

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.06.002

· 专家论坛 ·

减毒沙门菌治疗肿瘤：升级与希望

郭艳霞, 郑金海(湖南大学 生命医学交叉研究院, 湖南 长沙 410082)



郑金海 博士、副教授、博士生导师。任湖南省抗癌协会胰腺癌专业委员会常务委员。主要从事减毒工程菌设计与改造、肿瘤治疗工程菌药物开发及靶向免疫治疗等方面的研究, 成功建立两步法激活机体免疫系统, 实现肿瘤生物免疫治疗, 获得领域内的高度认可; 带领课题团队研发的减毒工程菌具有高度的肿瘤靶向特异性及生物安全性, 是理想的药物靶向递送载体。先后主持中央高校基本科研业务费资助项目、湖南省自然科学基金等项目研究, 并与慕恩(广州)生物科技有限公司合作成立“工程菌药物研发联合实验室”, 共同推进工程菌药物的转化与产业化。以第一或通信作者身份在 *Sci Transl Med*, *Mol Ther*, *Cancer Lett*, *Acta Biomater* 等杂志发表 SCI 收录论文 20 余篇, 单篇最高被引用 200 余次的论文入选 ESI 高被引论文。申请发明专利 2 项, 参编学术专著 2 部, 担任 *Sci Adv*, *Mol Ther*, *Cancer Lett* 等多个杂志审稿人。

[摘要] 减毒沙门菌对实体瘤具有广谱的肿瘤靶向特异性, 其可通过激活机体抗肿瘤免疫应答改善肿瘤免疫微环境, 从而抑制肿瘤的发展; 高度的肿瘤靶向特异性使得减毒沙门菌可作为理想的抗癌药物与影像探针的表达和递送载体, 实现肿瘤诊疗一体化。减毒沙门菌在基础或临床领域已有着广泛的研究与应用, 展现了良好的应用前景, 未来可期。对减毒沙门菌的抗肿瘤机制、应用现状及目前所存在的问题展开分析, 探讨如何通过遗传工程技术对减毒菌的安全性、靶向性和抗癌效果等方面进行提升, 将促进减毒沙门菌的转化应用, 实现免疫学、生物技术等多学科的交叉融合, 有望为临床肿瘤生物治疗提供新的研究方向。

[关键词] 减毒沙门菌; 遗传工程改造; 肿瘤免疫治疗; 肿瘤微环境; 联合治疗

[中图分类号] R730.51; Q939.91 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2022)06-0519-08

Attenuated *Salmonella*-mediated cancer therapy: updates and prospects

GUO Yanxia, ZHENG Jinhai (School of Biomedical Sciences, Hunan University, Changsha 410082, Hunan, China)

[Abstract] Attenuated *Salmonella* has shown broad tumor targeting specificity against solid tumors. By activating host antitumor response and modifying tumor immune microenvironment, attenuated *Salmonella* can suppress tumor development. Meanwhile, the high tumor targeting specificity enables the attenuated *Salmonella* to be used as the ideal expression and delivery vector for therapeutic drugs and imaging probes, realizing the integration of tumor diagnosis and treatment. Attenuated *Salmonella* has been widely studied and applied in basic and clinical fields, showing good application prospects and promising future. In this article, we will first investigate the attenuated *Salmonella*-related antitumor mechanism, application status, current problems and challenges and then explore how to improve its biosafety, tumor targeting specificity, and antitumor efficacy by using genetic biotechnology, thus to promote the translational application of attenuated *Salmonella* and realize the cross-integration of immunology, biotechnology and other disciplines, which may provide a new strategy and direction for future clinical tumor biotherapy.

[Key words] attenuated *Salmonella*; genetic engineering modification; cancer immunotherapy; tumor microenvironment; combination therapies

[Chin J Cancer Biother, 2022, 29(6):519-526. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.06.002]

在 19 世纪中期, 美国一名外科医生 COLEY 用灭活的细菌混合物(化脓性链球菌、黏质沙雷菌等)成功治愈患者的恶性肉瘤^[1], 但因结果不能够很好地被同行重复, 同时由于化疗和放疗的兴起, 使得细菌介导的肿瘤治疗(bacteria-mediated cancer therapy, BMCT)被搁置。随着分子生物学和免疫学的发展, BMCT 的抗癌机制被解析而重新走进科研者的视野。研究结果^[2-3]表明, 一些专性或兼性厌氧菌能够特异性地在肿瘤组织中定植和增殖, 且细菌的

病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP), 如脂多糖(LPS)、鞭毛蛋白、核酸等, 被机体的模式识别受体(PRR)识别, 激活机体的固有和适应性免疫应答, 有效地改变了肿瘤免疫微环境, 从而诱导对肿瘤的杀伤作用。目前, 在

[基金项目] 湖南省自然科学基金资助项目(No. 2020JJ5094)

[作者简介] 郭艳霞(1994—), 女, 博士生, 主要从事细菌介导的肿瘤免疫学研究, E-mail: yanxiagu@hnu.edu.cn

[通信作者] 郑金海, E-mail: jhzheng@hnu.edu.cn

肿瘤治疗中被广泛研究的细菌,包括沙门菌^[3]、李斯特菌^[4]、大肠杆菌^[5-6]等,均有显著的抗癌活性。其中,减毒沙门菌(一种兼性厌氧菌)因其肿瘤靶向特异性高、肿瘤组织穿透能力强、具有广谱抑癌效果和安全性好等优点,被广泛应用于抗癌研究^[7-11]。

1 减毒沙门菌的抗肿瘤机制

减毒沙门菌对多种实体瘤具有广谱的靶向特异性,在肿瘤组织中细菌数量可达到肝脏、脾脏等正常器官中细菌数量的千倍甚至万倍以上。肿瘤组织中大量的减毒菌定植与增殖能够有效地直接杀伤肿瘤细胞,同时改善肿瘤免疫微环境,激活机体的抗肿瘤免疫。

