

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2024.03.013

细菌介导的肿瘤协同治疗策略

Strategy of bacteria-mediated synergistic therapy for tumor

任昊喆¹综述;杨铁虹²,王静^{1,3}审阅(1.兰州大学口腔医学院 口腔医院 牙周科,甘肃 兰州 730000;2.空军军医大学药理学系 药物化学与药物分析学教研室,陕西 西安 710032;3.甘肃省口腔疾病临床医学研究中心,甘肃 兰州 730000)

[摘要] 随着基因工程和合成生物学的快速发展,以及对宿主病原体相互作用的认识更加深入,细菌在肿瘤治疗中的作用被广泛研究。细菌介导的肿瘤治疗机制主要包括肿瘤特异性靶向、诱发抗肿瘤免疫反应等,通过与化疗、放疗等传统疗法的结合,可以提高抗肿瘤疗效,同时降低对宿主的全身毒性。利用基因工程可获得对肿瘤组织更高靶向性的减毒菌株或细菌衍生物,从而提高肿瘤治疗的有效性和安全性。此外,细菌表面的可修饰性和表面化学偶联的多样性对实现理想载药及多模式抗肿瘤治疗成为可能,尤其是纳米载药体系与细菌结合组装的生物复合纳米递送系统,可克服传统纳米药物靶向性低、难以渗透到肿瘤深部组织的不足。尽管细菌用作抗肿瘤及释药体系的运输载体仍然有很多亟待解决的问题,但细菌在肿瘤区域特异性定植并诱导肿瘤免疫反应的特性以及作为理想药物载体的潜力,为肿瘤治疗提供了一个颇有前景的新范式。

[关键词] 细菌介导;肿瘤治疗;肿瘤免疫治疗;肿瘤靶向;纳米药物载体;细菌衍生物

[中图分类号] R730.3;R730.51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2024)03-0296-07

肿瘤是威胁人类生命健康的重要疾病之一,世界卫生组织预计到2040年全球将有2840万例新发癌症病例^[1]。1891年,外科医生威廉·科利(Dr. William Coley)发现热灭活的链球菌和黏质沙雷氏菌的混合物(Coley毒素)可以治疗肿瘤^[2],开创了肿瘤的细菌生物疗法^[3]。近年来,随着基因工程和合成生物学的快速发展,以及对宿主病原体相互作用的认识更加深入,细菌在肿瘤治疗中的作用已被广泛研究(图1)。对于缺氧特征

由于肿瘤的异质性,单一治疗策略有一定的局限性。细菌介导的肿瘤治疗通过与化疗、放疗等手段的联合应用,实现了减毒及协同抗肿瘤的效果^[4]。此外,细菌还可以作为靶向肿瘤的药物载体,其递送策略是以细菌对肿瘤组织的趋化性为驱动力,增加靶点位置病变部位药物的特异性富集^[5]。本文概述了细菌介导的肿瘤治疗机制,系统介绍细菌生物疗法与传统疗法的联合应用、细菌及其衍生物构建的纳米载药体系,并探讨细菌协同肿瘤治疗的发展前景和挑战。

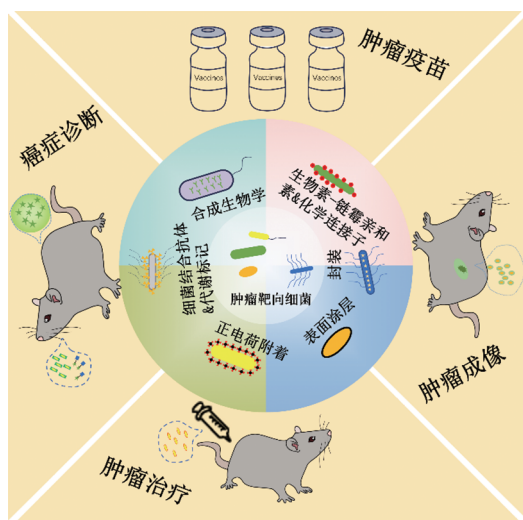


图1 细菌在肿瘤治疗中的应用

的实体瘤,兼性或专性厌氧菌能优先定植在肿瘤组织并深入至肿瘤核心区域,通过免疫调节、分泌细菌毒素促进细胞凋亡、抑制血管生成等机制抗肿瘤^[4]。

1 细菌介导的肿瘤治疗机制

1.1 细菌介导的肿瘤靶向机制

由于实体瘤内的低氧、免疫抑制和独特的生化微环境有利于细菌生长,其中的兼性或专性厌氧菌能规避好氧菌的逃逸风险,优先定植在肿瘤组织并深入至肿瘤核心区域,对肿瘤缺氧部位具有很高的选择性和深入定植能力^[7]。有研究^[8]表明,细菌可以通过多种途径特异性地靶向肿瘤,其机制主要有:(1)细菌对肿瘤缺氧部位的趋化能力强,可以选择性

[基金项目] 国家自然科学基金项目(No. 32171388);陕西省重点研发计划重点产业创新链项目(No. 2022ZDLSF05-17);陕西省科技创新能力支撑计划(No. 2020TD-041);甘肃省口腔疾病临床医学研究中心项目(No.20JR10FA670);兰州大学口腔医学院(口腔医院)科研项目(No. lzukqky-2022-p04)

