

抗菌奈米敷料於老人長期照護

Antibacterial Nanomaterials for Elderly Long-Term Care

李郁佳、魏士鈞、黃志清

Yu-Jia Li, Shih-Chun Wei, Chih-Ching Huang

老人長期照護為現代高齡化社會問題，而慢性傷口照護則是老人長照重要課題之一。在醫學日益增進的時代，許多抗生素與抗菌產品普遍，有效改善細菌所造成的慢性傷口危害，但伴隨著抗生素濫用，多重抗藥性細菌治療已變成首要問題之一。所以開發嶄新的抗菌材料變相當重要，隨著奈米技術的快速發展，可藉由奈米材料之特性發展出功能性抗菌材料以增加抗菌效果。本團隊以奈米抗菌劑作為主軸開發抗菌胜肽修飾之金奈米點及高正電碳奈米點，可有效應用於細菌感染的傷口治療。

Long-term elderly health care is a major concern in the present world with the rapidly increasing ageing population. Chronic wound healing and management is an important issue in the long-term care for the elderly. Nowadays, many antibiotics and antibacterial products are used effectively in wound management to reduce the health hazards caused by bacterial infection. However, the ability of bacteria to develop resistance against multiple drugs leading the evolution of multi-drug resistant strains has become a serious world-wide public health problem, due to the abuse of antibiotics. Thus, there is an urgent need to develop new types of antibacterial materials that can combat multi-drug resistant bacteria. Recently, some nanomaterials have been shown to exhibit unique antimicrobial activities. We have successfully developed gold- and carbon-based nanomaterials for antibacterial wound dressing to treat multi-drug resistant bacterial strains.

一、老人慢性病及其併發傷口問題

長期照護是針對行動功能或認知受損，導致日常生活無法自理而需依賴他人者，提供長期生活照護與醫療之支持系統⁽¹⁾。根據世界衛生組織定義高齡化社會為一個國家65歲以上老年人口占總人口7%以上⁽²⁾。我國內政部統計處數據顯示，去年2月台灣地區65歲以上老年人口已大於14歲以下兒童人口，而今年老年人口占總人口比率已高達

14%。隨著人口快速老化，衰老或身心功能障礙的人口也與日俱增，造成長期照護的需求激增。老年人隨著年齡增加，身體機能隨之下降，老人患病機率及種類也隨之增加，時至今日老人至少一種慢性疾病罹患率高達75%以上⁽³⁾。其中以心血管疾病最為常見(表1)，然而慢性病多半伴隨其他併發症，其中慢性傷口是最為常見的課題。然而傷口癒合為連續且動態的複雜生理過程，大略分為凝血期(hemostasis)、發炎期(inflammation)、增生

表 1.

2011 年 65 歲以上老人常見慢性
性病盛行率 (前五項慢性病)。

病症	男性	女性	平均
高血壓	50.9%	56.3%	53.6%
白內障	46.8%	58.1%	52.5%
心臟病	25.2%	30.5%	27.9%
風濕或關節炎	16.2%	30.7%	23.5%
糖尿病	19.4%	23.3%	21.4%

期 (proliferation) 及重塑期 (remodeling)。不同於一般急性傷口，若傷口 6-8 週內沒有癒合即為慢性傷口⁽⁴⁾。慢性傷口經常是慢性病及異常新陳代謝產生癒合延遲或完全停滯，多為停滯於發炎期及增生期。常見慢性傷口類型為壓瘡 (decubital ulcers)、下肢潰瘍 (leg ulcers) 及糖尿病足部症候群 (diabetic foot ulcers) (圖 1)。

壓瘡為皮膚與組織因長時間受到壓力磨擦刺激造成組織缺氧壞死，易出現於骨頭突起處，好發於長期臥床或行動不便的病人，約三分之一發生過褥瘡。然而伴隨年紀增長皮膚彈性衰退及循環能力差，皮下脂肪層減少皮膚變薄，抵抗壓力亦差，壓瘡的發生率也會隨之年齡提高。壓瘡處理不良往往造成傷口數週未見癒合，甚至感染而罹患敗血症、