1.1 肿瘤靶向特异性

目前,关于减毒沙门菌靶向肿瘤的相关机制尚无明确定论,究其因素可能有:(1)肿瘤组织中血管系统异常紊乱导致氧运输能力下降,缺氧环境有利于兼性厌氧菌的定植和增殖;(2)坏死的肿瘤细胞碎片为细菌生长与繁殖提供丰富的营养物质(如氨基酸、核酸等);(3)高度免疫抑制的肿瘤微环境有利于细菌逃离机体的免疫清除。细菌具有良好的组织穿透力,能在化疗、放疗无法起到治疗效果的缺氧区富集,这种特性使之成为理想的药物运输载体。总之,肿瘤微环境为沙门菌的生存和繁殖提供了理想的条件,有助于沙门菌在肿瘤部位富集并增殖。

1.2 对肿瘤的直接杀伤作用

有研究^[12-13]表明,当减毒沙门菌定居在肿瘤组织后,可通过与肿瘤细胞争夺营养物质、诱导肿瘤细胞的凋亡和自噬途径来直接杀死肿瘤。同时,减毒沙门菌的自身代谢产物亦可对肿瘤细胞产生直接杀伤。减毒沙门菌表达和分泌的大量代谢物可干扰细胞信号通路,从而影响细胞生长。研究^[14]表明,细菌代谢物在癌症治疗上具有很高的应用潜能。1991年,研究人员开始用沙门菌LPS对癌症患者进行I期临床试验,观察到癌症患者血清中的TNF- α 、IL-6和G-CSF均升高,并显示一定的抗肿瘤活性^[15]。随后对结直肠癌和非小细胞肺癌患者进行II期临床试验,结果显示,对结直肠癌患者具有较显著的抑癌效果,但是对非小细胞肺癌患者的治疗效果不明显^[16]。但纯化的沙门菌LPS对机体的毒性也限制了其进一步的应用。

1.3 改变肿瘤微环境及激活机体免疫系统

当细菌感染机体时,细菌的PAMP,包括LPS、鞭毛蛋白和核酸等,会被机体的PRR识别,激活机体的炎症信号通路(如炎症小体),进一步激活机体的固有与适应性免疫应答,杀死肿瘤细胞。另外,死亡的肿

瘤细胞进一步释放肿瘤抗原,从而激活抗原特异性的适应性免疫反应。沙门菌来源的LPS可增强肿瘤微环境中TNF- α 的水平,增强肿瘤特异性CD8⁺T细胞反应。其鞭毛蛋白能够抑制肿瘤细胞的增殖能力,降低CD4⁺CD25⁺调节性T(Treg)细胞的含量^[17]。最近有报道^[10,18-19],沙门菌鞭毛通过黑色素瘤微环境中的TLR5/NF- κ B信号通路,以及诱导巨噬细胞极化,激活机体免疫反应,从而发挥抗肿瘤效应。另有研究^[20-21]表明,减毒沙门菌可诱导连接蛋白43(connexin 43, Cx43)表达上调,促进肿瘤细胞与树突状细胞之间形成间隙连接,从而促进加工过的肿瘤抗原肽的转移和交叉表达,肿瘤细胞中Cx43的上调也降低了免疫抑制酶吲哚胺2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)的表达。树突状细胞交叉提呈的肿瘤抗原和IDO的降低进一步激活了CD8⁺T细胞,加强抗肿瘤免疫反应。

2 临床试验现状及其存在问题

到目前为止,多种减毒沙门菌进入临床试验(表1)。其中,鼠伤寒沙门菌VNP20009是首个进入I期临床试验的菌株,但在24名转移性黑色素瘤和转移性肾癌患者中的试验结果表明,VNP20009并未表现出预期的肿瘤靶向能力,没有达到预期的抗癌效果^[22]。为了提高VNP20009的抗癌能力,研究人员利用VNP20009表达可将5-氟胞嘧啶转化为有细胞毒性的5-氟尿嘧啶的大肠杆菌胞嘧啶脱氨酶,在患有食管腺癌和头颈部鳞状细胞癌的3位患者中进行试验,通过6个周期的治疗后结果显示,改造后的VNP20009的安全性显著提高,且无明显不良反应^[23]。减毒沙门菌VXM01,通过携带VEGFR-2表达质粒,在治疗晚期胰腺癌的I期临床试验中明显激活VEGFR-2的特异性T细胞反应并显著减少了肿瘤灌注;但是,在评估VXM01的安全性时,研究人员发现,与接受安慰剂治疗相比,接受VXM01治疗的患者出现血液中淋巴细胞减少、中性粒细胞增加和腹泻等免疫相关不良反应^[24-25]。表达人源IL-2的减毒沙门菌Saltikva在I期临床试验中可增加转移性胃肠道肿瘤患者循环NK细胞和NK-T细胞,且未观察到对机体的毒性或不良反应,这为使用多种减毒沙门菌介导的肿瘤免疫疗法联合其他疗法的策略提供了可能性^[26]。目前,Saltikva的II期临床试验正在招募志愿患者中。

但减毒沙门菌在临床试验中,显示出了一定的局限性,主要为与在动物肿瘤模型中展现出的抗癌效果和生物安全性不一致,这可能是由多方面原因造成的,如减毒菌的过度弱化、宿主免疫系统的差异性、肿瘤生长速度和微环境等的不同,都可能会改变

细菌在肿瘤微环境中的行为,进而导致临床试验结果未及预期。另外,临床试验结果揭示,单一的减毒沙门菌肿瘤免疫疗法或许并不能达到理想的治疗效果,与其他治疗手段联合或将为肿瘤治疗提供新的策略。

表1 减毒沙门菌抗肿瘤相关临床试验

菌株	试验编号	试验阶段	肿瘤类型
VNP20009	NCT00004216	I	晚期或转移性实体瘤
	NCT00004988	I	转移性实体瘤
	NCT00006254	I	晚期实体瘤
VXM01	NCT01486329 ^[27]	I	晚期胰腺癌
	NCT02718430	I	结直肠癌
	NCT02718443	I	胶质母细胞瘤
SGN1	NCT05038150	I	晚期实体瘤
Saltikva	NCT01099631	I	肝癌,胆道癌
	NCT04589234	II	转移性胰腺癌
SS2017	NCT04049864	I	成神经细胞瘤
CVD908ssb -TXSVN	NCT03762291	I	多发性骨髓瘤