[作者简介] 任昊喆(2000—),男,硕士生,主要从事口腔生物材料与肿瘤免疫治疗研究。E-mail:hren2000@126.com

[通信作者] 王静,E-mail:lzukunft@126.com

定植在肿瘤中。细菌最初可通过肿瘤脉管系统渗漏而被动进入肿瘤组织,通过诱导肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和其他细胞因子,创造易使厌氧细菌生存和特异性靶向的肿瘤低氧微环境;(2)一些肿瘤细胞趋化受体也可发挥靶向作用;(3)免疫系统的参与对肿瘤靶向也有一定作用;(4)细菌的鞭毛或主动运动功能成分也是细菌在肿瘤组织中蓄积的必要条件。具有运动能力的细菌可以跨越灌注和压力梯度到达血液分布少的肿瘤组织。如鼠伤寒沙门氏菌具有端生鞭毛结构,比周生鞭毛细菌(如大肠杆菌等)趋向运动更快更稳定,能够依赖鞭毛运动更好地渗入到瘤内组织;(5)一些工程化减毒菌株具有更强的靶向特性。沙门氏菌是研究和使用的最早的抗肿瘤兼性厌氧菌,其具有肿瘤特异性定位、靶向迁移、完全测序的基因组的优势^[9]。减毒沙门氏菌 VNP20009 是一种来源于 ST ATCC14028 野生型菌株,其缺乏 *msbB*、*purI* 基因,因此在毒力降低的同时还保持着对抗生素的敏感性,其安全性已在临床前和临床 I 期试验中被证实^[10]。此外,减毒沙门氏菌还具有比野生型菌株更好的肿瘤靶向性,这是由于其依赖外源性嘌呤生存,这种依赖使其在正常组织中不能复制,而可以在提供嘌呤的肿瘤组织中生长繁殖^[11]。

1.2 细菌介导的免疫调节机制

细菌的治疗效果主要是由其免疫调节活性所决定。许多细菌成分例如脂多糖、鞭毛蛋白等多种病原体相关的分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP)在免疫刺激反应中起着重要作用。鼠伤寒沙门氏菌鞭毛蛋白能激活 CD8⁺ T 细胞和 NK 细胞,并降低调节性 T (Treg) 细胞的数量^[12]。细菌产物可以通过 Toll 样受体(toll-like receptor, TLR)发出信号,并诱导炎症细胞因子级联反应,从而驱动针对肿瘤的细胞免疫反应。例如,细菌脂多糖(LPS)作为激动剂激活 TLR4 可提高抗肿瘤免疫反应^[13]。此外,细菌介导的抗肿瘤免疫反应可调节肿瘤细胞的自噬与凋亡而发挥内在的抗肿瘤活性,还可诱导免疫细胞(包括 DC、中性粒细胞、巨噬细胞等)向定植的肿瘤迁移,并增强 TNF- α 等细胞因子的表达^[14]。CHANG 等^[15]报道,沙门氏菌通过激活 p38 信号通路来增加 Cx43 的表达,促进肿瘤细胞与相邻树突状细胞之间的间隙连接通讯,并提高肿瘤对化疗药物顺铂的敏感性,从而增强沙门氏菌和顺铂联合治疗的疗效。李斯特菌可以感染髓源性抑制细胞(myeloid-derived protein cell, MDSC),并随 MDSC 一起迁移到肿瘤微环境中释放,诱导 MDSC 亚群转变为免疫刺激表型,产生 IL-12,增强 CD8⁺ T 细胞和 NK 细胞的抗肿瘤效应^[16]。

2 细菌介导的协同肿瘤治疗

细菌表面的可修饰性、化学偶联的多样性、独特的肿瘤靶向性和免疫激活能力,为实现理想载药及多模式抗肿瘤治疗提供可能性。与传统的肿瘤治疗方法相比,细菌介导的肿瘤治疗能够引发更强的肿瘤特异性免疫反应^[17],通过与化疗、放疗、光热疗法、免疫疗法和纳米药物等协同治疗,可以提高抗肿瘤疗效,同时降低对宿主的全身毒性。

2.1 细菌协同化疗

化疗是治疗肿瘤的主要手段之一。由于化疗药物不能特异性地靶向肿瘤细胞,导致对正常细胞也存在毒副作用^[18]。通过刺激响应基因将化疗药物与细菌结合,使载带的药物能有效传递到靶向部位,可实现化疗药物的时空可控性,改善治疗效果^[19]。BASCUAS 等^[20]采用减毒沙门氏菌联合环磷酰胺、多柔比星(doxorubicin, Dox)、长春新碱、强的松(CHOP 方案)治疗 B 细胞非霍奇金淋巴瘤,观察到小鼠肿瘤生长减慢,生存期延长,同时小鼠白细胞在肿瘤浸润区数量增加,并增强了 NK 细胞的细胞毒作用以及特异性体液免疫和细胞免疫。SAGNELLA 等^[21]用基因工程改造后的鼠伤寒沙门氏菌小细胞包载 Dox,促进 M1 巨噬细胞活化、激活 NK 细胞、促进 Th1 样细胞因子分泌,实现了良好的抗肿瘤疗效。

