

doi: 10.3978/j.issn.1000-4432.2020.07.05

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1000-4432.2020.07.05>

## Elastase作为靶点在铜绿假单胞菌眼科感染治疗中的研究进展

李晔<sup>1</sup>, 胡沁媛<sup>1</sup>, 周敏<sup>1</sup>, 王聪尧<sup>1</sup>, 李健<sup>2</sup> 综述 万鹏霞<sup>1</sup> 审校

(中山大学附属第一医院 1. 眼科; 2. 耳鼻喉科, 广州 510080)

**[摘要]** 铜绿假单胞菌性角膜炎破坏力强、致盲率高。随着“后抗生素时代”的到来, 新的抗铜绿假单胞菌感染药物的研究迫在眉睫。抗毒力因子药物可选择性地遏制细菌的毒素表达、细菌黏附和免疫逃避, 在不影响细菌生长的前提下可降低细菌的毒性, 具有巨大的研究前景。弹性蛋白酶(Elastase)是铜绿假单胞菌中一种主要的毒力因子, Elastase抑制剂可有效降低铜绿假单胞菌的致病力, 帮助人体免疫系统有效清除病原菌, 是一种非常有前景的治疗策略。本文综述了铜绿假单胞菌Elastase及其抑制剂的研究进展, 为治疗铜绿假单胞菌眼科感染的新方法研究提供理论依据。

**[关键词]** 弹性蛋白酶; 铜绿假单胞杆菌; 毒力因子

## Research progress on Elastase as a therapeutic target for *Pseudomonas aeruginosa* ophthalmic infection

LI Ye<sup>1</sup>, HU Qinyuan<sup>1</sup>, ZHOU Min<sup>1</sup>, WANG Congyao<sup>1</sup>, LI Jian<sup>2</sup>, WAN Pengxia<sup>1</sup>

(1. Department of Ophthalmology; 2. Department of Otolaryngology, First Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, China)

**Abstract** With the advent of the “post-antibiotic era”, the research on new anti-*Pseudomonas aeruginosa* infection drugs is urgent. Anti-virulence factor drugs can selectively inhibit the toxin expression, bacterial adhesion and immune avoidance of bacteria, and reduce the toxicity of bacteria without affecting the growth of bacteria, which has a promising research prospect. Elastase is the main virulence factor of *Pseudomonas aeruginosa*, and Elastase inhibitors can effectively mitigate the toxicity of *Pseudomonas aeruginosa*, assist the body’s immune system to eliminate pathogen effectively, which is a promising therapeutic strategy. In this article, the research progress on the *Pseudomonas aeruginosa* Elastase and its inhibitors was reviewed, providing theoretical basis for the research of new therapeutic strategies of *Pseudomonas aeruginosa* ophthalmic infection.

**Keywords** Elastase; *Pseudomonas aeruginosa*; virulence factor

收稿日期 (Date of reception): 2020-05-13

通信作者 (Corresponding author): 万鹏霞, Email: wanpengx@mail.sysu.edu.cn

基金项目 (Foundation item): 国家药监局合作课题 (K0601300); 广东省药学会基金 (2019QX16)。This work was supported by the Cooperation Project of State Food and Drug Administration (K0601300) and Fund of Guangdong Pharmaceutical Society (2019QX16), China.

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)是一种常见的机会致病菌,是导致各种医院获得性感染的主要原因,也是眼科感染性致盲眼病的常见病原菌之一。近年来伴随着多重耐药性菌株的出现,临床治疗的难度大大增加,目前急需研发新的治疗方法及药物。铜绿假单胞菌的致病性取决于其产生的毒力因子对宿主的损伤作用,如弹性蛋白酶(Elastase)、碱性蛋白酶、鞭毛蛋白和外毒素A等<sup>[1-2]</sup>。随着人们对铜绿假单胞菌致病机制的深入研究,特异性抑制毒力因子逐渐成为一种很有前景的治疗方法,毒力因子抑制剂的发现也为有效治疗铜绿假单胞菌感染提供了新希望。