信息来源:<https://www.clinicaltrials.gov/ct2/home>

3 提高减毒沙门菌抗肿瘤效果的策略

减毒沙门菌基因编辑可操作性强,具有良好的应用转化前景。利用可控表达系统,可实现抗肿瘤药物在时空上精准表达递送,大幅度提高治疗的安全性。同时,将减毒工程菌与其他治疗方法联用,可进一步增强对肿瘤的治疗效果。

3.1 遗传工程改造

3.1.1 细菌毒性弱化 由于野生型细菌通常具有一定的毒性,因此需要通过基因改造降低其毒性,以提高治疗性细菌的安全性。VNP20009通过将腺嘌呤和脂质A合成所必需的两个基因 *purI* 和 *msbB* 进行突变,在弱化细菌毒性的同时提高其在富含嘌呤的肿瘤组织中定居和增殖的能力。但是,在一项 I 期临床研究^[22]中,由于VNP20009的毒性被过度弱化,导致其对转移性黑色素瘤患者和肾细胞癌患者无抑癌作用。A1-R,一种亮氨酸/精氨酸营养缺陷型沙门菌株,可诱导静息癌细胞进入细胞周期,即从G0/G1期进入到S/G2/M期,从而增强对化疗药物的敏感性^[28]。鸟苷四磷酸突变沙门菌株(Δ ppGpp),通过删除 *relA* 和 *spoT* 基因造成ppGpp合成缺陷,成为非侵袭性菌株,其毒力仅是野生型细菌的百万分之一^[29]。

3.1.2 增强肿瘤靶向特异性 细菌抑癌作用的前提是其能够在肿瘤组织定居和增殖,即细菌的抑癌

作用与定居在肿瘤组织中的抗癌细菌含量呈正相关。在VNP20009的临床 I 期临床试验^[22]中未表现出预期的靶向能力,从而没有达到理想的抗癌效果。因此,提高细菌的肿瘤靶向效率是BMCT抑癌效果的关键。通过在VNP20009表面表达CEA特异性ScFv以增强肿瘤靶向性,可显著抑制转染了人CEA表达质粒的MC38细胞小鼠结肠癌移植瘤的生长^[30]。另有研究^[31]表明,在 Δ ppGpp菌株膜外蛋白A上表达精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸肽,其可特异性结合在肿瘤细胞和肿瘤血管生成中过度表达的 $\alpha v\beta 3$ 整合素,从而增强细菌的肿瘤靶向性和抑癌作用。减毒沙门菌菌株YB1,通过遗传工程将菌株SL7207(*aroA*基因缺失)的必需基因 *asd* 替换为缺氧靶向启动子控制的基因结构,在有氧条件下阻断 *asd* 基因的表达,导致二氨基庚二酸, *diaminopimelate* (DAP) 合成受阻,使细菌在生长时发生裂解,以此提高YB1对缺氧肿瘤组织的靶向性^[32-33]。

3.1.3 递送多种抗癌因子提高抗肿瘤效果 减毒沙门菌不仅展现出显著的抗癌效果,还具有良好的组织穿透能力和肿瘤靶向特异性。因此,减毒沙门菌可作为抗癌药物的理想载体。目前,研究人员广泛研究了利用减毒沙门菌携带细胞毒性蛋白、细胞因子、肿瘤相关抗原、siRNA和前药转化酶等药物,可有效抑制肿瘤生长和延长荷瘤小鼠生存期。研究^[3]表明,利用减毒沙门菌表达的创伤弧菌鞭毛蛋白B (*Vibrio vulnificus* flagellin B, FlaB) 能有效改善肿瘤免疫微环境,解除免疫抑制信号,使小鼠结肠癌皮下肿瘤显著消退甚至完全消失,并且显著抑制原位结肠癌的生长及转移。由 Δ ppGpp减毒菌表达的溶细胞素A (*cytolysin A*, ClyA) 可引起哺乳动物细胞膜孔洞形成,诱导细胞坏死,破坏肿瘤基质细胞,提高肿瘤微环境中的免疫细胞浸润,显著抑制肿瘤生长甚至导致肿瘤消失^[34]。细胞因子通过促进免疫细胞的活化、增殖和迁移等促进杀伤肿瘤细胞。利用减毒沙门菌表达IL-2,可抑制瘤内血管生成,增加瘤内坏死,并有效诱导局部和系统性NK细胞增殖,增强抗肿瘤反应^[35]。以VNP20009为载体,在瘤内表达可将无毒的5-氟胞嘧啶转化为具抗肿瘤活性的5-氟尿嘧啶的大肠杆菌胞嘧啶脱氨酶,在抑制肿瘤的同时,大大降低了机体的系统毒性^[36]。瘤内高度表达的免疫抑制因子IDO可显著抑制抗肿瘤免疫反应,通过减毒沙门菌携带编码IDO shRNA的质粒能够增强中性粒细胞在肿瘤组织中的浸润,激活固有免疫应答,进一步抑制肿瘤生长、促进肿瘤死亡^[37]。相关减毒沙门菌表达免疫调节子的研究总结见表2。

3.2 采用可控化表达系统

抗癌基因的高水平持续性表达会对机体正常组

织产生毒性。因此,抗癌基因表达的远程精准调控对BMCT是极其重要的。 γ 射线诱导的pRecA启动子需要电离辐射,但辐射会对正常组织造成损伤^[53]。因此,采用安全型诱导表达系统(如pBAD、pTet和Pm等),即通过给予外源诱导剂(如L-阿拉伯糖、四环素

和乙酰水杨酸等)实现抗癌药物可控化释放,可大幅度降低对机体正常组织的毒性^[3,54]。目前新兴的利用肿瘤微环境响应的低氧诱导的启动子系统(HIP-1和NirB)^[55-56]及细菌密度依赖性的群体感应系统^[57],也是一类调控抗癌药物精准表达的理想手段。

