

益生菌在消化系肿瘤治疗中的潜在应用价值

王健生, 张明鑫

王健生, 张明鑫, 西安交通大学医学院第一附属医院肿瘤中心 陕西省西安市 710061

王健生, 教授, 主任医师, 医学博士, 主要从事肿瘤的生物信息学和肿瘤生物治疗研究。

高等学校博士点学科专项科研基金资助项目, No. 20060698055

教育部新世纪优秀人才支持计划资助项目, No. NCET-06-0838

作者贡献分布: 本文主要贡献者为王健生, 负责文章的构思、设计、论证及评述; 由王健生和张明鑫共同完成。

通讯作者: 王健生, 710061, 陕西省西安市雁塔西路277号, 西安交通大学医学院第一附属医院肿瘤中心。

wangjsh@mail.xjtu.edu.cn

电话: 029-85324613

收稿日期: 2009-01-19 修回日期: 2009-02-20

接受日期: 2009-02-26 在线出版日期: 2009-02-28

Potential therapeutic uses of probiotics in gastrointestinal cancers

Jian-Sheng Wang, Ming-Xin Zhang

Jian-Sheng Wang, Ming-Xin Zhang, Department of Oncology Center, the First Affiliated Hospital of Medical College, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, Shannxi Province, China

Supported by: the Specialized Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education, No. 20060698055, and the Program for New Century Excellent Talents in University of China Under Grant, No. NCET-06-0838

Correspondence to: Professor Jian-Sheng Wang, Department of Oncology Surgery, the First Affiliated Hospital of Medical College, Xi'an Jiaotong University, 277 Yanta West Road, Xi'an 710061, Shannxi Province, China. wangjsh@mail.xjtu.edu.cn

Received: 2009-01-19 Revised: 2009-02-20

Accepted: 2009-02-26 Published online: 2009-02-28

Abstract

Application of bacterial targeted tumour therapy has a long history. However, the side effects such as toxin has limited their further research and clinical use. With the discovery of probiotics, and advance in science and technology, probiotics has become an alternative anticancer therapy with few side effects. Recently, various researches have prompted the development of gene therapy protocols that use probiotics as gene delivery vehicles. As the main place for colonizing, gastrointestinal tract has a close relationship with probiotics. Therefore, it has provided new point and opportunities

for treatment of gastrointestinal cancers with probiotics. In this review, we discuss probiotics and its use in treatment of gastrointestinal cancers.

Key Words: Probiotics; Gastroenterology; Tumor

Wang JS, Zhang MX. Potential therapeutic uses of probiotics in gastrointestinal cancers. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(6): 539-543

摘要

应用细菌治疗肿瘤有着悠久的历史,但毒性等不良反应限制了相关基础研究及临床应用。益生菌的发现和 Related 技术的进步,使其在治疗肿瘤的同时降低毒副作用。近年来的研究进展使益生菌有望成为一种肿瘤基因治疗的载体。作为益生菌寄居的主要场所,消化系与益生菌关系密切,为益生菌和消化系肿瘤的结合提供了新的切入点,也为消化系肿瘤的治疗带来新的契机。本文将对益生菌及其在消化系肿瘤治疗中的产生、发展及发展方向作一综述。

关键词: 益生菌; 消化系; 肿瘤

王健生, 张明鑫. 益生菌在消化系肿瘤治疗中的潜在应用价值. *世界华人消化杂志* 2009; 17(6): 539-543

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/539.asp>

0 引言

近年来一系列肿瘤分子表面标志物的发现为肿瘤的基因治疗奠定了基础,大量的病毒及非病毒载体被开发并应用于肿瘤基因治疗,但基因传递效率低、时间短、血流动力学不稳定以及肿瘤靶向性不高等都限制了其临床应用。一些细菌全身给药后,能够在肿瘤处聚集并定殖,但致病性细菌毒性大,临床应用亦不安全,更多的研究围绕减毒性细菌和益生菌开展。益生菌(probiotics)是能够与宿主共存、且能产生促进宿主肠道微生态平衡效应物质的活性微生物,较致病菌和减毒性细菌具有更大的应用优势。消化系是益生菌寄居的主要场所,是益生菌和

