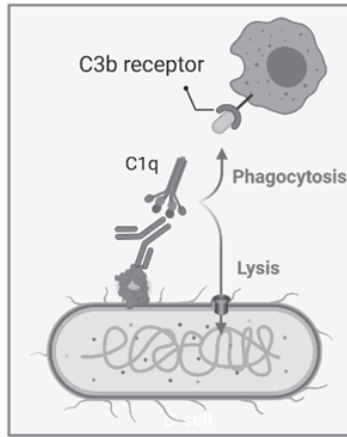
其次，疫苗主要目標族群為何？目前雖可針對高危險族群，例如：加護中心病患、具有慢性疾病、使用呼吸器、癌症及手術病人等。如果在術前或是罹患疾病的當下施打疫苗預防效果有限，在實務上高危險族群亦難以定義，使得疫苗施打的推廣可能遭遇限縮。

最後，多重抗藥性細菌的疫苗市場規模並不大，根據在美國 CDC 統計，每年大約 280 萬多重抗藥性細菌感染患者，數目雖然不少，但是相較於其他疾病的發生率較低，即便造成的死亡率較高，然而就經濟效益方面而言，生技製藥公司研發上投資成本

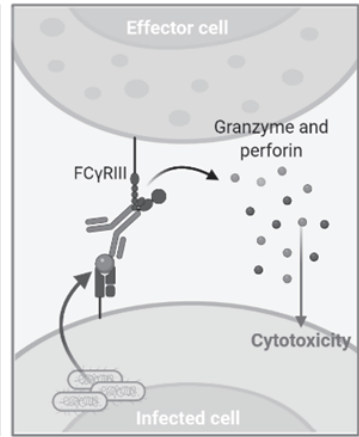
A. Neutralize/ Inhibit virulence factor
中和/抑制毒力因子



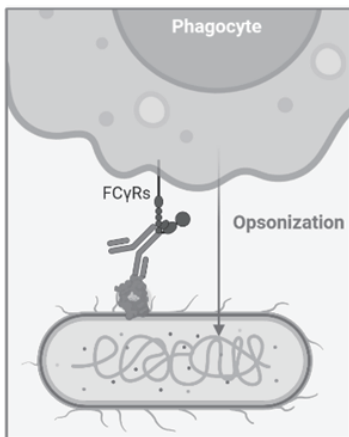
B. Complement-Dependent Cytotoxicity
補體介導殺菌效應



C. Antibody-Dependent Cell Cytotoxicity
抗體依賴細胞毒殺作用



D. Antibody-Dependent Phagocytosis
調理吞噬作用



E. Antibody-antibiotic conjugate
抗體-抗菌藥複合物



F. Inhibition of biofilm formation
阻斷/裂解生物膜形成



圖一 單株抗體主要抗菌機制
Monoclonal Antibody: Mechanisms of Action Against Bacterial Infection

巨大、使用期程短，不若癌症治療領域般有吸引力。

因此，針對目前多重抗藥性細菌的感染，除了不斷開發新型抗生素

與抗藥性賽跑外，另闢蹊徑，例如：研發治療型單株抗體 (monoclonal antibody, mAbs)，或許會是較可行的做法[13,16]。

抗菌單株抗體的發展進程

以往市面上尚有許多抗生素來源，且 mAbs 治療費用相對高昂，因此相對於腫瘤與自體免疫疾病領域 [17]，抗菌 mAbs 在細菌治療方面，發展較慢 [18]。時至今日，隨著精準醫學與生物技術的進展，mAbs 應用於抗感染症臨床治療的需求日益擴大。相對於抗生素，mAbs 應用於抗菌治療有以下優點：(1) 專一性高，精準打擊多重抗藥細菌；(2) 安全性高，正常腸道菌叢不受傷害 [19]；(3) 可合併抗生素使用 (antibody-antibiotic conjugates 抗體-抗菌藥複合物)，降低劑量及選擇性壓力 (selective pressure) [20]；(4) 透過基因工程，如 scFv (single-chain variable fragment) 單鏈變異區片段抗體及全人源抗體 (full human antibody)，可促進 mAbs 的親和力及安全性，降低人類抗嵌合體抗體反應 (human anti-chimeric antibody response, HACA) 風險 [21,22]；(5) 半衰期較長，給藥後可維持數周至數月，理論上具有預防效益 [23]；(6) 患者免疫功能低下，不利施打疫苗者，mAbs 仍有治療效益 [24]。