表2 减毒沙门菌表达免疫调节因子的相关研究

类型	名称	参考文献
免疫调节因子	细胞因子及趋化因子,如TNF- α 、IFN- γ 、IL-2、LIGHT、CCL21等	[26] [35] [38-41]
	肿瘤相关抗原/抗体,如neoantigen、VEGFR-2、HPV16 E7等	[42-44]
毒性蛋白	细菌毒素和免疫毒素,如ClyA、FlaB、Laz等	[3] [34] [45]
	凋亡相关蛋白,如sATF6、TRAIL、AIF等	[11] [46-47]
前药转化酶	CPG2、CD、HSV1-tk	[23] [48-49]
siRNA	IDO、STAT3、PD-1等	[50-52]

LIGHT:即TNF超家族成员14(tumor necrosis factor ligand superfamily member 14, TNFSF14);CCL21:淋巴细胞趋化因子21;Neoantigen:新抗原;HPV16 E7:人乳头状病毒致癌蛋白E7;ClyA:溶细胞素A;FlaB:创伤弧菌鞭毛蛋白B;Laz:Azurin样蛋白;sATF6:剪切转录激活因子6;TRAIL:肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体;AIF:凋亡诱导因子;CPG2:羧肽酶G2;CD:大肠杆菌胞嘧啶脱氨酶;HSV1-tk:单纯疱疹病毒I型胸苷激酶;IDO:吡啶胺2,3-双加氧酶;STAT3:信号转导与转录激活因子3;PD-1:程序性死亡受体1

3.3 联合治疗

虽然减毒沙门菌有许多抗肿瘤的的优点,但在I期临床试验中,由于减毒沙门菌的肿瘤靶向性和细菌的毒性作用而无法达到预期的抗癌效果。考虑到癌症治疗的复杂性,单一疗法并不能实现良好的抗癌作用,需联合其他疗法以增强抑瘤效果或达到治愈的目的。

3.3.1 与手术联合 原发性肿瘤手术切除后,对转移性肿瘤无法完全清除。有研究^[58-59]显示,术后进行沙门菌治疗可显著减少癌转移,并有效提高患者生存期,表明在手术切除后进行减毒沙门菌治疗的临床潜力。

3.3.2 与化疗联合 由于肿瘤中血管系统的紊乱及不完整性,阻碍了化疗药物在肿瘤组织中的扩散,特别是在坏死和缺氧组织区域的传递,易造成肿瘤耐药。为了克服化疗中所面临的肿瘤靶向不足、组织穿透性差和靶细胞毒性低等问题,利用细菌可以穿透肿瘤组织、定居在坏死区和缺氧区的能力,将BMCT和化疗相结合,一方面可以降低高剂量化疗药物对机体的毒性作用,另一方面可促进细菌在肿瘤中的定植,提高抑癌效果^[60-61]。有研究^[60]表明,抑制炎症和血管生成的化合物雷公藤甲素可通过减少黑色素瘤中浸润的中性粒细胞的数量,增加VNP20009在肿瘤定植的数量,进而显著抑制肿瘤生长,提高小鼠存活率。另一项研究^[62]表明,将对机体有严重毒性的肺癌治疗药物紫杉醇制备成紫杉醇脂

质体后电转化到细菌中,以气管给药的方式治疗原发性大鼠肺癌,通过激活机体免疫反应,可显著提高抗癌效果。因此,将BMCT与化疗相结合,可协同增强抗癌效果。

3.3.3 与放疗联合 放疗是基于电离辐射使DNA双链断裂、造成DNA损伤,从而杀死肿瘤细胞的治疗方法。然而,放疗的有效性主要取决于组织中氧的含量,坏死与缺氧区域的低氧浓度是导致治疗失败的主要原因。有研究^[63-64]表明,减毒沙门菌与放疗相结合,产生的抗肿瘤效果显著强于单独治疗。

3.3.4 与免疫疗法联合 过继T细胞疗法与活的或热灭活的鼠伤寒沙门菌联合治疗,可显著增强过继性T细胞的增殖能力,改变肿瘤微环境,增强抗肿瘤活性,并有效抑制肿瘤的复发^[65]。将光热材料聚多巴胺包裹在VNP20009表面,同时将抗PD-1肽承载于磷脂相变凝胶内以达到原位缓释的目的,利用细菌、光热和免疫三重联合治疗策略,能达到更有效的抗癌作用^[66]。PD-1抗体作为一种高效的肿瘤免疫疗法,已应用于临床肿瘤治疗,但其低应答率、免疫相关不良反应多等也限制了其广泛应用。有研究^[67]将光热敏感脂质体(pH-temperature dual-sensitive liposome, PTSL)与减毒沙门菌外膜囊泡(outer membrane vesicle, OMV)融合制成的仿生级联靶向纳米系统(siRNA@PLOV)应用于肿瘤治疗,该系统不仅保留了OMV的生物学特性,还增强了载药能力,联合治疗明显增加T细胞的浸润,可有效提高T细胞的细胞毒性和抗癌活性。

3.3.5 与光热疗法联合 光热疗法是指利用外部光源照射到瘤内的具有较高光热转换效率的材料,将光能转化成热能,从而杀死肿瘤的新兴抗癌手段。有研究^[68]表明,使用纳米材料聚多巴胺以氧化和自聚合方式包裹VNP20009,通过尾静脉注射的减毒菌特异性靶向肿瘤后,通过近红外激光照射治疗,消除了肿瘤的复发和转移。有趣的是,细菌疗法协同光热疗法还可增强彼此的抑癌能力,从而产生更好的抗癌效果。