■背景资料

益生菌作为商用生物制剂已有1000多年的历史,比较广泛的应用有酸奶制品、食物添加剂以及一些非处方药。虽然应用范围已从一般的腹泻到感染性疾病,但是许多医生对其适应证和禁忌证仍不清晰。近些年来,随着循证医学的不断发展,大量临床随机、双盲、对照试验在逐步开展中,已经证实益生菌在儿童及成人腹泻、炎症性肠病、慢性肠炎、泌尿生殖疾病、过敏性疾病都具有确切的治疗效果。

■同行评议者

王文跃, 主任医师, 中日友好医院普通外科

■研发前沿

尽管iv的细菌具有肿瘤特异性定殖能力,但距离其临床应用仍然存在很多急需解决的问题。

消化系肿瘤治疗的结合点,也为治疗消化系肿瘤带来新的契机,近来的一系列相关研究关注于益生菌在消化系治疗中的应用。

1 益生菌的应用简史

“Probiotics”一词由首先由de Vrese *et al*^[1]于1953年提出。1965年Lilly *et al*^[2]使用该词指代畜牧业中“可以减少抗生素应用的含活性细菌或芽孢的动物饲料添加剂”。而第1次被广泛接受的定义于1989年由Fuller *et al*^[3]提出,即“live microbial feed supplements which beneficially affect the host by improving the intestinal microbial balance”(可以改善宿主肠道微生物平衡的含活微生物的添加剂)。“Probiotics”作为益生菌则来源于生态学语“Probiosis”(共生),是与Antibiotics(抗生素)相对而言的概念,指能够与宿主共存的且能产生促进宿主肠道微生态平衡效应物质的活性微生物,主要存在于消化系中。经过半个多世纪的研究,益生菌从一种无需处方的食物添加剂发展成可以替代治疗的新手段,经历了食物添加剂-药物-疫苗载体-基因治疗载体的演变过程,已广泛应用于腹泻、炎症性肠病、慢性肠炎、泌尿生殖系统感染、过敏反应、皮肤感染以及肿瘤等多种疾病的预防和治疗。值得重视的是其在肿瘤治疗中的应用,成为近年来国内外研究的热点和难点问题^[4-7]。而作为益生菌生活场所的消化系,更为益生菌在消化系肿瘤的治疗研究带来了契机。

2 益生菌的应用现状

理想的益生菌应具有非致病性、遗传稳定性、可以在消化系中定殖、能够调节宿主免疫系统功能等特征。通常使用的益生菌有乳酸杆菌属(*Lactobacillus*, *L.*如*L. rhamnosus*)、双歧杆菌属(*Bifidobacterium*, *B.*如*B. longum*)和大肠杆菌属(*Escherichia coli*如*E. coli strain Nissle 1917*)等。益生菌作为商用生物制剂已有1000多年的历史,比较广泛的应用有酸奶制品、食物添加剂以及一些非处方药。虽然应用范围已从一般的腹泻到感染性疾病,但是许多医生对其适应证和禁忌证仍不清晰。近些年来,随着循证医学的不断发展,大量临床随机、双盲、对照试验在逐步开展中,已经证实益生菌在儿童及成人腹泻、炎症性肠病、慢性肠炎、泌尿生殖疾病、过敏性疾病都具有确切的治疗效果^[8-10]。

3 益生菌与肿瘤治疗

3.1 发展简史 对于应用细菌治疗肿瘤的起源学术界争论不一,多数学者所接受的是Coley *et al*在100年前对该领域所做的贡献^[11-12]。Coley^[13]发现感染急性链球菌的肉瘤患者的肿块缩小,从而开启了运用细菌或细菌提取物治疗肿瘤的历史。进一步动物实验研究发现,厌氧性益生菌(包括绝对厌氧菌*B.*和兼性厌氧菌*L.*)在iv后肿瘤组织中的浓度远高于正常组织,细菌可以特异性的在肿瘤部分聚集并定殖,通过竞争性争夺营养从而抑制肿瘤的生长。其作用机制主要有:(1)肿瘤细胞生长迅速而血供相对不足,造成实体瘤内存在相对乏氧的微环境,为具有趋低氧代谢的厌氧菌提供了适合聚集生长和繁殖的场所;(2)对于营养缺陷型的工程厌氧菌,由于肿瘤组织代谢旺盛,产生大量的中间代谢产物供其利用,使得相同的时间内肿瘤内细菌的增殖速度远高于正常组织;(3)异常的血管化和肿瘤组织间隙的高组织间隙渗透压限制了免疫成分(粒细胞、抗体、血清补体等)随血流进入,肿瘤组织成为细菌的免疫避难所,对细菌的清除较正常组织慢^[14]。Stritzker *et al*^[14]研究证实非厌氧菌如益生菌*E. coli strain Nissle 1917*能够在免疫功能正常和免疫缺失的小鼠的移植瘤部位聚集,其他组织的细菌很快被清除,说明免疫系统不能将肿瘤部位的细菌清除,进一步支持了“免疫避难所”的机制,并为非厌氧菌性益生菌应用于肿瘤治疗奠定了基础。