Elastase是一种铜绿假单胞菌主要的毒力因子,它通过水解蛋白和细胞外基质直接损伤宿主组织结构,破坏细胞间紧密连接损伤上皮屏障功能和降解IgA,补体蛋白和SP-A等免疫分子逃避机体免疫反应,对铜绿假单胞菌的致病性起至关重要的作用<sup>[3]</sup>。

作为铜绿假单胞菌主要的毒力因子,靶向Elastase研发新型抗毒力因子药物已成为近年来的研究热点。铜绿假单胞菌角膜炎发展速度快、致盲率高,Elastase抑制剂可有效降低铜绿假单胞菌的毒性,缓解病原菌对角膜组织的破坏,帮助人体免疫系统有效清除病原菌,最大程度地保护患者视力<sup>[4]</sup>,是一种非常有前景的治疗策略。

## 1 Elastase 的生物学特性

Elastase是一种由铜绿假单胞菌分泌到胞外的重要的毒力因子,分子质量为33 kD,属于金属蛋白酶家族。它的合成由*lasB*基因的表达调节,而*lasB*基因的表达由群体感应系统Las和Rhl调控<sup>[5]</sup>。Elastase的作用比较广泛,可水解内源肽疏水端的氨基酸残基。Elastase的致病机制主要是通过水解宿主体内的多种蛋白,调控宿主免疫反应和调节生物膜的形成。

### 1.1 Elastase 对组织蛋白的水解活性

Elastase通过降解层黏连蛋白、纤连蛋白、玻璃体结合蛋白、III和IV型胶原等细胞外基质蛋白造成宿主组织破坏,为铜绿假单胞菌生长提供营养<sup>[6]</sup>。同时,Elastase破坏细胞间紧密连接增加上皮通透性从而破坏上皮屏障功能<sup>[7-8]</sup>。研究<sup>[9]</sup>发现:Elastase可以通过激活蛋白激酶C信号通路使Occludin和ZO-1等紧密连接蛋白发生断裂,并诱导

细胞骨架重组,导致上皮屏障功能的破坏。在人鼻上皮细胞培养过程中,加入Elastase可短暂阻断气道上皮屏障,下调跨膜蛋白Claudin-1, Claudin-4, Occludin, Tricellulin,可短暂降低蛋白酶激活受体(PAR-2)的表达,但对紧密连接蛋白ZO-1, ZO-2, 黏附连接蛋白E-cadherin,  $\beta$ -catenin无明显影响;同时,此过程中PKC, MAPK, PI3K, p38, MAPK, JNK, COX-1, COX-2, NF- $\kappa$ B等不同的调控紧密连接蛋白的信号转导通路瞬时下调<sup>[10]</sup>。

### 1.2 Elastase 对宿主免疫反应的调控作用

Elastase通过降解先天免疫分子、加工细胞受体和炎症相关物质调控机体免疫反应。Elastase可降解先天和适应性免疫系统的许多组成部分,比如SP-A, SP-D和补体蛋白,以减少细胞的吞噬作用,为铜绿假单胞菌的入侵扫清了障碍<sup>[11-12]</sup>。同时,Elastase可使TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ 和MCP-1等细胞因子和趋化因子失活,从而调节炎症反应,破坏宿主的先天防御<sup>[13]</sup>。在铜绿假单胞菌引起的慢性感染性溃疡中,Elastase可裂解抗菌肽LL-37使其失活,抑制了抗菌肽与细菌的结合,从而抑制了其杀菌活性<sup>[14]</sup>。同时,在铜绿假单胞菌感染过程中,Elastase可水解尿激酶激活受体蛋白(uPAR),降低了细胞与尿激酶结合的能力,影响上皮细胞和白细胞的黏附和迁移,从而调节炎症反应<sup>[15]</sup>。