截肢或死亡。數據指出，台灣每年平均有 6 萬人死於褥瘡和其併發的傷口感染⁽⁵⁾。

下肢潰瘍一般分為兩種成因，一為動脈潰瘍 (arterial ulcers)，主要發生於下肢外側或足部，多因患者本身患有三高或糖尿病，隨病程誘發周邊動脈血管粥狀硬化，導致末端血管灌流不足，進而組織壞死潰瘍；另一為靜脈潰瘍 (venous ulcers)，發生於下肢內側，經常患有嚴重靜脈曲張問題，導致靜脈血淤積、養份無法傳遞及血管擴張扭曲，這時就會血管發炎、血管週邊組織發炎壞死並潰瘍⁽⁶⁾。

糖尿病足部症候群如同動脈潰瘍會因病程誘發周邊動脈血管粥狀硬化造成下肢組織壞死。另外，長期處於高血糖狀態而造成多核白血球功能異常、減少白血球趨化、減低免疫吞噬及細胞內殺菌能

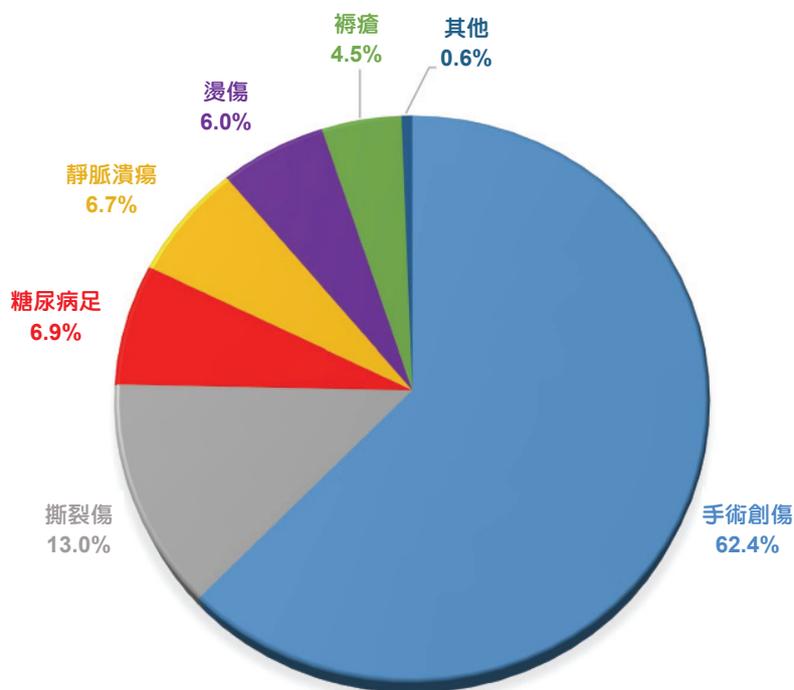


圖 1. 全球傷口照護約 1.65 億件，其應用類別占比。

資料來源：MedMarket Diligence: 工研院 IEK (2015/07)。

力，更加提高傷口感染機率。甚至於長年糖尿病導致神經病變以致於壓痛覺喪失影響下肢活動，導致下肢結構變形及不適當負重，故若有傷口且又不自主檢查便很難察覺⁽⁷⁾。據統計指出，九成糖尿病患者因糖尿病足部症候群而需接受小腿截肢。

綜述不同成因造成的慢性傷口皆具有同樣的特性如延長或過度的發炎、傷口感染、形成生物膜 (biofilm)、產生抗藥菌種甚至減緩傷口癒合能力。然而傷口若被細菌感染，其本身及其分泌物會誘發發炎反應且其分泌酵素會降解細胞因子 (cytokine) 或是分泌之毒素造成傷口細胞壞死，進而可能增殖形成生物膜或是於療程中產生抗藥菌種，更加延遲傷口癒合。如若開發抗菌、不會產生抗藥性且不會引起過敏反應的藥物便可有效應用於慢性傷口照護。

二、已發展之奈米抗菌劑

儘管人們生活在醫療與科技進步的時代，已開發許多抗菌及抑菌藥物，傳染病仍然是最大的健康危害之一，但常規的抗生素現今遇到的問題往往是不良的副作用與多重抗藥性菌種的出現。為抑制多重抗藥性菌種的感染而使用高劑量的抗生素，同時也造成生物毒性的產生。然而新的抗生素研發需要大量的時間與資金，卻仍趕不上微生物之發展 (突變) 速度。因此，對於研發非傳統之抗菌劑用來克服抗藥性致病微生物是必然的。隨著奈米技術的快速發展，可藉由奈米材料之特性或做為奈米載體搭功能性抗菌劑以增加抗菌效果已成功用於體外與動物模型之感染治療⁽⁸⁾，故以奈米材料為基礎之抗菌劑，有潛力應用於治療具有多重抗藥性細菌所造成之臨床問題。