通过对细菌表面加以修饰可以解决载药量低、药物提前释放等不足^[22]。大肠埃希菌 *Nissle 1917* (EcN)是一种不分泌毒素也不产生抗甘露糖血凝黏附的益生菌。XIE 等^[23]通过顺式乌头酸酐的酸亲和性连接体将 Dox 共轭到 EcN 上(EcN-ca-Dox),实现肿瘤靶向和响应性药物释放。载有药物的细菌可优先转移至肿瘤间质,响应肿瘤微环境而选择性地释放药物。EKTATE 等^[24]将低温敏感脂质体附着在减毒沙门氏菌表面,触发 Dox 药物释放,并利用高强度聚焦超声加热(40~42 °C),使 TNF- α 、白细胞介素-1 β (IL-1 β)的表达水平明显增加,这些促炎因子的增加可能进一步激活免疫系统,增强对肿瘤的免疫应答,同时也使化疗药物的疗效得到显著增强。为了能够使化疗药物可稳定地负载在载体细菌上,并有效释放到肿瘤部位,其中药物与载体细菌之间的连接方式仍有待继续深入探究。

2.2 细菌协同放疗

放疗是利用放射线的电离辐射作用直接或间接杀灭或杀伤细胞,是治疗肿瘤的常用方法。然而放疗难以避免对正常组织造成损伤,甚至导致严重的副作用。更重要的是,放疗主要通过高能射线对肿瘤细胞 DNA 造成损伤,这一过程主要取决于组织氧

水平,而肿瘤低氧浓度常导致治疗效果不佳^[25]。细菌可增加肿瘤细胞的放射敏感性,细菌与放射治疗联合应用在临床上具有巨大潜力^[26]。聚集诱导发光剂(AIEgen)可以增强生物的放射免疫治疗能力。DUO等^[27]报道,利用减毒沙门氏菌 *VNP20009* 作为活化细菌载体,加载制备了新型的 AIEgen (TBTP-Au, VNP@TBTP-Au),结果显示出优异的放射免疫疗效。VNP@TBTP-Au 可以将 AIEgen 靶向并保留在肿瘤部位,将其特异性递送到肿瘤细胞内,经 X 射线照射后,通过 cGAS-STING 信号通路产生大量活性氧诱导免疫原性细胞死亡,引起免疫应答,从而实现对外发肿瘤的高效放射免疫治疗,其不仅具有良好的生物安全性,而且对远端肿瘤产生抑制作用。金纳米颗粒由于其高 X 射线吸收和独特的理化性质,被认为是放射治疗的理想放射增敏剂,细菌-增敏剂联合使用可提高肿瘤中心缺氧区放疗的疗效^[28]。有临床研究^[29]表明,益生菌(如乳酸杆菌和双歧杆菌)通过其抗氧化、抗炎和调节微生物群的方式规避放疗产生的副作用,不同的细菌成分可通过激活特定的 TLR 信号通路来恢复放疗引起的特定组织损伤,保护正常组织。然而,针对放疗所产生的耐受,如何减小放疗剂量仍亟待解决。

2.3 细菌协同光热疗法

光热疗法(photothermal therapy, PTT)是利用光敏剂(photosensitizer, PS)在近红外光照射下将光能转换成热能以杀死靶细胞。细菌协同光热疗法提供了将 PTT 输送到肿瘤深层组织的可能性,减少传统 PTT 引起的细胞毒副作用。聚多巴胺(polydopamine, PDA)是一种靶向实体肿瘤缺氧区域的生物光热治疗剂。CHEN 等^[30]通过氧化和自聚合方式将 PDA 包覆在减毒沙门氏菌 *VNP20009* 上,然后经尾静脉注射到肿瘤小鼠体内。PDA 包覆的 *VNP20009* 可靶向至实体瘤的缺氧区域,当用近红外光照射肿瘤时可诱导 PDA 发热并升高局部温度,有助于杀死周围的癌细胞。*VNP20009* 和 PDA 可相互增强彼此的治疗能力,从而提高黑色素瘤小鼠治疗效果。ZHAO 等^[31]通过静电作用将 Ag₂S 量子点负载到双歧杆菌,制备的杂交细菌(B.b@QDs)可靶向至缺氧的肿瘤微环境并协同发挥量子点的光热效应,同时促进 M1 巨噬细胞极化的肿瘤免疫反应,显著抑制了原位乳腺癌细胞的生长。聚焦超声(focused ultrasound, FUS)可以精确升高局部组织温度,ABEDI 等^[32]将温度敏感性抑制因子应用于可靶向肿瘤的大肠杆菌 *Nissle 1917* 中,并设计了针对免疫检查点抑制剂 CTLA-4 和 PD-L1 的基因回路表达,在 FUS 作用下上述过程可被特异性持续激活,显著抑制了肿瘤生长。然而光敏剂毒