### 1.3 Elastase 调节生物膜的形成

铜绿假单胞菌生物膜的形成是造成其耐药性的关键原因,*lasB*过表达会干扰铜绿假单胞菌生物膜中细胞外多聚物的组成和理化性质,从而增加细胞外鼠李糖脂的浓度,导致鼠李糖脂和总碳水化合物含量升高,藻酸盐含量降低,生物膜疏水性和黏度增强,有助于初始微菌落和三维生物膜结构形成<sup>[16]</sup>。

综上,Elastase通过水解蛋白及细胞外基质破坏宿主正常组织结构与功能,逃避宿主免疫防御和调节生物膜形成在铜绿假单胞菌的发病过程发挥重要作用,Elastase抑制剂的开发具有一定治疗价值和巨大的研究前景。

## 2 毒力因子作为治疗靶点的研究现状

毒力因子是构成细菌毒力的主要物质,表示细菌致病能力的强弱<sup>[17]</sup>,以细菌毒力因子为靶点,针对性的抑制或阻断细菌毒力是最近建立

的抗微生物策略, 抗毒力因子药物被称为“第二代”抗生素<sup>[18]</sup>。

目前有很多研究者致力于抗毒力因子药物的研发, 并取得了一定的成果, 如抑制鼠伤寒沙门氏菌致病力的化合物LED209和抑制霍乱弧菌毒性的人工合成抑制剂Virstatin<sup>[19-20]</sup>。研究<sup>[21-22]</sup>发现: 丝氨酸蛋白酶抑制剂可用来治疗丙型肝炎<sup>[21]</sup>, 在高活性抗逆转录病毒治疗中引入天冬氨酸蛋白酶抑制剂, 可延长艾滋病感染者的生存期, 并改善其预后<sup>[22]</sup>。革兰阳性菌转肽酶SrtA是调控金黄色葡萄球菌致病力的重要蛋白质, 通过药物筛选和结构改造, 研究者找到全新结构的SrtA抑制剂, 有效地抑制SrtA的活性, 能够有效降低金黄色葡萄球菌的毒力。这类小分子化合物在体外不杀菌或者抑制耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的生长, 但是在动物模型中极大地提高了感染动物的生存率<sup>[23-24]</sup>。

### 3 Elastase 抑制剂的研究现状

#### 3.1 抗菌药物及临床常用药物

研究<sup>[25]</sup>发现: 亚抑菌浓度状态下[即药物浓度低于最低抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)]的红霉素显著抑制了Elastase等毒力因子的产生以及生物膜的形成, 使铜绿假单胞菌的致病性大大降低。1/2 MIC浓度的哌拉西林/三唑巴坦抑制铜绿假单胞菌的毒力因子、生物膜的形成和氧化应激反应的敏感性, 环丙沙星(1/4 MIC)在不影响铜绿假单胞菌生长的前提下, 可抑制铜绿假单胞菌泳动能力和Elastase等毒力因子的产生和生物膜的形成<sup>[26]</sup>, 提示 $\beta$ -内酰胺类、大环内酯类、氨基糖苷类和氟喹诺酮类等抗菌药物在发挥杀菌或抑菌活性的同时, 本身具有一定的抗炎作用, 且它能调控细菌毒力因子以及引起宿主防御反应, 相同的亚抑菌浓度下, 头孢他啶抑制作用强于环丙沙星, 阿奇霉素强于庆大霉素<sup>[27]</sup>。

阿司匹林作为临床常用的解热镇痛药, 在6 mg/mL浓度时不影响铜绿假单胞菌的生长, 显著抑制Elastase、绿脓菌素等毒力因子的产生<sup>[28]</sup>。黄藤素作为一种中成药, 具有抗菌活性, 亦被发现亚抑菌浓度状态下可抑制铜绿假单胞菌Elastase等毒力因子的产生<sup>[29]</sup>。驱虫药氯硝柳胺和降糖药——二甲双胍也可明显抑制铜绿假单胞菌Elastase等毒力因子合成及生物被膜形成<sup>[30]</sup>。