3.2 面临的问题及解决方案 尽管iv的细菌具有肿瘤特异性定殖能力,但距离其临床应用仍然存在很多急需解决的问题。治疗效率是首要问题,不同类型肿瘤所需治疗剂量的细菌不同,且随着浓度的升高,发生不可耐受并发症的几率也随之增大。一项应用厌氧菌治疗转移性黑色素瘤的I期临床试验中^[15],全部26例患者未发现肿瘤缩小的病例;治疗精确机制的不明晰不仅限制了效率的提升空间,同时治疗结果的难以预测也限制了益生菌在肿瘤治疗中的应用。

基因治疗的进展和靶向性治疗的兴起使益生菌治疗肿瘤再一次成为可能。应用于抗肿瘤基因治疗的载体主要有病毒及非病毒载体,但诸如基因传递效率低、时间短、血流动力学不稳定以及肿瘤靶向性不高都限制了他们用于临床。而益生菌的肿瘤特异性定殖则克服了上述缺点,成为理想的抗肿瘤基因治疗载体。

3.3 益生菌抗肿瘤基因治疗现状 所谓益生菌

抗肿瘤基因治疗就是以益生菌为基因治疗载体, 通过iv的形式, 将细胞因子、前体药物、抗血管生成物质、肿瘤特异性杀伤等物质的基因通过益生菌的靶向性传递至肿瘤部位, 达到治疗肿瘤的目的. 在抗肿瘤基因治疗益生菌载体中, 研究和应用最为广泛的是双歧杆菌. 双歧杆菌属于革兰氏阳性绝对厌氧菌, 是哺乳动物的低位小肠及结肠的正常菌群. 研究较多的主要是四种类型的双歧杆菌: 两性双歧杆菌(*B. bifidum*)、长双歧杆菌(*B. longum*)、婴儿双歧杆菌(*B. infantis*)以及青春双歧杆菌(*B. adolescentis*). Kohwi *et al*于1978年首次报道了*B. infantis*在小鼠中的抗肿瘤特性^[16]. 而广为学界所接受的是Kimura *et al*于1980年报道了在负荷Ehrlich腹水移植瘤的小鼠模型中, 当每只动物静脉注射 5×10^6 cfu(colony forming units, 克隆形成单位)的*B. bifidum*悬液后, 在直径>15 mm的肿瘤中发现了细菌的定植, 这种定植具有高选择性, 注射后96 h在其他器官中未发现细菌, 随着时间的延长, 肿瘤组织中的细菌量不断增加(由注射后1 h的 10^2 cfu/g增加至7 d后的 10^6 cfu/g), 且这种效应随每日口服乳果糖(lactulose, 一种只能被细菌代谢而小鼠不能代谢的物质)而增强. 可是, 整个实验却未发现抗肿瘤效应或者生存受益^[17]. Wang *et al*进一步研究发现*B. adolescentis*能够预防结肠癌的发生并能够在体内诱导肿瘤的凋亡^[18]. 之后的研究应用双歧杆菌的这种特性, 进一步开发双歧杆菌作为基因治疗的理想载体的可能性: Yazawa *et al*应用含有大观霉素耐药基因的穿梭质粒pBLES100转染*B. longum*后iv负荷肿瘤的小鼠, 发现了细菌在肿瘤处的特异性聚集, 且转染成功的细菌可以对抗大观霉素, 从而验证了大观霉素耐药基因在肿瘤处的表达, 为双歧杆菌作为抗肿瘤基因治疗的进一步运用奠定了基础^[19]. Yazawa *et al*又通过化学诱导成瘤模型研究了双歧杆菌对于化学诱导发生的实体瘤的定植特性, 并将双歧杆菌可定植的肿瘤最小直径降低至5 mm^[20]. Nakamura *et al*在体外研究了*B. longum*表达胞嘧啶脱氨酶基因(cytosine deaminase, CD)的可能性, 并证实*B. longum*表达的CD可将5-氟胞嘧啶(5-fluorocytosine, 5-FC)转化至5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU), 且具有时间和剂量依赖性^[21]. 真正应用双歧杆菌进行基因治疗的是Li *et al*将编码内皮他定(endostatin)的*B. adolescentis*用于治疗负荷皮下移植性肝癌的Balb/c小鼠模型, 并观察到对肿瘤新生血管生