4 展望

BMCT是一个快速发展的诱导全身抗肿瘤免疫的肿瘤治疗领域,是直接杀伤肿瘤、激活抗肿瘤免疫反应的新型肿瘤治疗方法。虽然关于BMCT的研究已有一百多年,但到目前为止,只有减毒牛型结核杆菌(*Mycobacterium bovis*)悬液制成的活菌苗即卡介苗(*Bacille Calmette-Guérin*, BCG)已成功应用于临床膀胱癌患者的治疗。因此, BMCT在向临床转化之前,仍有一些问题需要解决。减毒沙门菌虽显示出良好的转化潜能,但仍有一些方面需要进一步提升。第一,安全性问题。安全性是肿瘤治疗的先决条件,沙门菌如何在进行适当的减毒化处理后,仍保持良好的抗肿瘤活性,是需要研究人员持续探索的问题。VNP20009临床试验的失败,可能是因为细菌毒性过度弱化而导致无抑癌效果。新近研究^[69]报道,利用辐射诱变技术获得了超耐氧的减毒沙门菌株KST0650,在感染CT26细胞小鼠移植瘤模型的14 d中, KST0650在肿瘤组织中都维持较高且稳定的浓度,但不能有效地抑制肿瘤生长和提高小鼠生存率。在生物技术支撑下,兼顾安全性与抗肿瘤活性的减毒沙门菌株会很快构建成功。第二,抗菌免疫。治疗菌株的预暴露会降低抑癌效果,因此在细菌治疗肿瘤患者前,了解其免疫背景是非常必要的。不过,有研究^[46]报道,营养缺陷型沙门菌株SF200(Δ lpxR9 Δ pagL7 Δ pagP8 Δ aroA Δ ydiV Δ fliF)对机体的免疫刺激能力显著增强,可克服预先暴露会限制抗肿瘤活性的问题。第三,减毒沙门菌的给药方式。口服细菌较静脉注射的生物利用度低,肿瘤抑制能力也较差,可能的原因是口服细菌在到达肿瘤组织前被胃肠道消化而失活。研制能够保持活性的口服细菌制剂在临床治疗中是非常有必要的。有研究^[70]报道,通过生物界面的超分子自组装,在15 min内便可完成生物相容性脂质体包裹大肠杆菌,提高细菌在胃肠道恶劣条件下的生存能力。未来,对于减毒沙门菌治疗的给药途径需要进一步优化。此外,在机制研究方面,减毒沙门菌的肿瘤靶向

性及抗肿瘤的机制目前还不甚清楚。许多研究使用了不同的菌株、肿瘤小鼠模型、给药途径、细菌剂量及给药次数等,进一步表明了减毒沙门菌抗肿瘤机制的复杂性。因此,只有深入了解减毒沙门菌的肿瘤靶向性及抗肿瘤机制,才能最大化地提高抗肿瘤疗效。

综上,虽然减毒沙门菌介导的肿瘤治疗在临床试验中还未达到预期效果,但基于减毒沙门菌抗肿瘤治疗与传统治疗相比存在许多显著的优势,仍值得深入探究。随着现代生物科技的发展与多学科的交叉融合,减毒沙门菌介导的肿瘤治疗在临床转化方面有着巨大的潜力与良好的临床应用前景。

[参考文献]

- [1] MCCARTHY E F. The toxins of William B. Coley and the treatment of bone and soft-tissue sarcomas [J/OL]. *Iowa Orthop J*. 2006, 26: 154-158[2022-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1888599/>.
- [2] ZHOU S, 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.
- [3] 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[2022-03-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28179508/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.aak9537.
- [4] HOCHNADEL I, HOENICKE L, PETRIV N, et al. Safety and efficacy of prophylactic and therapeutic vaccine based on live-attenuated *Listeria monocytogenes* in hepatobiliary cancers[J]. *Oncogene*, 2022, 41(14):2039-2053. DOI: 10.1038/s41388-022-02222-z.
- [5] WEI, B, PAN, J, YUAN, R, et al. Polarization of tumor-associated macrophages by nanoparticle-loaded *Escherichia coli* combined with immunogenic cell death for cancer immunotherapy[J]. *Nano Lett*, 2021, 21(10): 4231-4240. DOI: 10.1021/acs.nanolett.1c00209.
- [6] HARIMOTO T, HAHN J, CHENY Y, et al. A programmable encapsulation system improves delivery of therapeutic bacteria in mice[J/OL]. *Nat Biotechnol*, 2022[2022-03-25]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35301496/>. DOI:10.1038/s41587-022-01244-y.
- [7] WANG D, WEI X, KALVAKOLANU D V, et al. Perspectives on oncolytic *Salmonella* in cancer immunotherapy-A promising strategy [J/OL]. *Front Immunol*, 2021, 12: 615930[2022-03-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33717106/>. DOI: 10.3389/fimmu.2021.615930.
- [8] HAMADAK, AOKI Y, YAMAMOTOJ, et al. *Salmonella typhimurium* A1-R exquisitely targets and arrests a matrix-producing triple-negative breast carcinoma in PDX model 1 [J/OL]. *In Vivo*, 2021, 35(6): 3067-3071[2022-03-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8627766/>. DOI: 10.21873/invivo.12602.
- [9] CHENW F, ZHUY N, ZHANGZ R, et al. Advances in *Salmonella typhimurium*-based drug delivery system for cancer therapy[J/OL]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2022, 185: 114295[2022-06-05]. [https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169409X22001855?via%](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169409X22001855?via%3)