综上, 许多临床常用药物对Elastase酶活性具有抑制作用, 从而能够有效减弱铜绿假单胞菌的致病力, 提示临床上治疗铜绿假单胞菌感染合并其他疾病时, 在选择治疗其他疾病的药物时, 可以考虑其对铜绿假单胞菌毒力因子Elastase的抑制效果, 为临床用药提供了更多选择和依据, 但是未来临床应用仍需要进一步研究。

#### 3.2 螯合剂

由于Elastase属于金属肽酶类, 螯合剂能有效去除锌离子和钙离子以及与Elastase催化位点相互作用, 对其活性有较大的抑制作用<sup>[31]</sup>。目前主要应用的螯合剂是乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA), 其能有效阻断Elastase的蛋白水解活性, 但是螯合剂具有剧毒性, 临床应用仍需进一步研究。Ca-EDTA是一种毒性较低的螯合剂, 已被FDA批准应用于急性和慢性铅中毒。Ca-EDTA对铜绿假单胞菌产生的金属酶有较好的抑制作用, 特别是对Elastase具有显著的抑制作用。8  $\mu$ g/mL Ca-EDTA与人肺泡上皮细胞(A549)共培养, 能有效减弱铜绿假单胞菌上清液对其的毒性作用<sup>[32]</sup>。同时, 小鼠经鼻内接种铜绿假单胞菌上清液, 并接受100 mg/kg Ca-EDTA处理后, 存活率高于未处理组, 后者在120 h内死亡。

考虑到螯合剂对Elastase酶活性的抑制作用, 一些研究者通过将寡肽和金属螯合部分人工结合成新的潜在抑制剂, 氨基甲酸酯、磷酸基、硫醇和巯基乙酰基被报道具有显著的金属离子螯合能力, 如Cathcart等<sup>[33]</sup>通过筛选后发现金属螯合二肽N-mercaptoacetyl-Phe-Tyr-amide对Elastase酶活性具有明显的抑制作用, 且除了能抑制其对人工合成底物的降解, 对Elastase降解天然底物核苷二磷酸激酶(NDK)和IgG也有显著的抑制作用。同时, 巯基乙酰胺衍生物具有良好的抗Elastase作用, 能通过抑制活性位点抑制Elastase的水解作用<sup>[34]</sup>。

#### 3.3 群体感应系统抑制剂

铜绿假单胞菌通过分泌和感知群体感应信号分子启动群体感应系统, 调控毒力因子的产生。铜绿假单胞菌群体感应系统包括4个子系统: LAS系统、RHL系统、PQS系统和IQS系统。其中LAS系统可调控Elastase、碱性蛋白酶和外毒素的表达。RHL系统可调控鼠李糖脂的形成, 而PQS系

统可增强Elastase和绿脓菌素的表达<sup>[35]</sup>。事实上, QS各子系统对于毒力因子的调控机制错综复杂且相互交叉重叠, 各毒力因子是否单独由某个基因控制尚不明确, 仍需大量实验论证。

一些研究发现很多植物中提取的天然化合物因为其与QS信号分子结构类似, 通过人工改造结构后可发挥抑制群体感应系统的作用。呋喃酮类化合物是第1个被描述的群体感应分子, 其衍生物呋喃酮C-56能够减少胞外Elastase的表达和降低壳多糖酶的活性<sup>[36]</sup>, 但是这些药物的临床有效性和安全性还仍需进一步证实和研究。

### 3.4 植物提取物

许多植物提取物外具有抑制Elastase活性的功效, 其中研究较多的是大蒜素, 其可抑制铜绿假单胞菌Elastase等毒力因子表达, 减弱其毒力, 干扰生物膜分化成熟。并有临床研究<sup>[37]</sup>表明: 服用大蒜提取物可以显著改善肺囊性纤维化患者的肺功能、体重和症状评分。植物提取物有希望作为药物应用于临床抗感染治疗, 因此越来越多的国内外研究者致力于发现存在潜在Elastase抑制作用的植物提取物。近年来研究<sup>[38]</sup>发现茯苓提取物, 姜黄素和黄芩苷等植物提取物都具有Elastase抑制作用。但是这些研究几乎都只停留在体外实验, 植物提取物的成药可能性以及临床有效性和安全性仍需进一步证实和研究。