近年來，金屬奈米材料由於其特殊的抗菌活性及有別於傳統抗生素之抗菌機制而受到廣泛的探討⁽⁹⁾。奈米材料之抑菌活性歸功於其較大的表面積，使奈米粒子能夠與細菌細胞膜緊密結合而破壞菌膜的完整性⁽¹⁰⁾。其中氧化鋅奈米粒子可破壞菌膜的脂質和蛋白質⁽¹¹⁾，導致菌膜內物質的洩漏，最終導致細菌死亡，且因具有良好的生物相容性與低的生物毒性，使其廣泛的應用

於化妝品、醫療填充材料、農產品和食品。此外，銀奈米粒子除影響細菌呼吸鏈與複製外，同時所釋放的銀離子 (Ag^+) 亦具有廣效的抗菌活性⁽¹²⁾，因此，摻有銀元素的抗菌奈米材料已經被大量使用在傷口敷料、醫療器械和織物塗層、奈米凝膠等產品上⁽¹³⁾。其他奈米粒子，如氧化銅、氧化鐵奈米粒子被攝入並累積於細菌中，會催化芬頓反應 (Fenton's reaction) 而於細菌中催化 H_2O_2 產生活性氧物質 (reactive oxygen species, ROS)，造成氧化壓力上升達到抑菌的效果⁽¹⁴⁾。由於奈米粒子之複雜的抑菌機制，包括造成呼吸鏈的損害、使蛋白質失活、阻礙胺基酸及 DNA 的合成以抑制細胞功能，以及破壞細菌細胞膜的結構 (圖 2)，使得奈米材料已成為對抗多重抗藥性細菌的新興材料。然而，由於上述金屬或金屬氧化物的奈米材料具有生物累積的風險，可能會對人類細胞產生生物毒性⁽¹⁵⁾，在使用上仍有許多風險存在。

為了克服此問題，以碳組成的奈米材料包括奈米碳管、石墨烯及碳量子點等的研究近年來蓬勃發展，其優點包括了具有良好的化學穩定性、低成本、生物相容性高、低生物毒性且生物易代謝等⁽¹⁶⁾。其中奈米碳管於抗菌效果良好⁽¹⁷⁾，其吸附細菌後會以氧化菌膜方式達到抗菌之功效，並已應用於過濾器之濾芯。此外，若搭配近紅外光照射，可達到更好的光熱抑菌之治療⁽¹⁸⁾。近期，具光致發光特性的碳量子點 (carbon quantum dots, CQDs) 受相當矚目，具有特殊的螢光性質、尺寸極小、易合成、低生物毒性以及良好的分散性等特性⁽¹⁹⁾，提供了其於生物醫學工程與感測技術中的應用潛力，如檢測重金屬離子⁽²⁰⁾、細胞的螢光標定與顯影⁽²¹⁾及抗腫瘤治療的藥物運輸⁽²²⁾等。儘管碳量子點容易修飾亦具有良好的生物相容性，碳量子點應用於抑菌方面的研究於最近才興起，常見的抑菌機制為在有添加 H_2O_2 或處於光刺激的環境下，藉著 ROS 誘導產生的氧化壓力而達到抑菌的效果。然而，添加 H_2O_2 或藉由光刺激等較為複雜的治療方式，可能會對較敏感的組織造成傷害。因此發展不需藉額外步驟活化且具有抗菌能力的碳量子點是目前迫切需要解決的問題。另外，超小金奈米粒子 (< 5 nm) 因高生物相容性，且表面易修飾活性物質，故也是抗菌材料的一個很好選項。