- 3Dihub. DOI:10.1016/j.addr.2022.114295.
- [10] MÓNACO A, CHILIBROSTE S, YIM L, *et al.* Inflammasome activation, NLRP3 engagement and macrophage recruitment to tumor microenvironment are all required for *Salmonella* antitumor effect[J/OL]. *Cancer Immunol Immunother*, 2022[2022-03-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35061085/>. DOI: 10.1007/s00262-022-03148-x.
- [11] LIANG K, ZHANG R, LUO H Y, *et al.* Optimized attenuated *Salmonella typhimurium* suppressed tumor growth and improved survival in mice[J/OL]. *Front Microbiol*, 2021, 12: 774490[2022-03-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8733734/>. DOI: 10.3389/fmicb.2021.774490.
- [12] LI M, LU M, LAI Y, *et al.* Inhibition of acute leukemia with attenuated *Salmonella typhimurium* strain VNP20009[J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 129:110425[2022-03-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32570123/>. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110425.
- [13] LEE C H, LIN S T, LIU J J, *et al.* *Salmonella* induce autophagy in melanoma by the downregulation of AKT/mTOR pathway[J]. *Gene Ther*, 2014, 21(3): 309-316. DOI: 10.1038/gt.2013.86.
- [14] FELGNER S, SPÖRING I, PAWAR V, *et al.* The immunogenic potential of bacterial flagella for *Salmonella*-mediated tumor therapy[J/OL]. *Int J Cancer*, 2020, 147(2): 448-460[2022-03-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31755108/>. DOI: 10.1002/ijc.32807.
- [15] ENGELHARDT R, MACKENSEN A, GALANOS C. Phase I trial of intravenously administered endotoxin (*Salmonella abortusequi*) in cancer patients[J]. *Cancer Res*, 1991, 51(10):2524-2530.
- [16] OTTO F, SCHMIDP, MACKENSENA, *et al.* Phase II trial of intravenous endotoxin in patients with colorectal and non-small cell lung cancer[J]. *Eur J Cancer*, 1996, 32A(10): 1712-1718. DOI: 10.1016/0959-8049(96)00186-4.
- [17] COLLF, HARRISON M, TOLEMAN S, *et al.* Longitudinal genomic surveillance of MRSA in the UK reveals transmission patterns in hospitals and the community[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(413): eaak9745[2022-03-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5683347/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.aak9745.
- [18] CHENJ X, QIAOY T, CHENG, *et al.* *Salmonella* flagella confer anti-tumor immunological effect via activating Flagellin/TLR5 signalling within tumor microenvironment[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(10): 3165-3177. DOI: 10.1016/j.apsb.2021.04.019.
- [19] PANGILINANCER, WUL H, LEEC H. *Salmonella* impacts tumor-induced macrophage polarization, and inhibits SNAIL-mediated metastasis in melanoma[J/OL]. *Cancers*, 2021, 13(12): 2894[2022-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8230152/>. DOI: 10.3390/cancers13122894.
- [20] SACCHERI F, POZZI C, AVOGADRI F, *et al.* Bacteria-induced gap junctions in tumors favor antigen cross-presentation and antitumor immunity[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2010, 2(44): 44-57 [2022-03-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20702856/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.3000739.
- [21] LIN H C, YANG C J, KUAN Y D, *et al.* The inhibition of indoleamine 2, 3-dioxygenase 1 by connexin 43[J/OL]. *Int J Med Sci*, 2017, 14(12): 1181-1188[2022-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5666550/>. DOI:10.7150/ijms.20661.
- [22] TOSOJ F, GILLV J, HWUP, *et al.* Phase I study of the intravenous administration of attenuated *Salmonella typhimurium* to patients with metastatic melanoma[J/OL]. *J Clin Oncol*, 2002, 20(1): 142-152[2022-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2064865/>. DOI: 10.1200/JCO.2002.20.1.142.
- [23] NEMUNAITIS J, CUNNINGHAM C, SENZER N, *et al.* Pilot trial of genetically modified, attenuated *Salmonella* expressing the *E. coli* cytosine deaminase gene in refractory cancer patients[J]. *Cancer Gene Ther*, 2003, 10(10): 737-744. DOI:10.1038/sj.cgt.7700634.
- [24] SCHMITZ-WINNENTHAL F H, HOHMANN N, NIETHAMMER A G, *et al.* Anti-angiogenic activity of VXM01, an oral T-cell vaccine against VEGF receptor 2, in patients with advanced pancreatic cancer: a randomized, placebo-controlled, phase I trial [J/OL]. *Oncoimmunology*, 2015, 4(4): e1001217[2022-03-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4485742/>. DOI: 10.1080/2162402X.2014.1001217.
- [25] SCHMITZ-WINNENTHAL F H, HOHMANN N, SCHMIDT T, *et al.* A phase I trial extension to assess immunologic efficacy and safety of prime-boost vaccination with VXM01, an oral T cell vaccine against VEGFR2, in patients with advanced pancreatic cancer[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2018, 7(4): e1303584 [2022-03-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5889207/>. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1303584.
- [26] GNIADEK T J, AUGUSTIN L, SCHOTTEL J, *et al.* A phase I , dose escalation, single dose trial of oral attenuated *Salmonella typhimurium* containing human IL-2 in patients with metastatic gastrointestinal cancers[J/OL]. *J Immunother*, 2020, 43(7): 217-221 [2022-03-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7458080/>. DOI: 10.1097/CJI.0000000000000325.
- [27] NIETHAMMER A G, LUBENAU H, MIKUS G, *et al.* Double-blind, placebo-controlled first in human study to investigate an oral vaccine aimed to elicit an immune reaction against the VEGF-Receptor 2 in patients with stage IV and locally advanced pancreatic cancer[J/OL]. *BMC Cancer*. 2012, 12:361[2022-03-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3493262/>. DOI: 10.1186/1471-2407-12-361.
- [28] YANOS, ZHANGY, ZHAOM, *et al.* Tumor-targeting *Salmonella typhimurium* A1-R decoys quiescent cancer cells to cycle as visualized by FUCCI imaging and become sensitive to chemotherapy[J/OL]. *Cell Cycle*, 2014, 13(24): 3958-3963[2022-03-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4615054/>. DOI: 10.4161/15384101.2014.964115.
- [29] NAH S, KIMH J, LEEH C, *et al.* Immune response induced by *Salmonella typhimurium* defective in ppGpp synthesis[J]. *Vaccine*, 2006,24(12): 2027-2034. DOI: 10.1016/j.vaccine.2005.11.031.
- [30] BERETAM, HAYHURSTA, GAJDAM, *et al.* Improving tumor targeting and therapeutic potential of *Salmonella* VNP20009by displaying cell surface CEA-specific antibodies[J]. *Vaccine*, 2007,25 (21): 4183-4192. DOI: 10.1016/j.vaccine.2007.03.008.
- [31] PARK S H, ZHENG J H, NGUYEN V H, *et al.* RGD peptide cell-surface display enhances the targeting and therapeutic efficacy of attenuated *Salmonella*-mediated cancer therapy[J/OL]. *Theranostics*, 2016, 6(10): 1672-1682[2022-03-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4955065/>. DOI:10.7150/thno.16135.
- [32] YU B, YANG M, SHI L, *et al.* Explicit hypoxia targeting with tumor suppression by creating an "obligate" anaerobic *Salmonella*