### 3.5 人工合成化合物和纳米技术

多种植物中提取的天然化合物因其与Elastase分子结构类似, 通过人工改造结构后, 可体外抑制Elastase酶活性。纳米技术是目前发展新型抗毒力因子的热点, 通过计算机辅助设计软件, 研究人员可以筛选出能够与靶蛋白特异性结合, 进而抑制信号分子的人工合成酶<sup>[39]</sup>。氧化锌纳米粒子(ZnO<sub>2</sub>-NPs)可有效抑制Elastase酶活性, 200 μg/mL ZnO<sub>2</sub>-NPs可完全抑制Elastase的水解作用, 并可促进皮肤伤口愈合, 减少溃疡的发生、发展。为降低纳米材料的毒性, 从植物提取物中提取生物分子与金属离子的结合在纳米材料的生物合成中得到了广泛的研究。由于金属离子的稳定性, 生物纳米化合物的制备提高了纳米化合物的安全性和稳定性。NS-ZnNPs是一种从黑种草籽萃取合成的生物纳米化合物, 它可以有效抑制铜绿假单胞菌

的群体感应系统, 减少Elastase的产生, 从而减弱铜绿假单胞菌的致病力<sup>[40]</sup>。高度生物相容的G-Ag NPs的基质内给药显著减轻了兔眼金黄色葡萄球菌诱导的细菌性角膜炎和细菌感染诱导的角膜新生血管形成, 但是对于铜绿假单胞菌角膜炎的治疗效果有待于进一步研究<sup>[41]</sup>。纳米技术的应用有利于新型抗毒力因子药物的研发, 但是其临床应用的有效性及其安全性仍需进一步研究。

## 4 结语

随着耐药菌株的出现, 新的抗铜绿假单胞菌感染药物的研究越来越紧迫, 抗细菌毒力因子的治疗策略提供了一个新的对抗细菌感染的治疗方法, 这种治疗方式不直接杀死细菌, 而是解除其武装或削弱细菌的毒力, 帮助人体的免疫系统有效清除病原菌, 不仅对细菌具有很小的选择压力, 不易产生耐药菌株, 并且对人体正常菌群影响较小<sup>[42-44]</sup>, 具有巨大的研究前景。作为铜绿假单胞菌主要的毒力因子, Elastase在铜绿假单胞菌毒力中的关键作用使其成为开发抑制剂作为抗微生物剂的潜在靶标。Elastase抑制剂可以与抗生素联合使用, 以最大限度地发挥抗菌作用, 减弱铜绿假单胞菌的致病力, 改善临床上铜绿假单胞菌感染患者的预后<sup>[45-46]</sup>。目前已有一种Elastase抑制剂吸入制剂进入临床前期试验, 用于治疗囊性纤维化患者慢性铜绿假单胞菌感染, 现已进入临床试验的第一阶段<sup>[47]</sup>。早期Burns等<sup>[48]</sup>的研究证实了Elastase抑制剂治疗铜绿假单胞菌角膜炎动物模型的有效性, 同时发现人工合成的Elastase抑制剂膦酰二肽对Elastase也有较强的抑制作用, 并将Elastase酶溶液与磷酸胺共接种至兔眼, 可使弹力酶相关性角膜损伤延迟12 h<sup>[49]</sup>。Kawaharajo等<sup>[50]</sup>将人工合成巯基乙酰胺衍生物制成眼药水剂型用来治疗铜绿假单胞菌性角膜炎, 并获得了专利, 但是由于存在安全性不足等局限性, Elastase抑制剂的药物开发仍需进一步研究。尽管靶向Elastase研发抗毒力因子药物治疗铜绿假单胞菌感染是一个非常具有前景的治疗策略, 但是Elastase抑制剂的药物研究才刚刚开始, 在眼科方面应用相对较少, 它的临床应用仍然需要很长一段路要走, 相信随着对铜绿假单胞菌致病机制的深入了解, 我们能有效应对“后抗生素”时代的到来。