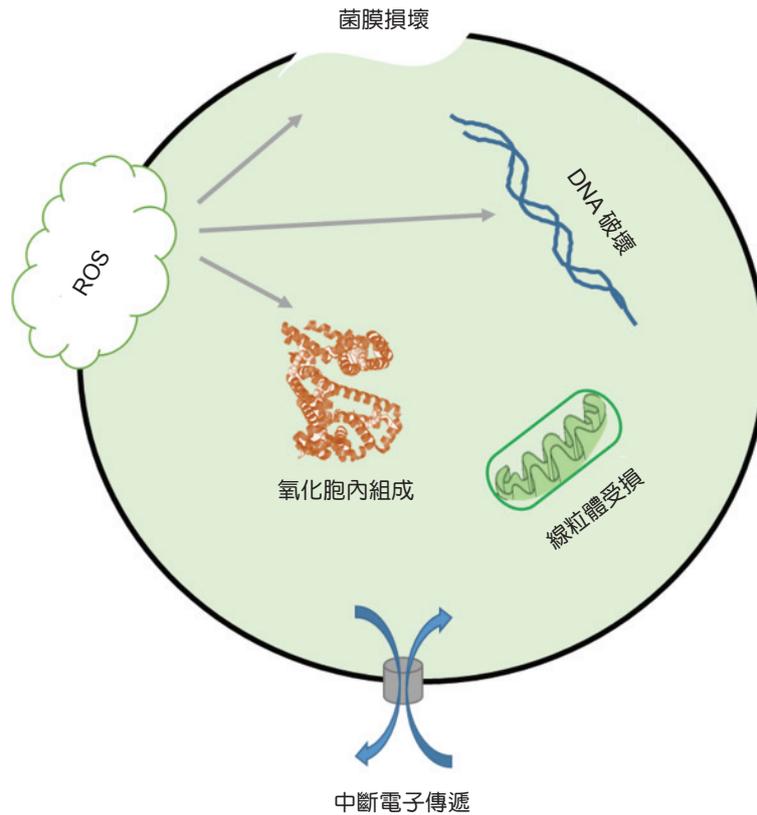


圖2. 奈米材料抑菌機制示意圖。

三、奈米敷材與其抗菌應用

小尺寸之金奈米材料具有高穩定且低毒性特性，因此可製備生物功能化金奈米粒子作為核心，相關研究已成功將寡核苷酸、胜肽和寡糖修飾於金奈米粒子，使此類材料具有發光或催化之特性，並被證明應用於生物傳感、細胞標記和腫瘤治療上⁽²³⁾。本團隊於過去研究中，結合抗菌胜肽 (surfactin, SFT) 和十二烷硫醇 (dodecanethiol, DT) 蝕刻和共沉積雜交於金奈米點 (gold nanodots, Au NDs, 約 3.2 nm)，製成一高效的超小型抗菌劑 SFT/DT-Au NDs。Au NDs 表面之高密度 SFT 除了幫助其光致發光特性和穩定性，同時具有抗微生物活性的能力⁽²⁴⁾。對於非耐藥細菌與多重耐藥細菌，藉由 SFT 和 DT-Au NDs 對細菌膜破壞的協同作用，使其相較於 SFT 更顯示出高的抗微生物活性 (圖 3)，且 SFT/DT-Au NDs 的最小抑制濃度值相較 SFT 低 (> 80 倍)。體外細胞毒性和溶血分析

顯示 SFT/DT-Au NDs 的生物相容性優於 SFT。此外，於耐甲氧西林金黃色葡萄球菌感染的傷口癒合研究中，使用 SFT/DT-Au NDs 作為敷料材料時，可有效抑制傷口上的菌的生長，明顯提升了傷口癒合與上皮形成，並且更有效的產生膠原蛋白纖維。SFT/DT-Au NDs 有潛力於臨床應用抗微生物感染之治療傷口和皮膚感染。

此外，亦利用二步熱裂解的方式合成亞精胺 (spermidine) 修飾 CQDs (Spd-CQDs) 之抑菌材料⁽²⁵⁾。亞精胺為生物不可或缺的調節劑，廣泛分佈在生物體內，是由腐胺 (丁二胺) 和腺苷甲硫氨酸所合成的，可抑制神經元 NO 合成酶 (nNOS)，結合並沉澱 DNA，也可用於純化 DNA 結合蛋白，刺激 T4 聚核苷酸激酶活性。藉由 CQDs 上胺基分子帶有正電，與細菌之細胞膜結合，進而造成細菌穿孔死亡，以達到殺菌之功效。Spd-CQDs 可有效抑制大腸桿菌、金黃色葡萄球菌、枯草桿菌、綠膿桿菌及抗藥性金黃色葡萄球菌。且於抗藥性金黃