表一，整理臨床試驗網站 (ClinicalTrials.gov) 記載的「抗菌單株抗體產品臨床試驗發展」，從中不難發現，目前抗菌 mAbs 的主要標的為毒素/毒力因子 (細菌外毒素、穿孔蛋白系統)、高度保守表面醣類及外膜蛋白、生物膜及鐵離子捕獲功能因子

等，藉此阻斷細菌入侵宿主細胞，降低生物膜生成，中和 (neutralize) 毒素及誘發補體、免疫細胞產生吞噬調理作用 (opsonophagocytosis) 等免疫調節功能。也因為抗菌 mAbs 並非為直接殺菌，因此選擇性壓力產生的抗藥性不易發生 [18]。

目前研發抗菌 mAbs 上市的案例，除了具生物恐怖攻擊戰略意義的抗炭疽桿菌 (*Bacillus anthracis*) 毒素之 Raxibacumab 及 Obiltoximab 之外，臨床試驗最成功的案例，是用於治療反覆發作的困難梭狀桿菌 (*Clostridium difficile*) 感染的 Bezlotoxumab (Zinplava) [25]。2016 年美國 FDA 核准使用於 18 歲以上，正在接受抗生素治療之高風險族群 (如使用廣效型抗生素、長期使用胃酸抑制劑、及接受胃腸手術者)，Bezlotoxumab 屬於 Human IgG1 mAbs，主要的標的是結合 *C. difficile* 的 Toxin B，中和降低毒素對腸壁的損傷與減少發炎。mAbs 在治療 *C. difficile* 的成功經驗，更激勵相關抗菌 mAbs 的持續發展 (表一)。此外，近期 mAbs 的發展更朝向多價組合模式，此雞尾酒療法 (mAbs cocktails)，具有多個表位結合位點 (epitope)，從而可以更大程度的覆蓋中和抗原，就像我們的天然免疫系統一樣，同時來自多個 B 細胞譜系的抗體集合產生，因此對同一病原產生許多不同的位點的親和力。具有多個表位結合位點可以提供更多的中和選項，並減少病原

表一 抗菌單株抗體產品臨床試驗發展

Bacterial Species	Agents Agents/mAbs Target	Sponsor (s)	Phase of Trial				NCT number	Origin
			I	II	III	IV		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Tefibazumab/clumping factor A	Bristol-Myers Squibb	V	V			NCT00198289	Humanized
	514G3	XBiotech	V	V			NCT02357966	Human (isolated and cloned from a healthy human donor)
	514G3/cell wall moiety Protein A (SpA) (Suvratouxumab)	Medimmune	V	V			NCT02296320	Human (VelocImmune mice)
	MEDI4893 alpha-hemolysin	Arsanis	V	V			NCT02940626	Human
	ASN-100 (ASN-1 and ASN-2)/alpha-hemolysin, gamma-hemolysin, bicomponent leucocidin (HlgAB, HlgCB, LukED, LukSF, and LukGH)	Aridis Pharmaceuticals	V	V	V		NCT03816956	Human (convalescent patient B-cell)
	AR-301 (Tosatouxumab)/alpha toxin	Genentech and Roche	V				NCT03162250	Human
	DSTA-4637S/Teichoic Acid (Antibody-Antibiotic Conjugate)	NeuTec Pharma / Novartis	V	V	V		NCT00217841	scFv
	Aurograb@/ABC transporter GrfA	KaloBios	V	V			NCT00638365	humanized PEGylated Fab
	KB001/type III secretion system, PerV	Mukoviszidose Institut gGmbH	V	V	V		NCT01455675	Chicken egg yolk
	PsAer-IgY/surface protein (Flagellin)	Aridis Pharmaceuticals	V	V			NCT03027609	Human
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	AR-105 (Aerucin)/alginate	Aridis (Kenta Biotech)	V	V			NCT00851435	Human
	KBPA-101 (Aermab)/LPS O-antigen (serotype O11)	Medimmune	V	V			NCT02696902	Human (bispecific phage display and VelocImmune mouse)
	MEDI3902/type III secretion system, PerV, exopolysaccharide, Psl		V	V				