## 参考文献

1. Newman JW, Floyd RV, Fothergill JL. The contribution of *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors and host factors in the establishment of urinary tract infections[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2017, 364(15).
2. Strateva T, Mitov I. Contribution of an arsenal of virulence factors to pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa* infections[J]. *Ann Microbiol*, 2011, 61(4): 717-732.
3. Golovkine G, Reboud E, Huber P. *Pseudomonas aeruginosa* takes a multi-target approach to achieve junction breach[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2017, 7: 532.
4. Kessler E, Spierer A. Inhibition by phosphoramidon of *Pseudomonas aeruginosa* elastase injected intracorneally in rabbit eyes[J]. *Curr Eye Res*, 1984, 3(8): 1075-1078.
5. Pearson JP, Pesci EC, Iglewski BH. Roles of *Pseudomonas aeruginosa* las and rhl quorum-sensing systems in control of elastase and rhamnolipid biosynthesis genes[J]. *J Bacteriol*, 1997, 179(18): 5756-5767.
6. Galdino ACM, de Oliveira MP, Ramalho TC, et al. Anti-virulence strategy against the multidrug-resistant bacterial pathogen *Pseudomonas aeruginosa*: Pseudolysin (Elastase B) as a potential druggable target[J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2019, 20(5): 471-487.
7. Azghani AO, Miller EJ, Peterson BT. Virulence factors from *Pseudomonas aeruginosa* increase lung epithelial permeability[J]. *Lung*, 2000, 178(5): 261-269.
8. Cowell BA, Twining SS, Hobden JA, et al. Mutation of lasA and lasB reduces *Pseudomonas aeruginosa* invasion of epithelial cells[J]. *Microbiology*, 2003, 149(Pt 8): 2291-2299.
9. Clark CA, Thomas LK, Azghani AO. Inhibition of protein kinase C attenuates *Pseudomonas aeruginosa* elastase-induced epithelial barrier disruption[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011, 45(6): 1263-1271.
10. Nomura K, Obata K, Keira T, et al. *Pseudomonas aeruginosa* elastase causes transient disruption of tight junctions and downregulation of PAR-2 in human nasal epithelial cells[J]. *Respir Res*, 2014, 15(1): 21.
11. Saint-Criq V, Villeret B, Bastaert F, et al. *Pseudomonas aeruginosa* LasB protease impairs innate immunity in mice and humans by targeting a lung epithelial cystic fibrosis transmembrane regulator-IL-6-antimicrobial-repair pathway[J]. *Thorax*, 2018, 73(1): 49-61.
12. Bastaert F, Kheir S, Saint-Criq V, et al. *Pseudomonas aeruginosa* LasB subverts alveolar macrophage activity by interfering with bacterial killing through downregulation of innate immune defense, reactive oxygen species generation, and complement activation[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1675.
13. Kon Y, Tsukada H, Hasegawa T, et al. The role of *Pseudomonas aeruginosa* elastase as a potent inflammatory factor in a rat air pouch inflammation model[J]. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 1999, 25(3): 313-321.
14. Stempel N, Neidig A, Nusser M, et al. Human host defense peptide LL-37 stimulates virulence factor production and adaptive resistance in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e82240.
15. Leduc D, Beaufort N, de Bentzmann S, et al. The *Pseudomonas aeruginosa* LasB metalloproteinase regulates the human urokinase-type plasminogen activator receptor through domain-specific endoproteolysis[J]. *Infect Immun*, 2007, 75(8): 3848-3858.
16. Yu H, He X, Xie W, et al. Elastase LasB of *Pseudomonas aeruginosa* promotes biofilm formation partly through rhamnolipid-mediated regulation[J]. *Can J Microbiol*, 2014, 60(4): 227-235.
17. Cegelski L, Marshall GR, Eldridge GR, et al. The biology and future prospects of antivirulence therapies[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2008, 6(1): 17-27.
18. Rasko DA, Sperandio V. Anti-virulence strategies to combat bacteria-mediated disease[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2010, 9(2): 117-128.
19. Zhou Z, Chen T, Mei N, et al. LED 209 conjugated chitosan as a selective antimicrobial and potential anti-adhesion material[J]. *Carbohydr Polym*, 2019, 206: 653-663.
20. Wang H, Silva AJ, Benitez JA. 3-Amino 1,8-naphthalimide, a structural analog of the anti-cholera drug virstatin inhibits chemically-biased swimming and swarming motility in vibrios[J]. *Microbes Infect*, 2017, 19(6): 370-375.
21. Suleman L. Extracellular bacterial proteases in chronic wounds: a potential therapeutic target?[J]. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 2016, 5(10): 455-463.
22. Quinn TC. HIV epidemiology and the effects of antiviral therapy on long-term consequences[J]. *AIDS*, 2008, 22(Suppl 3): S7-S12.
23. Kantyka T, Plaza K, Koziel J, et al. Inhibition of *Staphylococcus aureus* cysteine proteases by human serpin potentially limits staphylococcal virulence[J]. *Biol Chem*, 2011, 392(5): 483-489.
24. Chojnacki M, Philbrick A, Wucher B, et al. Development of a broad-spectrum antimicrobial combination for the treatment of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* corneal infections[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2018, 63(1): e01929-18.
25. Sakata K, Yajima H, Tanaka K, et al. Erythromycin inhibits the production of elastase by *Pseudomonas aeruginosa* without affecting its proliferation in vitro[J]. *Am Rev Respir Dis*, 1993, 148(4 Pt 1): 1061-1065.
26. Imperi F, Massai F, Ramachandran Pillai C, et al. New life for an old drug: the anthelmintic drug niclosamide inhibits *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57(2): 996-1005.
27. Gupta P, Chhibber S, Harjai K. Subinhibitory concentration of ciprofloxacin targets quorum sensing system of *Pseudomonas*