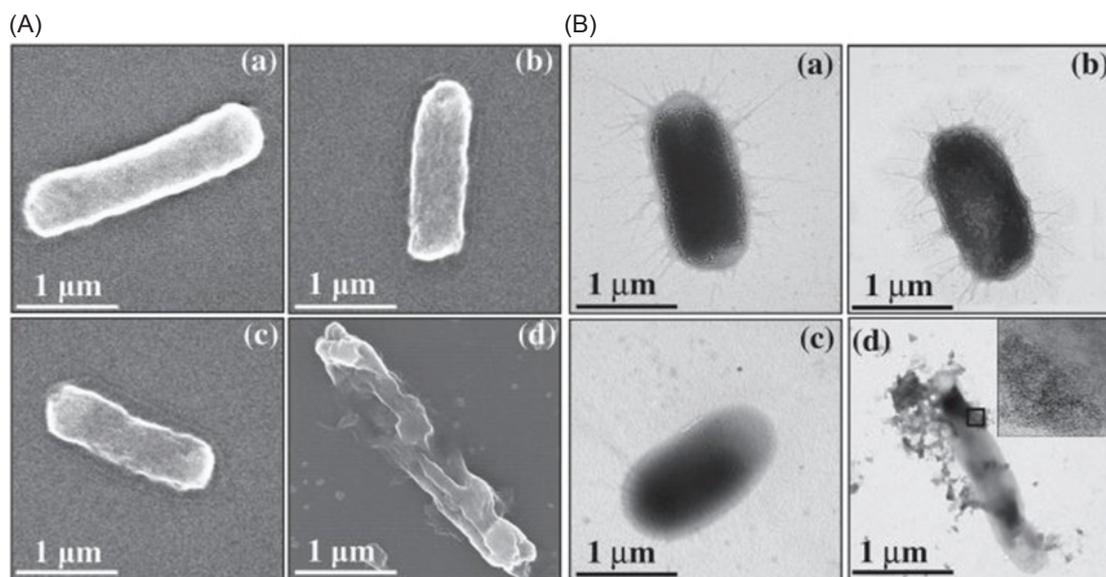


圖3. (A) 掃描式電子顯微鏡與 (B) 穿透式電子顯微鏡之大腸桿菌圖。分別為 (a) 未與任何材料作用之大腸桿菌及與 (b) SFT、(c) DT-Au NDs 和 (d) SFT/DT-Au NDs 作用後情形。

色葡萄球菌感染之大鼠傷口癒合研究中，以 Spd-CQDs 作為敷料時，不僅提供了良好的抑菌效果，同時亦具有回復傷口周遭上皮與膠原組織之功效 (圖 4)。此外，藉由亞精胺以一步碳化方式使碳量子點 (CQD_{spds}) 藉著亞精胺特殊電性與細菌之細胞膜結合，進而造成細菌穿孔死亡，以達到殺菌之功效⁽²⁶⁾。

四、結論

綜上而言，老人傷口照護是長期照護中重要的一環，不論是疾病引起或是本身老化皆易形成慢性傷口，而避免傷口感染則是避免傷口惡化的關鍵。此外，慢性傷口為抗藥性菌種的溫床。而本團隊成功開發出抗菌胜肽修飾之金奈米點及高正電碳奈米點可廣泛抑制不同菌種且應用於抗藥性金黃色葡萄球菌感染之大鼠傷口癒合，具有極大的潛力作為傷口照護中對抗感染之抑菌敷材。