<i>Clostridium difficile</i>	MK-3415A (actoxumab-bezlotoxumab)/ toxin A/B	Merck Sharp & Dohme	V	V	V	NCT01513239	Human
	Bezlotoxumab (Zimplava®)/toxin B	Merck Sharp & Dohme	V	V	V	NCT03880539	Human
	GS-CD41/MDX-1388/toxin A/ C-terminal toxin B fragment	MassBiologics/ Merck	V	V	V	NCT00350298	human
<i>Bacillus anthracis</i>	Raxibacumab (ABthrax®/Anthrax®)/ protective antigen (PA) component of anthrax toxin	Human Genome Sciences	V	V	V	NCT02177721	Human (phage display)
	Obiltoximab (Anthrax®, ETI-204)/PA component of anthrax toxin	Elusys Therapeutics	V	V	V	NCT03088111	Human-mouse (hybridoma)
	MDX-1303 (Valortim®)/Uncleaved and cleaved PA	PharmAthene	V			NCT00964561	Human
	AVP-21D9 (Thraxiva™)/PA component of anthrax toxin	Emergent BioSolutions	V			NCT01202695	Human
	F598/Poly-N-acetylglucosamine (PNAG)	Alopexx Pharmaceuticals	V	V		NCT03222401	Human
Others	Pagibaximab (BSYX-A110)/lipoteichoic acid	Biosynexus	V	V	V	NCT00646399	Humanized
	<i>c</i> α Stx1/ <i>c</i> α Stx2/shiga toxins	Thallion Pharmaceuticals	V	V		NCT01252199	Humanized
	NTM-1632/3/botulinum neurotoxin type B	NIAID	V			NCT02779140	Humanized
	XOMA 3ab/botulinum neurotoxin type B	XOMA/NIAID	V			NCT01357213	Humanized
	TRL1068/biofilm scaffolding proteins DNABII	Trellis Bioscience	V			NCT04763759	Human

體產生逃逸突變的機會，進而抑制或減緩多重抗藥菌的產生[26]。多價的抗菌 mAbs 具有大量抗原位點結合作用的能力，具有填補抗生素和疫苗在治療失敗後的空缺。簡而言之，單株抗體結合抗生素治療，這種多重攻擊模式，將對細菌構築演化障礙，降低治療失敗機率[23]。

抗菌單株抗體缺點及未來展望

儘管 mAbs 的免疫療法在多重抗藥性細菌治療上正處於蓬勃發展的研究浪尖，在發展上仍需克服許多挑戰。首先，儘管是人源化單株抗體，仍可能有產生 HACA 反應，導致治療風險[17]。其次，mAbs 研發的標的，通常為特定細菌的特定抗原，因此快速即時的診斷病原更顯重要。另外，有時目標抗原只表現在單一流行株、單一器官感染時或某一致病時期，可能會限制了 mAbs 的有效性。如作用在綠膿桿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 第三型外泌系統 (T3SS) 蛋白 PcrV 的 KB001，可成功降低使用呼吸器病人 *P. aeruginosa* 感染導致肺炎的發生率，卻無法降低囊腫性纖維化 (cystic fibrosis) 病人感染的比率[27]。再者，高度保守外膜蛋白雖然是合適標的，惟經常被細菌表面醣類所覆蓋 (masked)，可能不易被 mAbs 觸及。其次，外醣結構有血清型 (serotype) 之差異，也可能無法被單一 mAbs 所標的[28]。2013

年哈佛團隊研究發現，一種細菌外醣結構 PNAG (β -1-6-linked poly-N-acetyl-d-glucosamine)，高度保守的表現於至少 75 種以上病原體，包含革蘭氏陽性、陰性菌、黴菌及寄生蟲等，與病原體的生存、毒性及生物膜形成有關[29]。他們藉由去乙酰化 (deacetylation) 的人工合成 PNAG 作為抗原，發展出專一性的 IgG1 mAbs (F598)，雖在動物實驗中證實可抵抗多種抗藥性細菌感染[29,30]，但仍無法通過第二期臨床試驗的驗證[17]。