性和生物相容性、细菌载药量和释药稳定性仍需深入探究。

2.4 细菌协同免疫治疗

免疫疗法被公认为是一种新兴的肿瘤治疗策略,其通过刺激或增强机体免疫来抑制和杀伤肿瘤细胞。一些细菌(如大肠杆菌、沙门氏菌、李斯特菌)已被证实可调节宿主的免疫反应并抑制肿瘤进展^[33]。工程菌静脉注射后,其分泌的抗原可以诱导肿瘤特异性 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞活化以攻击肿瘤细胞^[34]。癌基因如 HPV16-E7、CEA-scFv 和创伤弧菌 B 的表达有助于刺激免疫反应。免疫检查点抑制剂治疗是肿瘤免疫治疗的重点策略之一。CANALE 等^[35]通过基因工程制备 *L*-精氨酸基因显性突变的 EcN 细菌,该突变体可持续产生 *L*-精氨酸且不受细菌基因组中高水平的 *L*-精氨酸抑制,通过 *L*-精氨酸在肿瘤部位的富集显著提高了 T 淋巴细胞的数量,并联合抗 PD-L1 抗体,二者协同可显著提高抗肿瘤效果。PAN 等^[36]利用负载 PD-1 质粒的 LyP1 多肽修饰的细菌外膜囊泡靶向治疗肿瘤,诱导肿瘤细胞自我表达 PD-1,实现肿瘤细胞中 PD-L1 的自我阻断;同时细菌外膜囊泡还能将 CTL 和 NK 细胞募集到肿瘤中,诱导 IFN- γ 的分泌以对抗肿瘤生长。肿瘤抑制与 TLR 介导的宿主免疫反应有关。ZHENG 等^[37]将可分泌创伤弧菌鞭毛蛋白 B(flagellin B, FlaB)的工程化沙门氏菌用于肿瘤免疫治疗,结果显示其治疗效果在 TLR4 和 MyD88 基因敲除小鼠中完全消除,在 TLR5 基因敲除小鼠中部分消除,表明 TLR4 基因是 FlaB 分泌细菌介导的肿瘤抑制的必要条件,工程化沙门氏菌可以通过 TLR4 基因诱导免疫细胞的浸润,同时沙门氏菌分泌的 FlaB 可以激活 M1 表型的瘤内巨噬细胞,并相应减少 M2 活性。总体而言,细菌介导的免疫疗法具有广阔的临床应用前景,然而由于肿瘤的高度异质性,以及细菌协同免疫疗法的有效性和安全性仍需进一步研究。

3 细菌作为肿瘤靶向载体

3.1 细菌介导纳米载药体系

将药物加载到纳米粒子中,再与细菌结合构成生物复合纳米递送系统,可以克服传统纳米药物靶向性低,难以渗透到深部组织的不足。纳米载体可以根据需要设计功能化的运载系统,既可以控制药物在靶器官的释放,又能很大程度地降低药物对载体细菌活性的影响。尽管一些具有良好肿瘤靶向定植性并具直接溶瘤作用的减毒或天然无致病性的厌氧菌(如减毒沙门氏菌、双歧杆菌、大肠杆菌、趋磁细菌等)被用于抗肿瘤或基因、蛋白、RNA 等的递送载体^[38],但直到 2019 年才首次报道了细菌激活纳米自

主给药系统(NanoBEADS)^[39]。利用细菌的迁移和增殖,将纳米载药体系主动输送到血管化差、缺氧的肿瘤深部组织。该生物复合体系通过生物素-链霉亲和素将聚乳酸聚乙醇酸共聚物(PLGA)纳米粒连接在减毒沙门氏菌上,通过细菌厌氧靶向的特性将纳米粒递送到远端肿瘤组织中。细胞间自我复制和移位是细菌在肿瘤内主动穿透的主要机制,纳米粒偶联不会妨碍细菌肿瘤内转运性能。因体系未载药,该研究主要通过体外肿瘤球模型、体内肿瘤原位注射的方式对纳米微粒在肿瘤组织主动渗透的能力及生物分布的评估方法进行研究,并给出了科学的渗透效率评价指标。DU NGUYEN等^[40]将沙门氏菌连接在载药脂质体表面,构建了基于细菌的“微型机器人”(bacteriobot),粒径约2.25 μm。细菌驱动的脂质体显示了更好的运动能力,体外细胞实验也表现出更好的抗肿瘤性能。MORENO等^[41]用大肠杆菌载带介孔硅,并在体外肿瘤基质模型中证实细菌能够运载纳米粒穿过厚胶原层,杀死其下80%的肿瘤细胞。细菌菌影(bacterial ghost, BG)是革兰氏阴性细菌产生的不含核酸、核糖体等胞质内容物的细菌空壳,不具有活菌样致病作用,常作为生物载体装载DNA、纳米药物等。通过将环丙沙星(CIP)负载在BG上(BG@CIP),可激活巨噬细胞分泌的IL-6和TNF-α等细胞因子,提高抗肿瘤免疫反应^[33]。近期,中国学者^[42]将载有光热剂吲哚菁绿(indocyanine blue, ICG)的聚酯纳米粒与鼠伤寒沙门氏菌YBI通过酰胺键共价交联,该细菌/纳米材料复合物进入体内后可在细菌厌氧靶向的驱动下聚集在肿瘤组织并传递到肿瘤乏氧区,通过2次近红外光照射实现杀死肿瘤细胞、清除细菌的目的。这些研究表明,细菌可将纳米载体主动输送到血管化差、缺氧的肿瘤深部组织,发挥良好的抗肿瘤作用。

3.2 细菌衍生物作为肿瘤治疗载体

细菌衍生物包括微细胞、细菌原生质体和细菌外膜囊泡(outer membrane vesicle, OMV),它们可以作为载体运送药物至肿瘤部位^[43]。

微细胞是HOWARD首次发现的,这是一种由细菌衍生的无核、无生命的纳米级细胞,直径约400 nm,其具有与亲代细胞相似的细胞质成分,可通过双特异性抗体(bispecific antibodies, BsAb)选择性地靶向癌细胞^[44],它可以包封多种药物、siRNA/shRNA、抗原和治疗性毒素等,纳米级尺寸可使它们成为化疗药物靶向递送的理想载体。通过对微细胞表面修饰可以靶向进入癌细胞^[45]。ZHANG等^[46]利用大肠杆菌*Nissle 1917*衍生的微细胞和低pH插入肽(pHLIP)制备出用于缺氧性肿瘤的双靶向药物载体,