參考文獻

1. L. Shi and D. Singh, *Essentials of the U.S. Health Care System*, 4th ed. Burlington: Jones & Bartlett Learning, (2015).
2. *Global Health and Aging*, Geneva: World Health Organization.
3. 衛生保健社區調查作業中心, 台灣中老年身心社會生活狀況長期追蹤 (第七次) 調查, 臺北: 衛生福利部國民健康署, (2014).
4. R. F. Diegelmann and M. C. Evans, *Front. Biosci.*, **9**, 283 (2004).
5. 陳淑芬, 超音波快速傷口癒合術, 臺北: 禪天下雜誌, (2016).
6. J. C. Tang, W. A. Marston and R. S. Kirsner, *Wound Repair Regen.*, **20**, 619 (2012).
7. C. H. Brimson and Y. Nigam, *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, **27**, 411 (2013).
8. P. Jagtap, V. Sritharan and S. Gupta, *Nanomedicine*, **13**, 329 (2017).
9. C.-W. Chen, C.-Y. Hsu, S.-M. Lai, W.-J. Syu, T.-Y. Wang and P.-S. Lai, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **78**, 88 (2014).
10. M. J. Hajipour, K. M. Fromm, A. A. Ashkarran, D. J. de Aberasturi, I. R. de Larramendi, T. Rojo, V. Serpooshan, W. J. Parak and M. Mahmoudi, *Int. J. Nanomed.*, **30**, 499 (2012).
11. A. Sirelkhatim, S. Mahmud, A. Seeni, N. H. M. Kaus, L. C. Ann, S. K. M. Bakhori, H. Hasan and D., *Mohamad, Nano Micro Lett.*, **7**, 219 (2015).
12. B. Le Ouay and F. Stellacci, *Nano Today*, **10**, 339 (2015).
13. M. Ishihara, V. Q. Nguyen, Y. Mori, S. Nakamura and H. Hattori, *Int. J. Mol. Sci.*, **16**, 13973 (2015).
14. H. A. Hemeg, *Int. J. Nanomedicine.*, **12**, 8211 (2017).
15. F. Zhao, H. Meng, L. Yan, B. Wang and Y. Zhao, *Sci. Bull.*, **60**, 3 (2015).
16. J. Wen, Y. Xu, H. Li, A. Lu and S. Sun, *Chem. Commun.*, **51**, 11346 (2015).
17. H. Chen, B. Wang, D. Gao, M. Guan, L. Zheng, H. Ouyang, Z. Chai, Y. Zhao and W. Feng, *Small*, **9**, 2735 (2013).
18. J. W. Kim, E. V. Shashkov, E. I. Galanzha, N. Kotagiri and