最後，如同疫苗及抗生素所面臨的同樣問題，商業投資最主要還是會聚焦在疾病的市場規模，因此研發廣效型的 mAbs 需要透過政府監管機構政策的引導，降低商業障礙，使得相關領域得以開花結果，這將是未來尚待解決的問題。

綜上所述，隨著 mAbs 開發、篩選及生產和工程技術的進展，更深入地了解目標抗原在疾病發病機制中的表現和作用，病原體特異性 mAbs 已正式導入治療的候選名單。抗體通過各種機制殺死細菌或減弱細菌的病理活性，包括調理吞噬作用、補體介導的殺菌活性、阻斷生物膜生成和細菌毒素的中和。這些藥效機制不同於小分子抗菌劑，mAbs 的高特異性可以減少對正常菌群的干擾和減少交叉抗藥的選擇壓力。因此，搭配適當的感染管制措施，此類 mAbs 可讓針對抗藥性菌株的治療與策略更加靈活。儘管目前有了這些進展，但該領域仍必

須克服某些障礙，研發上重點應放在建立臨床相關的體外實驗和動物模型上，以提高臨床前和臨床研究結果的相關性。雖然截至目前只有三種用於預防或治療細菌感染的 mAbs 上市，鑑於抗菌 mAbs 相對於傳統抗菌劑的許多優勢，以及臨床研究的積極發現，廣效的抗菌 mAbs 研究進展有望在未來一日千里。

參考文獻

1. Mahoney AR, Safae MM, Wuest WM, et al: The silent pandemic: Emergent antibiotic resistances following the global response to SARS-CoV-2. *iScience* 2021;24:102304.
2. Langford BJ, So M, Raybardhan S, et al: Antibiotic prescribing in patients with COVID-19: rapid review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect* 2021;27:520-31.
3. Antimicrobial Resistance C: Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet* 2022;399:629-55.
4. Reed TAN, Watson G, Kheng C, et al: Elizabethkingia anophelis infection in infants, Cambodia, 2012-2018. *Emerg Infect Dis* 2020;26:320-2.
5. Pokrywka M, Viazanko K, Medvick J, et al: A Flavobacterium meningosepticum outbreak among intensive care patients. *Am J Infect Control* 1993;21:139-45.
6. Hsu MS, Liao CH, Huang YT, et al: Clinical features, antimicrobial susceptibilities, and outcomes of Elizabethkingia meningoseptica (Chryseobacterium meningosepticum) bacteremia at a medical center in Taiwan, 1999-2006. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011;30:1271-8.
7. Weaver KN, Jones RC, Albright R, et al: Acute emergence of Elizabethkingia meningoseptica infection among mechanically ventilated patients in a long-term acute care facility. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010;31:54-8.
8. Ceyhan M, Yildirim I, Tekeli A, et al: A Chryseobacterium meningosepticum outbreak observed in 3 clusters involving both neonatal and non-neonatal pediatric patients. *Am J Infect Control* 2008;36:453-7.
9. Raghavan S, Thomas B, Shastry BA: Elizabethkingia meningoseptica: emerging multidrug resistance in a nosocomial pathogen. *BMJ Case Rep* 2017.
10. Bekeredjian-Ding I: Challenges for Clinical Development of Vaccines for Prevention of Hospital-Acquired Bacterial Infections. *Front Immunol* 2020;11:1755.
11. Jansen KU, Knirsch C, Anderson AS: The role of vaccines in preventing bacterial antimicrobial resistance. *Nat Med* 2018;24:10-9.
12. Buchy P, Ascioğlu S, Buisson Y, et al: Impact of vaccines on antimicrobial resistance. *Int J Infect Dis* 2020;90:188-96.
13. López-Siles M, Corral-Lugo A, McConnell MJ: Vaccines for multidrug resistant Gram negative bacteria: lessons from the past for guiding future success. *FEMS Microbiol Rev* 2020;45:fuaa054.
14. Chiang MH, Sung WC, Lien SP, et al: Identification of novel vaccine candidates against Acinetobacter baumannii using reverse vaccinology. *Hum Vaccin Immunother* 2015;11:1065-73.
15. Michalik M, Djahanshiri B, Leo JC, et al: Reverse Vaccinology: The Pathway from Genomes and Epitope Predictions to Tailored Recombinant Vaccines. *Methods Mol Biol* 2016;1403:87-106.
16. McConnell MJ: Where are we with monoclonal antibodies for multidrug-resistant infections? *Drug Discov Today* 2019;24:1132-8.
17. Lu RM, Hwang YC, Liu IJ, et al: Development of therapeutic antibodies for the treatment of diseases. *J Biomed Sci* 2020;27:1.
18. Monserrat-Martinez A, Gambin Y, Sierceki E: Thinking Outside the Bug: Molecular Targets and Strategies to Overcome Antibiotic Resistance. *Int J Mol Sci* 2019:20.
19. Wang-Lin SX, Balthasar JP: Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Considerations for the Use of Monoclonal Antibodies in the Treatment of Bacterial Infections. *Antibodies (Basel)* 2018:7.
20. Mariathan S, Tan MW: Antibody-Antibiotic Conjugates: A Novel Therapeutic Platform