成和肿瘤生长的抑制^[22]. 最近, Yi *et al*^[23]和Sasaki *et al*^[24]分别利用双歧杆菌介导了CD/5-FU自杀基因的在体抗肿瘤治疗研究.

3.4 面临的主要问题 虽然使用的是益生菌, 但静脉给药的方式仍然存在很多问题, 最主要的是安全问题. 益生菌可以合成并分泌脂多糖即内毒素, 从而产生严重的并发症如败血症、休克等; 其次是制备及运输等问题. 以双歧杆菌为例, 作为绝对厌氧菌, 需要专门的培养设备及条件, 一般实验室难以满足; 此外双歧杆菌无芽孢形成, 故对制备条件要求更高, 增加了进行基因操控的难度; 且作为静脉注射剂, 储存与运输的条件也难以控制, 提高了研究费用也限制了大规模应用; 再就是临床效率问题. 虽然双歧杆菌可以特异性在肿瘤部位定植, 但在人体可耐受的最大量范围内对所定植肿瘤大小(5-15 mm)具有严格的要求, 从而限制了其在预防和治疗肿瘤微转移(1-2 mm)中的应用. 人们试图通过改造益生菌衣壳相关基因、改进制备技术等手段促进益生菌在抗肿瘤基因治疗中的应用, 但距离其真正临床应用的路还很远, 还有很多问题需要研究和解决.

3.5 艾滋病研究带来的启示 和肿瘤一样, 艾滋病(HIV/AIDS)也是人类面临的重大考验, 截止2007-12全球约有3300万人感染艾滋病, 其中新发病例约有250万^[25]. 学界同样重视细菌尤其是益生菌、共生菌在预防和治疗艾滋病的作用. 2003年Chang *et al*对阴道共生菌*Lactobacillus jensenii*进行重组改造, 使其能够分泌表达HIV结合蛋白CD4, CD4通过gp 120与HIV-1结合, 从而阻断了病毒进入细胞^[26]. 2005年Rao *et al*对益生菌*E.coli strain Nissle 1917*进行重组改造, 使其分泌表达HIV结合抑制肽, 通过口服给药和直肠给药的形式, 发现重组菌可定植于消化系黏膜, 原位分泌表达抑制肽, 阻断HIV进入宿主细胞^[27].

上述研究给我们应用益生菌治疗肿瘤带来以下启示: (1)给药方式: 大部分的研究采用静脉输注的给药方式, 血液循环系统是较为封闭的一个系统, 一方面治疗引入了外源性物质, 可能发生的事件难以预知; 另一方面细菌所产生的副产物难以自动清除, 往往以不良反应的形式表现出来; 上述两个方面不仅大大降低了治疗的安全性, 也降低了患者对于治疗的耐受性和接受程度, 并在一定程度上缩短了有效治疗时间. 与血液系统相比, 消化系统一方面本身就有大量的正常菌群, 益生菌可在消化系中定植, 利

■相关报道

2005年Rao *et al*对益生菌*E.coli strain Nissle 1917*进行重组改造, 使其分泌表达HIV结合抑制肽, 通过口服给药和直肠给药的形式, 发现重组菌可定植于消化系黏膜, 原位分泌表达抑制肽, 阻断HIV进入宿主细胞.