通过敲除minCD基因,增强minE基因在大肠杆菌*Nissle 1917*中的表达,产生大量的小细胞,然后将pHLIP修饰在微细胞膜表面,赋予靶向肿瘤酸性微环境的能力。

细菌原生质体是去除细胞壁后获得的,相比完整细胞其毒性和免疫原性较低,不影响细菌的天然抗肿瘤免疫活性,是一种新型的细菌免疫协同疗法^[47]。KIM等^[48]设计了表达表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的大肠杆菌原生质体纳米囊泡(EGFR-PDNV),可在体外和体内有效地将化疗药物DOX/伊达比星(IDA)精确靶向到肿瘤细胞中,并抑制肿瘤生长。

另一种策略是将OMV用于肿瘤免疫治疗。OMV通常认为是在正常生长过程中由革兰氏阴性细菌外膜分泌的直径40~400 nm双层脂质球形纳米颗粒。OMV主要有两种形成途径,一种是细菌外膜的起泡即B型膜囊泡(membrane vesicle, MV);另一种是噬菌体表达的内溶素引发的爆炸性细胞裂解。研究^[49]表明,OMV可以富含疏水化合物、变性蛋白质或肽聚糖。有趣的是OMV一般不含DNA、RNA和ATP等胞质内容物,这些内容物是革兰氏阳性菌的细胞质膜囊泡(cytoplasmic membrane vesicle, CMV)和革兰氏阴性菌的E型MV的特征内容。与母体细菌一样,OMV有趋向肿瘤组织缺氧部位,并且具有不可复制的特性,因此安全性更有保证。OMV通过捕获毒素和毒力因子以及各种酶和蛋白质在内的非毒素并运送到宿主细胞,从而影响细菌-宿主细胞的相互作用。生物工程的OMV在肿瘤和其他疾病的治疗中可以用于递送药物^[50]。LI等^[51]通过巨噬细胞介导来增强OMV的肿瘤靶向能力,并通过将光敏剂二氢卟吩e6(Ce6)和化疗药物DOX共同装载到OMV中(DOX/Ce6-OMVs@M)以提高抗肿瘤疗效,经注射可根除小鼠中的三阴性乳腺肿瘤,同时还能有效防止肿瘤转移到肺部。CHEN等^[52]通过用OMV包被聚合纳米药物对黑色素瘤小鼠的免疫治疗效果进行了研究,首先用聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)和精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(arginine-glycine-aspartic acid, RGD)环肽修饰减毒鼠伤寒沙门氏菌OMV,其中PEG可提高其胶体稳定性并降低免疫原性,RGD则提高肿瘤靶向性。氟尿嘧啶(5-FU)的前体药物替加氟因其具有抗肿瘤作用和协同促进OMV免疫刺激能力而被选为化疗药物,将功能化的OMV涂层纳米药物经全身注射后诱导先天性免疫反应,释放的替加氟转化为5-FU除了可引起肿瘤细胞凋亡,也可使癌细胞对细胞毒性T淋巴细胞(CTL)敏感并根除免疫抑制性髓源性抑制细胞。利用基因工程技术对

OMV表面修饰可显著提高抗肿瘤疗效。OMV可诱导IFN- γ 表达上调和T细胞介导的抗肿瘤作用,同时IFN- γ 还可上调肿瘤微环境免疫抑制因子PD-L1的表达。LI等^[53]通过工程化OMV-PD1使其与肿瘤细胞表面的PD-L1结合,从而保护T细胞免受PD1/PD-L1免疫抑制轴的影响,改善OMV的肿瘤免疫治疗。总之,细菌衍生物可以显著提高肿瘤免疫疗法的效力,为肿瘤靶向治疗提供了一种新的途径。

4 小结

细菌的可修饰性、特异性靶向迁移、诱发抗肿瘤免疫反应使其在肿瘤治疗中具有广阔的应用前景。然而,细菌介导的协同肿瘤治疗也存在一些问题。首先,细菌的传染性和安全性是主要难题。其次,有限的载药效率是抑制细菌抗癌效果的另一个挑战,需要通过优化制备方法或对细菌进行工程化改造以提高载药效果。第三,活菌的制备过程比小分子抗癌药物的制备过程复杂。由于活菌不能通过过滤或加热进行灭菌,所以无菌检验的常规标准不适用,这将是生产规范中质量控制的主要挑战。此外活菌对环境的潜在影响也是一个需要解决的问题。第四,靶向细菌虽有良好的肿瘤组织特异性,但在肿瘤组织定植分布仍不均匀,这也是治疗效果不理想的重要原因。第五,细菌体内应用仍存在很大的局限。进入体内的细菌会很快从外周血液被清除(人体试验中的清除速率更快),阻碍了足量的细菌向肿瘤定植^[10,54]。有文献^[30,39]报道,细菌表面PEG化、覆盖涂层及载带纳米粒可以防止细菌被巨噬细胞摄取,一定程度改善了细菌体内应用的不足,但近来研究^[55]表明,PEG化后的纳米微粒仍可吸附蛋白造成巨噬细胞吞噬,出现药物传递效率低和过度免疫反应等问题,尤其加速血液清除效应即含有PEG的药物载体在重复给药后会被快速清除,迫切需要探索取代PEG的更加安全高效的纳米粒表面修饰材料,构建新的细菌修饰方法以避免其在体内快速清除。因此,细菌用作纳米药物或释药体系的运输载体仍然有很多亟待解决的问题。