- typhimurium* strain[J/OL]. Sci Rep, 2012, 2: 436[2022-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3365283/>. DOI: 10.1038/srep00436.
- [33] LIN Q, RONG L, JIA X, *et al.* IFN- γ -dependent NK cell activation is essential to metastasis suppression by engineered *Salmonella* [J/OL]. Nat Commun. 2021, 12(1): 2537[2022-03-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33953170/>. DOI: 10.1038/s41467-021-22755-3.
- [34] TAN W Z, DUONG M T, ZUO C H, *et al.* Targeting of pancreatic cancer cells and stromal cells using engineered oncolytic *Salmonella typhimurium*[J/OL]. Mol Ther, 2022, 30(2): 662-671 [2022-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8821930/>. DOI: 10.1016/j.ymthe.2021.08.023.
- [35] SORENSON B S, BANTON K L, FRYKMAN N L, *et al.* Attenuated *Salmonella typhimurium* with IL-2 gene reduces pulmonary metastases in murine osteosarcoma[J/OL]. Clin Orthop Relat Res, 2008, 466(6): 1285-1291[2022-03-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2384016/>. DOI: 10.1007/s11999-008-0243-2.
- [36] KING I, BERMUDES D, LIN S, *et al.* Tumor-targeted *Salmonella* expressing cytosine deaminase as an anticancer agent[J]. Hum Gene Ther, 2002, 13(10): 1225-1233. DOI: 10.1089/104303402320139005.
- [37] PHAN T, NGUYEN V H, D'ALINCOURT M S, *et al.* *Salmonella*-mediated therapy targeting indoleamine 2, 3-dioxygenase 1 (IDO) activates innate immunity and mitigates colorectal cancer growth [J/OL]. Cancer Gene Ther, 2020, 27(3/4): 235-245[2022-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8177749/>. DOI: 10.1038/s41417-019-0089-7.
- [38] LOEFFLER M, LE'NEGRATE G, KRAJEWSKA M, *et al.* Attenuated *Salmonella* engineered to produce human cytokine LIGHT inhibit tumor growth[J/OL]. Proc Natl AcadSci USA, 2007, 104(31): 12879[2022-03-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1937560/>. DOI: 10.1073/pnas.0701959104.
- [39] LOEFFLER M, LE'NEGRATE G, KRAJEWSKA M, *et al.* *Salmonella typhimurium* engineered to produce CCL21 inhibit tumor growth[J]. Cancer Immunol Immunother, 2009, 58(5): 769-775. DOI:10.1007/s00262-008-0555-9.
- [40] YOON W, PARK Y C, KIM J, *et al.* Application of genetically engineered *Salmonella typhimurium* for interferon-gamma-induced therapy against melanoma[J]. Eur J Cancer, 2017, 70: 48-61. DOI: 10.1016/j.ejca.2016.10.010.
- [41] YOON W S, CHAE Y S, HONG J, *et al.* Antitumor therapeutic effects of a genetically engineered *Salmonella typhimurium* harboring TNF- α in mice[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2011, 89(6): 1807-1819. DOI: 10.1007/s00253-010-3006-4.
- [42] HYUN J, JUN S, LIM H, *et al.* Engineered attenuated *Salmonella typhimurium* expressing neoantigen has anticancer effects[J]. ACS Synth Biol. 2021,10(10):2478-2487. DOI: 10.1021/acssynbio.1c00097.
- [43] NIETHAMMER A G, XIANG R, BECKER J C, *et al.* A DNA vaccine against VEGF receptor 2 prevents effective angiogenesis and inhibits tumor growth[J]. Nat Med, 2002, 8(12): 1369-1375. DOI: 10.1038/nm1202-794.
- [44] YOON W, CHOI J H, KIM S, *et al.* Engineered *Salmonella typhimurium* expressing E7 fusion protein, derived from human papillomavirus, inhibits tumor growth in cervical tumor-bearing mice[J]. Biotechnol Lett, 2014, 36(2): 349-356. DOI: 10.1007/s10529-013-1370-8.
- [45] MANSOUR M, ISMAIL S, ABOU-AISHA K. Bacterial delivery of the anti-tumor azurin-like protein Laz to glioblastoma cells[J/OL]. AMB Express, 2020, 10(1): 59[2022-03-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7099546/>. DOI: 10.1186/s13568-020-00995-8.
- [46] FELGNER S, KOCIJANCIC D, FRAHM M, *et al.* Engineered *Salmonella enteric* serovar Typhimurium overcomes limitations of anti-bacterial immunity in bacteria-mediated tumor therapy[J/OL]. Oncoimmunology, 2017, 7(2): e1382791[2022-03-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5749626/>. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1382791.
- [47] WANG H, CHEN T T, WAN L X, *et al.* Attenuated *Salmonella* engineered with an apoptosis-inducing factor (AIF) eukaryotic expressing system enhances its anti-tumor effect in melanoma *in vitro* and *in vivo*[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2020, 104(8): 3517-3528. DOI:10.1007/s00253-020-10485-3.
- [48] FRIEDLOS F, LEHOURITIS P, OGILVIE L, *et al.* Attenuated *Salmonella* targets prodrug activating enzyme carboxypeptidase G2 to mouse melanoma and human breast and colon carcinomas for effective suicide gene therapy[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(13): 4259-4266. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4800.
- [49] SOGHOMONYAN S A, DOUBROVIN M, PIKE J, *et al.* Positron emission tomography (PET) imaging of tumor-localized *Salmonella* expressing HSV1-TK[J]. Cancer Gene Ther, 2005, 12(1): 101-108. DOI: 10.1038/sj.cgt.7700779.
- [50] EBELT N D, ZUNIGA E, MARZAGALLI M, *et al.* *Salmonella*-based therapy targeting indoleamine 2, 3-dioxygenase restructures the immune contexture to improve checkpoint blockade efficacy [J/OL]. Biomedicines, 2020, 8(12): E617[2022-03-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7765568/>. DOI: 10.3390/biomedicines8120617.
- [51] LI X, LI Y, WANG B, *et al.* Delivery of the co-expression plasmid pEndo-Si-Stat3 by attenuated *Salmonella* serovar typhimurium for prostate cancer treatment[J/OL]. J Cancer Res Clin Oncol, 2013, 139(6): 971-980[2022-03-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3874139/>. DOI: 10.1007/s00432-013-1398-0.
- [52] JIA X, GUO J, GUO S, *et al.* Antitumor effects and mechanisms of CpG ODN combined with attenuated *Salmonella*-delivered siRNAs against PD-1[J/OL]. Int Immunopharmacol, 2021, 90: 107052[2022-03-05]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567576920320087?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.107052.
- [53] NUYTS S, VAN MELLAERT L, THEYS J, *et al.* Radio-responsive recA promoter significantly increases TNF α production in recombinant clostridia after 2 Gy irradiation[J]. Gene Ther, 2001, 8(15):1197-1201. DOI: 10.1038/sj.gt.3301499.
- [54] ROYO J L, BECKER P D, CAMACHO E M, *et al.* *In vivo* gene regulation in *Salmonella* spp. by a salicylate-dependent control circuit[J]. Nat Methods, 2007, 4(11): 937-942. DOI: 10.1038/nmeth1107.
- [55] MENGESHA A, DUBOIS L, LAMBIN P, *et al.* Development of a flexible and potent hypoxia-inducible promoter for tumor-targeted gene expression in attenuated *Salmonella*[J]. Cancer Biol Ther, 2006, 5(9): 1120-1128. DOI: 10.4161/cbt.5.9.2951.