■应用要点

相信随着信号肽、穿膜肽、理想治疗基因、益生菌制备工艺以及各种相关领域及技术的不断发展,应用重组益生菌治疗消化系统肿瘤具有巨大的前景,而对其精确机制的进一步研究,也能为预防肿瘤微转移、治疗肿瘤复发、改善不良预后带来希望。

于益生菌的持续性分泌治疗物质,延长了治疗时间,降低了给药次数;另一方面,消化系是一个相对开放的“管道”,一些有毒物质可被机体自主排出,从而降低了产生毒副作用的可能性。口服给药或直肠给药的治疗模式也较易为患者接受,益生菌的口服制剂已实现工业化生产,相较于静脉制剂,口服药物的生产成本低也可降低治疗费用。(2)治疗对象:既然消化系具有如此之多的优势,那么治疗的对象也就向消化系肿瘤倾斜。通过重组改造不同的益生菌或共生菌可以定位于不同的消化系部位,从而针对不同的肿瘤传递不同的治疗基因。而通过对治疗基因的选择或相应改造,可能会通过淋巴系统或血液系统到达远隔部位,实现对微转移病灶的预防或治疗。因此,相较于静脉注射的益生菌治疗,消化系给药的益生菌治疗肿瘤具有安全、持续、廉价等优点。

4 需要讨论及注意的问题

与治疗艾滋病一样,应用重组益生菌通过口服给药治疗消化系统肿瘤,须讨论或注意以下问题:治疗基因能否被正常分泌?分泌后是否具有治疗活性?消化系对治疗基因的分泌蛋白有无免疫反应或作用?分泌蛋白能否杀伤肿瘤细胞?分泌蛋白是否具有毒副作用?分泌蛋白是否容易发生耐药?重组过程是否易于操作?重组菌是否易于制备、运输、储存?价格或治疗费用是否低廉?这些问题是决定这种治疗方式能够顺利走向临床应用的前提。本文着重讨论以下几个问题。

4.1 需要用到的融合基因或肽 治疗基因的分泌表达需要能够被细菌所识别的信号肽序列。不同种属的细菌需要不同的信号肽系统及相关的质粒。研究较为透彻和应用较为广泛的是大肠杆菌 α -溶血素(HlyA)分泌系统。已开发出多个含HlyA的质粒成功应用于不同细菌的多种蛋白的表达^[28]。分泌表达的蛋白在发挥治疗作用时可能需要进入肿瘤细胞,这就需要介导治疗蛋白进入的物质。研究较多的穿膜肽如HIV的TAT等,能有效将多肽、蛋白质分子及DNA片段,通过无受体介导、无耗能的方式,导入多种哺乳动物细胞,且在一定浓度范围内不会造成细胞损伤^[29]。信号肽和穿膜肽的研究将为口服益生菌治疗肿瘤创造条件。

4.2 治疗基因 实验最关键的问题是重组益生菌在消化系定殖后,分泌表达的治疗蛋白能否发

挥作用。Fu *et al*研究证实了口服基因传递的给药方式可以抑制动物模型中的肿瘤生长,且可以通过添加其他物质(硒)增强杀伤效应^[30]。同时,治疗的发展方向是肿瘤选择性(靶向)杀伤。研究较多的是以下几种物质:Apoptin、E4orf4、viral protein R(VpR)、以及Brevinin-2R等^[31]。其中以Apoptin(凋亡素)的研究最为透彻和应用最为广泛。Apoptin能特异的诱导人急性骨髓白血病细胞、淋巴瘤细胞、骨肉瘤细胞、肝癌细胞和肾杆状瘤等多种人肿瘤细胞发生凋亡,对人正常二倍体细胞无影响,且这种选择性凋亡作用既不依赖于p53的介导,也不被bcl-2过表达所抑制。而绝大多数肿瘤通过p53的缺失或突变、过表达bcl-2来逃离细胞凋亡机制或抵制药物对肿瘤细胞的凋亡作用。Apoptin的肿瘤选择性杀伤和抗耐药特性使其成为理想的治疗基因^[31-32]。