通过更合理的设计,相信细菌疗法将在不久的将来有望发展成为对肿瘤治疗最有效的方法之一。

[参考文献]

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249. DOI: 10.3322/caac.21660.
- [2] 孙梦娜, 刘宝瑞, 孟凡岩. 细菌在肿瘤治疗中的应用——从基础到临床[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2022, 29(11): 1049-1053. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.11.017.
- [3] NGUYEN D H, CHONG A R, HONG Y, *et al.* Bioengineering of bacteria for cancer immunotherapy[J/OL]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 3553[2023-11-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10272223/>. DOI: 10.1038/s41467-023-39224-8.
- [4] YANG M Y, YANG F W, CHEN W J, *et al.* Bacteria-mediated cancer therapies: opportunities and challenges[J]. *Biomater Sci*, 2021, 9(17): 5732-5744. DOI: 10.1039/d1bm00634g.
- [5] SONG D C, YANG X F, CHEN Y F, *et al.* Advances in anti-tumor based on various anaerobic bacteria and their derivatives as drug vehicles [J/OL]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2023, 11: 1286502[2023-11-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10579911/>. DOI: 10.3389/fbioe.2023.1286502.
- [6] 孙漩嵘, 张隆超, 施绮雯, 等. 细胞-纳米药物递送系统的研究进展[J]. *药学学报*, 2017, 52(7): 1110-1116. DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-0226.
- [7] 周航, 刘宝瑞. 细菌在肿瘤靶向与免疫治疗中应用的研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2023, 30(01): 67-74. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.01.010.
- [8] PANDEY M, CHOUDHURY H, VIJAYAGOMARAN P A, *et al.* Recent update on bacteria as a delivery carrier in cancer therapy: from evil to allies[J]. *Pharm Res*, 2022, 39(6): 1115-1134. DOI: 10.1007/s11095-022-03240-y.
- [9] LIU L N, LIU X, XIN W J, *et al.* A bacteria-based system expressing anti-TNF- α nanobody for enhanced cancer immunotherapy[J/OL]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 134[2023-11-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10113364/>. DOI: 10.1038/s41392-023-01364-0.
- [10] LIANG K, LIU Q, LI P, *et al.* Genetically engineered *Salmonella* Typhimurium: recent advances in cancer therapy[J/OL]. *Cancer Lett*, 2019, 448: 168-181[2023-11-20]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304383519300643?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.canlet.2019.01.037.
- [11] BECERRA-BÁEZ E I, MEZA-TOLEDO S E, MUÑOZ-LÓPEZ P, *et al.* Recombinant attenuated *Salmonella enterica* as a delivery system of heterologous molecules in cancer therapy[J/OL]. *Cancers*, 2022, 14(17): 4224[2023-11-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9454573/>. DOI: 10.3390/cancers14174224.
- [12] ZHOU S B, GRAVEKAMP C, BERMUDEZ D, *et al.* Tumour-targeting bacteria engineered to fight cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18(12): 727-743. DOI: 10.1038/s41568-018-0070-z.
- [13] HARIMOTO T, HAHN J, CHEN Y Y, *et al.* A programmable encapsulation system improves delivery of therapeutic bacteria in mice[J]. *Nat Biotechnol*, 2022, 40(8): 1259-1269. DOI: 10.1038/s41587-022-01244-y.
- [14] GURBATRI C R, LIA I, VINCENT R, *et al.* Engineered probiotics for local tumor delivery of checkpoint blockade nanobodies[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(530): eaax0876[2023-11-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7685004/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.aax0876.
- [15] CHANG W W, LAI C H, CHEN M C, *et al.* Salmonella enhance chemosensitivity in tumor through connexin 43 upregulation[J]. *Int J Cancer*, 2013, 133(8): 1926-35. DOI: 10.1002/ijc.28155.
- [16] SIEOW B F, WUN K S, YONG W P, *et al.* Tweak to treat: reprogramming bacteria for cancer treatment[J]. *Trends Cancer*, 2021,