- [56] YANG Y W, ZHANG C M, HUANG X J, *et al.* Tumor-targeted delivery of a C-terminally truncated FADD (N-FADD) significantly suppresses the B16F10 melanoma *via* enhancing apoptosis[J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6: 34178[2022-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5073321/>. DOI: 10.1038/srep34178.
- [57] KIM K, MIN S Y, LIM H D, *et al.* Cell mass-dependent expression of an anticancer protein drug by tumor-targeted *Salmonella*[J/OL]. *Oncotarget*, 2018, 9(9): 8548-8559[2022-03-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5823552/>. DOI: 10.18632/oncotarget.24013.
- [58] MURAKAMI T, HIROSHIMA Y, ZHAO M, *et al.* Adjuvant treatment with tumor-targeting *Salmonella typhimurium* A1-R reduces recurrence and increases survival after liver metastasis resection in an orthotopic nude mouse model[J]. *Oncotarget*, 2015, 6 (39): 41856-62. DOI: 10.18632/oncotarget.6170.
- [59] BADIE F, GHANDALI M, TABATABAEI S A, *et al.* Use of *Salmonella* bacteria in cancer therapy: direct, drug delivery and combination approaches[J/OL]. *Front Oncol*, 2021, 11: 624759 [2022-03-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33738260/>. DOI: 10.3389/fonc.2021.624759.
- [60] CHEN J X, QIAO Y T, TANG B, *et al.* Modulation of *Salmonella* tumor-colonization and intratumoral anti-angiogenesis by triptolide and its mechanism[J/OL]. *Theranostics*, 2017, 7(8): 2250-2260 [2022-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5505057/>. DOI:10.7150/thno.18816.
- [61] IGARASHI K, KAWAGUCHI K, ZHAO M, *et al.* Exquisite tumor targeting by *Salmonella* A1-R in combination with caffeine and valproic acid regresses an adult pleomorphic rhabdomyosarcoma patient-derived orthotopic xenograft mouse model[J/OL]. *Transl Oncol*, 2020, 13(2): 393-400[2022-03-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6940643/>. DOI: 10.1016/j.tranon.2019.10.005.
- [62] ZHANG M M, LI M, DU L N, *et al.* Paclitaxel-in-liposome-in-bacteria for inhalation treatment of primary lung cancer[J/OL]. *Int J Pharm*, 2020, 578: 119177[2022-03-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32105724/>. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2020.119177.
- [63] YOON W, PARK Y, KIM S, *et al.* Combined therapy with microRNA-expressing *Salmonella* and irradiation in melanoma [J/OL]. *Microorganisms*, 2021, 9(11): 2408[2022-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8621892/>. DOI: 10.3390/microorganisms9112408.
- [64] LIU X D, JIANG S N, PIAO L H, *et al.* Radiotherapy combined with an engineered *Salmonella typhimurium* inhibits tumor growth in a mouse model of colon cancer[J/OL]. *ExpAnim*, 2016, 65(4): 413-418[2022-03-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5111844/>. DOI: 10.1538/expanim.16-0033.
- [65] BINDER D C, ARINA A, WEN F, *et al.* Tumor relapse prevented by combining adoptive T cell therapy with *Salmonella typhimurium* [J/OL]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(6): e1130207[2022-03-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4938310/>. DOI: 10.1080/2162402X.2015.1130207.
- [66] CHEN W F, GUOZ F, ZHUY N, *et al.* Combination of bacterial-photothermal therapy with an anti-PD-1 peptide depot for enhanced immunity against advanced cancer[J/OL]. *Adv Funct Mater*, 2020, 30(1): 1906623 [2022-03-05]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adfm.201906623>. DOI: 10.1002/adfm.201906623.
- [67] ZHAI Y W, MA Y Y, PANG B, *et al.* A cascade targeting strategy based on modified bacterial vesicles for enhancing cancer immunotherapy[J/OL]. *J Nanobiotechnology*, 2021, 19(1): 434[2022-03-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34930285/>. DOI: 10.1186/s12951-021-01193-9.
- [68] 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.
- [69] GAO S, JUNG J H, LIN S M, *et al.* Development of oxytolerant *Salmonella typhimurium* using radiation mutation technology (RMT) for cancer therapy[J/OL]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 3764[2022-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7048768/>. DOI: 10.1038/s41598-020-60396-6.
- [70] CAO Z P, WANG X Y, PANG Y, *et al.* Biointerfacial self-assembly generates lipid membrane coated bacteria for enhanced oral delivery and treatment[J/OL]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 5783 [2022-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6923387/>. DOI: 10.1038/s41467-019-13727-9.

[收稿日期] 2022-03-25

[修回日期] 2022-06-10

[本文编辑] 阮芳铭, 沈志超