- aeruginosa causing inhibition of biofilm formation & reduction of virulence[J]. *Indian J Med Res*, 2016, 143(5): 643-651.
28. El-Mowafy SA, Abd El Galil KH, El-Messery SM, et al. Aspirin is an efficient inhibitor of quorum sensing, virulence and toxins in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Microb Pathog*, 2014, 74: 25-32.
29. Rodriguez-Esteban R. A drug-centric view of drug development: how drugs spread from disease to disease[J]. *PLoS Comput Biol*, 2016, 12(4): e1004852.
30. Abbas HA, Elsherbini AM, Shaldam MA. Repurposing metformin as a quorum sensing inhibitor in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Afr Health Sci*, 2017, 17(3): 808-819.
31. Kocabiyyik S, Ergin E, Turkoglu S. Effects of metals on elastase from *Pseudomonas aeruginosa* SES-938-1[J]. *Biol Trace Elem Res*, 1995, 50(1): 25-31.
32. Aoki N, Ishii Y, Tateda K, et al. Efficacy of calcium-EDTA as an inhibitor for metallo- $\beta$ -lactamase in a mouse model of *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54(11): 4582-4588.
33. Cathcart GR, Quinn D, Greer B, et al. Novel inhibitors of the *Pseudomonas aeruginosa* virulence factor LasB: a potential therapeutic approach for the attenuation of virulence mechanisms in pseudomonal infection[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55(6): 2670-2678.
34. Kany AM, Sikandar A, Haupenthal J, et al. Binding mode characterization and early in vivo evaluation of fragment-like thiols as inhibitors of the virulence factor LasB from *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *ACS Infect Dis*, 2018, 4(6): 988-997.
35. Pérez-Pérez M, Jorge P, Pérez Rodríguez G, et al. Quorum sensing inhibition in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: new insights through network mining[J]. *Biofouling*, 2017, 33(2): 128-142.
36. Manefield M, Rasmussen TB, Henzter M, et al. Halogenated furanones inhibit quorum sensing through accelerated LuxR turnover[J]. *Microbiology*, 2002, 148(Pt 4): 1119-1127.
37. Xu Z, Zhang H, Yu H, et al. Allicin inhibits *Pseudomonas aeruginosa* virulence by suppressing the Rhl and PQS quorum-sensing systems[J]. *Can J Microbiol*, 2019, 65(8): 563-574.
38. Chu W, Zhou S, Jiang Y, et al. Effect of traditional Chinese herbal medicine with anti-quorum sensing activity on *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 648257.
39. Ali SS, Morsy R, El-Zawawy NA, et al. Synthesized zinc peroxide nanoparticles (ZnO<sub>2</sub>-NPs): a novel antimicrobial, anti-elastase, anti-keratinase, and anti-inflammatory approach toward polymicrobial burn wounds[J]. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12: 6059-6073.
40. Al-Shabib NA, Husain FM, Ahmed F, et al. Biogenic synthesis of Zinc oxide nanostructures from *Nigella sativa* seed: prospective role as food packaging material inhibiting broad-spectrum quorum sensing and biofilm[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 36761.