5 结论

益生菌与消化系有着密切的联系,大量研究为益生菌应用于消化系统肿瘤的治疗提供了理论依据和数据支持。不同系统的肿瘤应根据其自身所处的特殊环境给予更合适治疗模式,这不仅符合肿瘤个体化治疗的内涵,也应该是未来肿瘤靶向性治疗的发展方向。构建信号肽、穿膜肽及治疗基因的融合基因是口服益生菌治疗消化系统肿瘤的前提,也有学者进行了有意义的探索^[33]。相信随着信号肽、穿膜肽、理想治疗基因、益生菌制备工艺以及各种相关领域及技术的不断发展,应用重组益生菌治疗消化系统肿瘤具有巨大的前景,而对其精确机制的进一步研究,也能为预防肿瘤微转移、治疗肿瘤复发、改善不良预后带来希望。

6 参考文献

- 1 de Vrese M, Schrezenmeier J. Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 2008; 111: 1-66
- 2 Lilly DM, Stillwell RH. Probiotics: Growth-Promoting Factors Produced by Microorganisms. *Science* 1965; 147: 747-748
- 3 Fuller R. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol* 1989; 66: 365-378
- 4 Stritzker J, Weibel S, Hill PJ, Oelschlaeger TA, Goebel W, Szalay AA. Tumor-specific colonization, tissue distribution, and gene induction by probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 in live mice. *Int J Med Microbiol* 2007; 297: 151-162
- 5 Xu YF, Zhu LP, Hu B, Fu GF, Zhang HY, Wang JJ, Xu GX. A new expression plasmid in *Bifidobacterium longum* as a delivery system of endostatin for cancer gene therapy. *Cancer Gene Ther* 2007; 14: 151-157
- 6 Naito S, Koga H, Yamaguchi A, Fujimoto N, Hasui