- against Bacterial Infections. *Trends Mol Med* 2017;23:135-49.
21. Kang TH, Seong BL: Solubility, Stability, and Avidity of Recombinant Antibody Fragments Expressed in Microorganisms. *Front Microbiol* 2020;11:1927.
 22. Hwang WY, Foote J: Immunogenicity of engineered antibodies. *Methods* 2005;36:3-10.
 23. Zurawski DV, McLendon MK: Monoclonal Antibodies as an Antibacterial Approach Against Bacterial Pathogens. *Antibiotics (Basel)* 2020;9.
 24. Motley MP, Banerjee K, Fries BC: Monoclonal antibody-based therapies for bacterial infections. *Curr Opin Infect Dis* 2019;32:210-6.
 25. Wilcox MH, Gerding DN, Poxton IR, et al: Bezlotoxumab for Prevention of Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *N Engl J Med* 2017;376:305-17.
 26. Kennedy DA, Read AF: Why does drug resistance readily evolve but vaccine resistance does not? *Proc Biol Sci* 2017;284.
 27. Jain R, Beckett VV, Konstan MW, et al: KB001-A, a novel anti-inflammatory, found to be safe and well-tolerated in cystic fibrosis patients infected with *Pseudomonas aeruginosa*. *J Cyst Fibros* 2018;17:484-91.
 28. Raj GM, Priyadarshini R, Murugesan S, et al: Monoclonal Antibodies Against Infectious Microbes: So Long and Too Little! *Infect Disord Drug Targets* 2021;21:4-27.
 29. Cywes-Bentley C, Skurnik D, Zaidi T, et al: Antibody to a conserved antigenic target is protective against diverse prokaryotic and eukaryotic pathogens. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013;110:2209-18.
 30. Stevenson TC, Cywes-Bentley C, Moeller TD, et al: Immunization with outer membrane vesicles displaying conserved surface polysaccharide antigen elicits broadly antimicrobial antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 2018;115:3106-15.

Fighting multi-drug resistant bacteria in a post-antibiotic era: the promising strategy of antibacterial monoclonal antibodies

Ming-Hsien Chiang¹, Yi-Ping Chuang², Xiao-Chun Chen², Te-Yu Lin³, Ya-Sung Yang³

¹Department and Graduate Institute of Biology and Anatomy,

²Department and Graduate Institute of Microbiology and Immunology, National Defense Medical Center,

³Division of Infectious Diseases and Tropical Medicine, Department of Internal Medicine,
Tri-Service General Hospital, National Defense Medical Center, Taipei, Taiwan

The impact of COVID-19 on antimicrobial resistance has become an issue of interest because of inappropriate antibiotic use in patients infected with SARS-CoV-2 for suspected bacterial infections. Antimicrobial resistance is a silent pandemic with disastrous consequences. Under these circumstances, multi-drug resistant (MDR) bacterial nosocomial infections have induced a higher mortality rate in patients and have persistently spread in hospital environments. Therefore, infection control practices, antimicrobial stewardship, new antibiotics, or other approaches to antimicrobial agents are urgently needed. Monoclonal antibodies (mAbs) have recently been introduced as a promising therapeutic strategy for combating MDR bacteria. In this review, we present the development strategies and future perspectives for mAbs.

Key words: Antibiotic, resistance, monoclonal antibody, infection