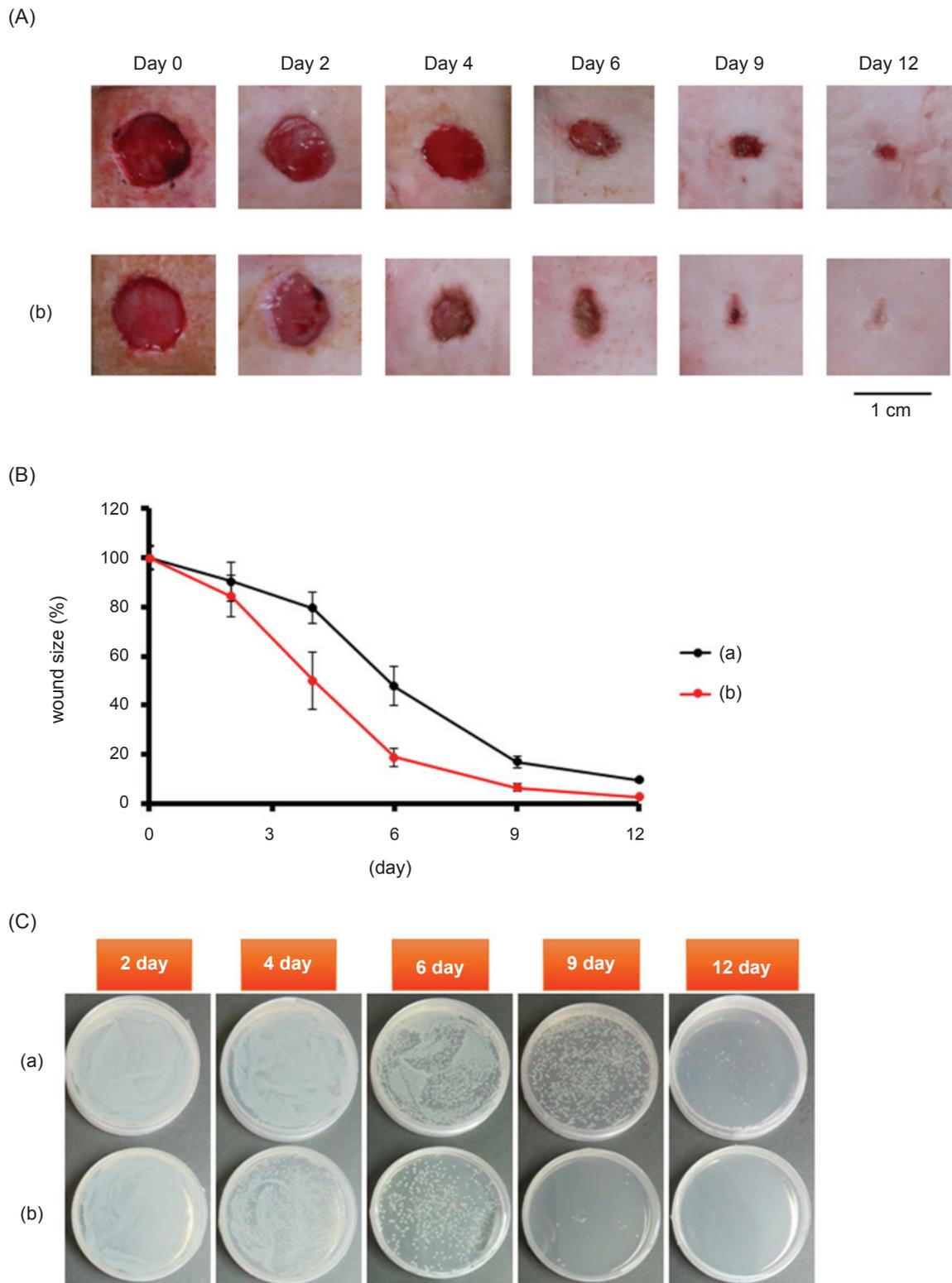


圖 4. Spd-CQDs 治療細菌感染傷口之 (A) 傷口癒合圖、(B) 傷口面積統計圖及 (C) 傷口組織液細菌培養圖。敷料分別為 (a) 生理食鹽水對照組及 (b) Spd-CQDs 實驗組。

- Zharov V. P. *Lasers Surg. Med.*, **39**, 622 (2007).
19. P. Roy, P.-C. Chen, A. P. Periasamy, Y.-N. Chen and H.-T. Chang, *Mater. Today*, **18**, 447 (2015).
20. C. Li, W. Liu, Y. Ren, X. Sun, W. Pan and J. Wang, *Sens. Actuator B-Chem.*, **240**, 941 (2017).
21. J. H. Liu, L. Cao, G. E. LeCroy, P. Wang, M. J. Mezziani, Y. Dong, Y. Liu, P. G. Luo and Y. P. Sun, *ACS Appl. Mater. Interfaces.*, **7**, 19439 (2015).
22. T. Feng, X. Ai, G. An, P. Yang and Y. Zhao, *ACS Nano*, **10**, 4410 (2016).
23. Y. Zheng, L. Lai, W. Liu, H. Jiang and X. Wang, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **242**, 1 (2017).
24. W.-Y. Chen, H.-Y. Chang, J.-K. Lu, Y.-C. Huang, S. G. Harroun, Y.-T. Tseng, Y.-J. Li, C.-C. Huang and H.-T. Chang, *Adv. Funct. Mater.*, **25**, 7189 (2015).
25. Y.-J. Li, S. G. Harroun, Y.-C. Su, C.-F. Huang, B. Unnikrishnan, H.-J. Lin, C.-H. Lin and C.-C. Huang, *Adv. Healthcare Mater.*, **5**, 2545 (2016).
26. H.-J. Jian, R.-S. Wu, T.-Y. Lin, Y.-J. Li, H.-J. Lin, S. G. Harroun, J.-Y. Lai and C.-C. Huang, *ACS Nano*, **11**, 6703 (2017).



李郁佳小姐為國立台灣海洋大學生命科學暨生物科技學博士，現為長庚大學生醫工程研究所博士後研究員。

Yu-Jia Li received her Ph.D. in the Department of Bioscience and Biotechnology from National Taiwan Ocean University. She is currently a postdoctoral researcher in the Institute of Biochemical and Biomedical Engineering, Chang Gung University.



魏士鈞先生為國立台灣大學化學系博士生。

Shih-Chun Wei is currently a Ph.D. student in the Department of Chemistry from National Taiwan University.



黃志清先生為國立台灣大學化學博士，現為國立台灣海洋大學生命科學暨生物科技學系教授。

Chih-Ching Huang received his Ph.D. in the Department of Chemistry from National Taiwan University. He is currently a professor in the Department of Bioscience and Biotechnology from National Taiwan Ocean University.