- 7(5): 447-464. DOI: 10.1016/j.trecan.2020.11.004.
- [17] WANG D, WEI X D, KALVAKOLANU D V, *et al.* Perspectives on oncolytic *Salmonella* in cancer immunotherapy—a promising strategy [J/OL]. *Front Immunol*, 2021, 12: 615930[2023-11-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7949470/>. DOI: 10.3389/fimmu.2021.615930.
- [18] ALEXANDER J L, WILSON I D, TEARE J, *et al.* Gut microbiota modulation of chemotherapy efficacy and toxicity[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14(6): 356-365. DOI: 10.1038/nrgastro.2017.20.
- [19] KAZMIERCZAK R, CHOE E, SINCLAIR J, *et al.* Direct attachment of nanoparticle cargo to *Salmonella typhimurium* membranes designed for combination bacteriotherapy against tumors[J/OL]. *Methods Mol Biol*, 2015, 1225: 151-163[202-11-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25253255/>. DOI: 10.1007/978-1-4939-1625-2_11.
- [20] BASCUAS T, MORENO M, GRILLE S, *et al.* *Salmonella* immunotherapy improves the outcome of CHOP chemotherapy in non-hodgkin lymphoma-bearing mice[J/OL]. *Front Immunol*, 2018, 9: 7 [2023-11-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5787062/>. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00007.
- [21] SAGNELLA S M, YANG L, STUBBS G E, *et al.* Cyto-immunotherapy for cancer: a pathway elicited by tumor-targeted, cytotoxic drug-packaged bacterially derived nanocells[J/OL]. *Cancer Cell*, 2020, 37(3): 354-370. e7[2023-11-20]. [https://www.cell.com/cancer-cell/fulltext/S1535-6108\(20\)30090-8](https://www.cell.com/cancer-cell/fulltext/S1535-6108(20)30090-8). DOI:10.1016/j.ccell.2020.02.001.
- [22] CHEN Y, LIU X Q, GUO Y X, *et al.* Genetically engineered oncolytic bacteria as drug delivery systems for targeted cancer theranostics [J/OL]. *Acta Biomater*, 2021, 124: 72-87[2023-11-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33561563/>. DOI: 10.1016/j.actbio.2021.02.006.
- [23] XIE S Z, ZHAO L, SONG X J, *et al.* Doxorubicin-conjugated *Escherichia coli* Nissle 1917 swimmers to achieve tumor targeting and responsive drug release[J/OL]. *J Control Release*, 2017, 268: 390-399[2023-11-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29101053/>. DOI: 10.1016/j.jconrel.2017.10.041.
- [24] EKTATE K, MUNTEANU M C, ASHAR H, *et al.* Chemo-immunotherapy of colon cancer with focused ultrasound and *Salmonella*-laden temperature sensitive liposomes (thermobots)[J/OL]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 13062[2023-11-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6117346/>. DOI: 10.1038/s41598-018-30106-4.
- [25] FAN J Y, HUANG Y, LI Y, *et al.* Bacteria in cancer therapy: a new generation of weapons[J]. *Cancer Med*, 2022, 11(23): 4457-4468. DOI: 10.1002/cam4.4799.
- [26] PEI P, ZHANG Y, JIANG Y C, *et al.* Pleiotropic immunomodulatory functions of radioactive inactivated bacterial vectors for enhanced cancer radio-immunotherapy[J]. *ACS Nano*, 2022, 16(7): 11325-11337. DOI: 10.1021/acsnano.2c04982.
- [27] DUO Y H, CHEN Z D, LI Z H, *et al.* Combination of bacterial-targeted delivery of gold-based AIEgen radiosensitizer for fluorescence-image-guided enhanced radio-immunotherapy against advanced cancer[J/OL]. *Bioact Mater*, 2023, 30: 200-213[2023-11-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10470274/>. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2023.05.010.
- [28] CHEN Y, YANG J, FU S Z, *et al.* Gold nanoparticles as radiosensitizers in cancer radiotherapy[J/OL]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15: 9407-9430[2023-11-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7699443/>. DOI: 10.2147/ijn.S272902.
- [29] ZHANG Y, HUANG R Z, JIANG Y C, *et al.* The role of bacteria and its derived biomaterials in cancer radiotherapy[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2023, 13(10): 4149-4171. DOI: 10.1016/j.apsb.2022.10.013.
- [30] CHEN W F, WANG Y, QIN M, *et al.* Bacteria-driven hypoxia targeting for combined biotherapy and photothermal therapy[J]. *ACS Nano*, 2018, 12(6): 5995-6005. DOI: 10.1021/acsnano.8b02235.
- [31] ZHAO J Y, HUANG H B, ZHAO J Y, *et al.* A hybrid bacterium with tumor-associated macrophage polarization for enhanced photothermal-immunotherapy[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(6): 2683-2694. DOI: 10.1016/j.apsb.2021.10.019.
- [32] ABEDI M H, YAO M S, MITTELSTEIN D R, *et al.* Ultrasound-controllable engineered bacteria for cancer immunotherapy[J/OL]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 1585[2023-11-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8948203/>. DOI: 10.1038/s41467-022-29065-2.
- [33] ZHENG H, CHEN X X, LI Q Y, *et al.* Effects of chemotherapy and immunotherapy on microbial diversity in TME and engineered bacterial-mediated tumor therapy[J/OL]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1084926[2023-11-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9932492/>. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1084926.
- [34] SEPICH-POORE G D, ZITVOGEL L, STRAUSSMAN R, *et al.* The microbiome and human cancer[J/OL]. *Science*, 2021, 371(6536): eabc4552[2023-11-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8767999/>. DOI: 10.1126/science.abc4552.
- [35] CANALE F P, BASSO C, ANTONINI G, *et al.* Metabolic modulation of tumours with engineered bacteria for immunotherapy [J]. *Nature*, 2021, 598(7882): 662-666. DOI: 10.1038/s41586-021-04003-2.
- [36] PAN J M, LI X L, SHAO B F, *et al.* Self-blockade of PD-L1 with bacteria-derived outer-membrane vesicle for enhanced cancer immunotherapy[J/OL]. *Adv Mater*, 2022, 34(7): e2106307[2023-11-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34859919/>. DOI: 10.1002/adma.202106307.
- [37] ZHENG J H, NGUYEN V H, JIANG S N, *et al.* Two-step enhanced cancer immunotherapy with engineered *Salmonella typhimurium* secreting heterologous flagellin[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(376): eaak9537[2023-11-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28179508/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.aak9537.
- [38] XU Y Y, ZHAO C H, MA X, *et al.* Prospect of bacteria for tumor diagnosis and treatment[J/OL]. *Life Sci*, 2023, 312: 121215[2023-11-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36414093/>. DOI: 10.1016/j.lfs.2022.121215.
- [39] SUH S, JO A, TRAORE M A, *et al.* Nanoscale bacteria-enabled autonomous drug delivery system (NanoBEADS) enhances intratumoral transport of nanomedicine[J/OL]. *Adv Sci (Weinh)*, 2019, 6(3): 1801309[2023-11-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6364498/>. DOI: 10.1002/advs.201801309.
- [40] DU NGUYEN V, HAN J W, CHOI Y J, *et al.* Active tumor-therapeutic liposomal bacteriobot combining a drug (paclitaxel)-encapsulated liposome with targeting bacteria (*Salmonella Typhimurium*)[J/OL]. *Sens Actuat B Chem*, 2016, 224: 217-224[2023-11-20]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0925400515303415>. DOI: 10.1016/j.snb.2015.09.034.
- [41] MORENO V M, ÁLVAREZE, IZQUIERDO-BARBA I, *et al.* Bacteria