- Y, Kuramoto H, Iguchi A, Kinukawa N. Prevention of recurrence with epirubicin and lactobacillus casei after transurethral resection of bladder cancer. *J Urol* 2008; 179: 485-490
- 7 Sleator RD, Hill C. New frontiers in probiotic research. *Lett Appl Microbiol* 2008; 46: 143-147
- 8 Macintyre A, Cymet TC. Probiotics: the benefits of bacterial cultures. *Compr Ther* 2005; 31: 181-185
- 9 McFarland LV. Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of Clostridium difficile disease. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 812-822
- 10 Zuccotti GV, Meneghin F, Raimondi C, Dilillo D, Agostoni C, Riva E, Giovannini M. Probiotics in clinical practice: an overview. *J Int Med Res* 2008; 36 Suppl 1: 1A-53A
- 11 Nauts HC, Swift WE, Coley BL. The treatment of malignant tumours by bacterial toxins as developed by the late William B. Coley, MD, reviewed in the light of modern research. *Cancer Res* 1946; 6: 205-216
- 12 Hopton Cann SA, van Netten JP, van Netten C. Dr William Coley and tumour regression: a place in history or in the future. *Postgrad Med J* 2003; 79: 672-680
- 13 Coley WB. II. Contribution to the Knowledge of Sarcoma. *Ann Surg* 1891; 14: 199-220
- 14 Theys J, Barbé S, Landuyt W, Nuyts S, Van Mellaert L, Wouters B, Anné J, Lambin P. Tumor-specific gene delivery using genetically engineered bacteria. *Curr Gene Ther* 2003; 3: 207-221
- 15 Toso JF, Gill VJ, Hwu P, Marincola FM, Restifo NP, Schwartzentruber DJ, Sherry RM, Topalian SL, Yang JC, Stock F, Freezer LJ, Morton KE, Seipp C, Haworth L, Mavroukakis S, White D, MacDonald S, Mao J, Sznol M, Rosenberg SA. Phase I study of the intravenous administration of attenuated Salmonella typhimurium to patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 2002; 20: 142-152
- 16 Kohwi Y, Imai K, Tamura Z, Hashimoto Y. Antitumor effect of Bifidobacterium infantis in mice. *Gann* 1978; 69: 613-618
- 17 Kimura NT, Taniguchi S, Aoki K, Baba T. Selective localization and growth of Bifidobacterium bifidum in mouse tumors following intravenous administration. *Cancer Res* 1980; 40: 2061-2068
- 18 Wang L, Pan L, Shi L, Sun Y, Zhang Y, Zhou D. [Roles of bifidobacterium on prevention of experimental colorectal carcinoma and induction of apoptosis] *Zhonghua Yufang Yixue Zazhi* 1999; 33: 337-339
- 19 Yazawa K, Fujimori M, Amano J, Kano Y, Taniguchi S. Bifidobacterium longum as a delivery system for cancer gene therapy: selective localization and growth in hypoxic tumors. *Cancer Gene Ther* 2000; 7: 269-274
- 20 Yazawa K, Fujimori M, Nakamura T, Sasaki T, Amano J, Kano Y, Taniguchi S. Bifidobacterium longum as a delivery system for gene therapy of chemically induced rat mammary tumors. *Breast Cancer Res Treat* 2001; 66: 165-170
- 21 Nakamura T, Sasaki T, Fujimori M, Yazawa K, Kano Y, Amano J, Taniguchi S. Cloned cytosine deaminase gene expression of Bifidobacterium longum and application to enzyme/pro-drug therapy of hypoxic solid tumors. *Biosci Biotechnol Biochem* 2002; 66: 2362-2366
- 22 Li X, Fu GF, Fan YR, Liu WH, Liu XJ, Wang JJ, Xu GX. Bifidobacterium adolescentis as a delivery system of endostatin for cancer gene therapy: selective inhibitor of angiogenesis and hypoxic tumor growth. *Cancer Gene Ther* 2003; 10: 105-111
- 23 Yi C, Huang Y, Guo ZY, Wang SR. Antitumor effect of cytosine deaminase/5-fluorocytosine suicide gene therapy system mediated by Bifidobacterium infantis on melanoma. *Acta Pharmacol Sin* 2005; 26: 629-634
- 24 Sasaki T, Fujimori M, Hamaji Y, Hama Y, Ito K, Amano J, Taniguchi S. Genetically engineered Bifidobacterium longum for tumor-targeting enzyme-prodrug therapy of autochthonous mammary tumors in rats. *Cancer Sci* 2006; 97: 649-657
- 25 Merson MH, O'Malley J, Serwadda D, Apisuk C. The history and challenge of HIV prevention. *Lancet* 2008; 372: 475-488
- 26 Chang TL, Chang CH, Simpson DA, Xu Q, Martin PK, Lagenaur LA, Schoolnik GK, Ho DD, Hillier SL, Holodniy M, Lewicki JA, Lee PP. Inhibition of HIV infectivity by a natural human isolate of Lactobacillus jensenii engineered to express functional two-domain CD4. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 11672-11677
- 27 Rao S, Hu S, McHugh L, Lueders K, Henry K, Zhao Q, Fekete RA, Kar S, Adhya S, Hamer DH. Toward a live microbial microbicide for HIV: commensal bacteria secreting an HIV fusion inhibitor peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 11993-11998
- 28 Gentschev I, Dietrich G, Goebel W. The E. coli alpha-hemolysin secretion system and its use in vaccine development. *Trends Microbiol* 2002; 10: 39-45
- 29 Gump JM, Dowdy SF. TAT transduction: the molecular mechanism and therapeutic prospects. *Trends Mol Med* 2007; 13: 443-448
- 30 Fu GF, Li X, Hou YY, Fan YR, Liu WH, Xu GX. Bifidobacterium longum as an oral delivery system of endostatin for gene therapy on solid liver cancer. *Cancer Gene Ther* 2005; 12: 133-140
- 31 Maddika S, Mendoza FJ, Hauff K, Zamzow CR, Paranjothy T, Los M. Cancer-selective therapy of the future: apoptin and its mechanism of action. *Cancer Biol Ther* 2006; 5: 10-19
- 32 张明鑫, 王健生. 凋亡素与肿瘤基因治疗. *现代肿瘤医学* 2008; 16: 476-478
- 33 Wang JS, Zhang MX, Liu DC, Duan XY, Zhou SN, Zhang GJ, Yang GX, Wang QY. [Construction and identification of recombinant adeno-associated virus vector harboring fusion gene NT4-Apoptin-HA2-TAT.] *Xibao Yu Fenzi Mianyixue Zazhi* 2008; 24: 754-756

同行评价

本文选题较新, 内容丰富, 具有一定的可读性.

编辑 李军亮 电编 何基才