41. Luo LJ, Lin TY, Yao CH, et al. Dual-functional gelatin-capped silver nanoparticles for antibacterial and antiangiogenic treatment of bacterial keratitis[J]. *J Colloid Interface Sci*, 2019, 536: 112-126.
42. Alipour M, Suntres ZE, Lafrenie RM, et al. Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors and biofilms by co-encapsulation of bismuth-ethanedithiol with tobramycin in liposomes[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2010, 65(4): 684-693.
43. Prithiviraj B, Bais HP, Weir T, et al. Down regulation of virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* by salicylic acid attenuates its virulence on *Arabidopsis thaliana* and *Caenorhabditis elegans*[J]. *Infect Immun*, 2005, 73(9): 5319-5328.
44. Tamura Y, Suzuki S, Sawada T. Role of elastase as a virulence factor in experimental *Pseudomonas aeruginosa* infection in mice[J]. *Microb Pathog*, 1992, 12(3): 237-244.
45. Marvig RL, Sommer LM, Molin S, et al. Convergent evolution and adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* within patients with cystic fibrosis[J]. *Nat Genet*, 2015, 47(1): 57-64.
46. LaFayette SL, Houle D, Beaudoin T, et al. Cystic fibrosis-adapted *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing lasR mutants cause hyperinflammatory responses[J]. *Sci Adv*, 2015, 1(6): e1500199.
47. Folkesson A, Jelsbak L, Yang L, et al. Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to the cystic fibrosis airway: an evolutionary perspective[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2012, 10(12): 841-851.
48. Burns FR, Paterson CA, Gray RD, et al. Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* elastase and *Pseudomonas* keratitis using a thiol-based peptide[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1990, 34(11): 2065-2069.
49. Spierer A, Kessler E. The effect of 2-mercaptoacetyl-L-phenylalanyl-L-leucine, a specific inhibitor of *Pseudomonas aeruginosa* elastase, on experimental *Pseudomonas* keratitis in rabbit eyes[J]. *Curr Eye Res*, 1984, 3(4): 645-650.
50. Kawaharajo K, Homma JY, Aoyagi T, et al. Effect of phosphoramidon on protection against corneal ulcer caused by elastase and protease from *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Jpn J Exp Med*, 1982, 52(5): 271-272.

本文引用: 李晔, 胡沁媛, 周敏, 王聪尧, 李健, 万鹏霞. Elastase作为靶点在铜绿假单胞菌眼科感染治疗中的研究进展[J]. *眼科学报*, 2020, 35(3): 186-191. doi: 10.3978/j.issn.1000-4432.2020.07.05

Cite this article as: LI Ye, HU Qinyuan, ZHOU Min, WANG Congyao, LI Jian, WAN Pengxia. Research progress on Elastase as a therapeutic target for *Pseudomonas aeruginosa* ophthalmic infection[J]. *Yan Ke Xue Bao*, 2020, 35(3): 186-191. doi: 10.3978/j.issn.1000-4432.2020.07.05