- as nanoparticles carrier for enhancing penetration in a tumoral matrix model[J/OL]. *Adv Mater Interfaces*, 2020, 7(11): 1901942[2023-11-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7116290/>. DOI: 10.1002/admi.201901942.
- [42] CHEN F M, ZANG Z S, CHEN Z, *et al.* Nanophotosensitizer-engineered *Salmonella* bacteria with hypoxia targeting and photothermal-assisted mutual bioaccumulation for solid tumor therapy [J/OL]. *Biomaterials*, 2019, 214: 119226[2023-11-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31174068/>. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2019.119226.
- [43] LIN D W, FENG X L, MAI B J, *et al.* Bacterial-based cancer therapy: an emerging toolbox for targeted drug/gene delivery[J/OL]. *Biomaterials*, 2021, 277: 121124[2023-11-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34534860/>. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2021.121124.
- [44] SOLOMON B J, DESAI J, ROSENTHAL M, *et al.* A first-time-in-human phase I clinical trial of bispecific antibody-targeted, paclitaxel-packaged bacterial minicells[J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0144559[2023-11-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4699457/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0144559.
- [45] ALI M K, LIU Q, LIANG K, *et al.* Bacteria-derived minicells for cancer therapy[J/OL]. *Cancer Lett*, 2020, 491: 11-21[2023-11-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32721550/>. DOI: 10.1016/j.canlet.2020.07.024.
- [46] ZHANG Y L, JI W, HE L, *et al.* *E. coli* Nissle 1917-derived minicells for targeted delivery of chemotherapeutic drug to hypoxic regions for cancer therapy[J]. *Theranostics*, 2018, 8(6): 1690-1705. DOI: 10.7150/thno.21575.
- [47] ZHOU M, TANG Y C, XU W J, *et al.* Bacteria-based immunotherapy for cancer: a systematic review of preclinical studies[J/OL]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1140463[2023-11-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10436994/>. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1140463.
- [48] KIM O Y, DINH N T, PARK H T, *et al.* Bacterial protoplast-derived nanovesicles for tumor targeted delivery of chemotherapeutics[J/OL]. *Biomaterials*, 2017, 113: 68-79[2023-11-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27810643/>. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2016.10.037.
- [49] TOYOFUKU M, SCHILD S, KAPARAKIS-LIASKOS M, *et al.* Composition and functions of bacterial membrane vesicles[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2023, 21(7): 415-430. DOI: 10.1038/s41579-023-00875-5.
- [50] XIE J H, LI Q Q, HAESEBROUCK F, *et al.* The tremendous biomedical potential of bacterial extracellular vesicles[J]. *Trends Biotechnol*, 2022, 40(10): 1173-1194. DOI: 10.1016/j.tibtech.2022.03.005.
- [51] LI Y J, WU J Y, QIU X H, *et al.* Bacterial outer membrane vesicles-based therapeutic platform eradicates triple-negative breast tumor by combinational photodynamic/chemo-/immunotherapy[J/OL]. *Bioact Mater*, 2023, 20: 548-560[2023-11-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9253654/>. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2022.05.037.
- [52] CHEN Q, BAI H Z, WU W T, *et al.* Bioengineering bacterial vesicle-coated polymeric nanomedicine for enhanced cancer immunotherapy and metastasis prevention[J]. *Nano Lett*, 2020, 20(1): 11-21. DOI: 10.1021/acs.nanolett.9b02182.
- [53] LI Y, ZHAO R F, CHENG K M, *et al.* Bacterial outer membrane vesicles presenting programmed death 1 for improved cancer immunotherapy via immune activation and checkpoint inhibition[J]. *ACS Nano*, 2020, 14(12): 16698-16711. DOI: 10.1021/acsnano.0c03776.
- [54] 梁康, 赵新新, 易洁, 等. 应用遗传改造的沙门菌介导肿瘤治疗的研究进展[J]. *生物工程学报*, 2016, 32(5): 565-576. DOI: 10.13345/j.cjb.150393.
- [55] KOZMA G T, SHIMIZU T, ISHIDA T, *et al.* Anti-PEG antibodies: properties, formation, testing and role in adverse immune reactions to PEGylated nano-biopharmaceuticals[J/OL]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2020, 154-155: 163-175[2023-11-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32745496/>. DOI: 10.1016/j.addr.2020.07.024.

[收稿日期] 2023-11-28

[修回日期] 2024-03-05

[本文编辑] 阮芳铭