

双歧杆菌在肿瘤治疗中的应用

蔡晓珊 综述 张式暖, 李文通 审校
(潍坊医学院病理学教研室, 山东 潍坊 261042)

[摘要] 双歧杆菌作为机体肠道内数量占绝对优势的生理性菌群,对维持机体的健康发挥重要的功能。双歧杆菌能够刺激机体的免疫器官且自身具有抗肿瘤活性。此外,双歧杆菌专性厌氧的特性使其在肿瘤的基因治疗中起重要的作用。

[关键词] 双歧杆菌; 肿瘤; 治疗

[中图分类号] R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-2588(2008)03-0236-04

Use of bifidobacterium in tumor therapy

CAI Xiao-shan, ZHANG Shi-nuan, LI Wen-tong

(Department of Pathology, Weifang Medical University, Weifang Shandong 261042, China)

[Abstract] Bifidobacterium, which is a domestic and dominant physiological flora in organism's intestinal tract, plays an important role in keeping healthy. Bifidobacterium can activate the immune organ and has a very strong anticancer function. Besides, bifidobacterium can produce a marked effect on cancer gene therapy because of its obligate anaerobic character.

[Key words] bifidobacterium; cancer; therapy

[Int J Pathol Clin Med, 2008,28(3):0236-04]

目前恶性肿瘤的非手术治疗主要是依靠传统的放射疗法和化学疗法,而实体瘤内部的血管存在结构和功能上的异常,使其不能提供足够的氧和营养物质,从而导致实体瘤内部分细胞死亡,出现急性和(或)慢性的乏氧区和坏死区。这些情况使得肿瘤细胞对放疗和某些化疗药物的效应减弱,并且残存的肿瘤细胞更具有侵袭性和转移性,对各种疗法更具有抵抗性^[1],也成为恶性肿瘤治疗失败、复发和转移的重要原因之一。因此,利用厌氧菌作为基因转移载体进行肿瘤的基因治疗成为近年来的研究热点。而双歧杆菌独有的生物学特性,使得它无论在自身抗肿瘤方面还是在肿瘤的基因治疗方面均具有独特的优势。

双歧杆菌(bifidobacteria, Bb)是人和哺乳动物回肠末端及大肠内最主要的生理性菌群,于1899年被法国巴斯德研究所的 Tissie 在天然营养的婴儿粪便

中发现,是一种革兰氏阳性菌,具有专性厌氧的特性。目前已知的存在于人的肠道中的双歧杆菌主要有:两歧双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、短双歧杆菌、长双歧杆菌、青春双歧杆菌、角双歧杆菌、链状双歧杆菌、假链状双歧杆菌、牙双歧杆菌等。

1 双歧杆菌的抗肿瘤作用

理想的抗癌细菌的标准是^[2]:(1)对宿主无毒性,(2)只能在肿瘤细胞内复制,(3)能够自动地平均分散到肿瘤组织中(包括乏氧区和坏死区),(4)能够缓慢地完全从宿主中排出,(5)非免疫原性,(6)能够通过直接的营养竞争,把细胞毒素的产物局限化或者把治疗用药的作用放大导致肿瘤细胞坏死。

1.1 免疫赋活作用 双歧杆菌具有免疫赋活作用,可刺激全身免疫器官使其发挥免疫监视功能;还可以增强各种细胞因子和抗体的产生,提高自然杀

伤细胞和巨噬细胞的功能活性,从而达到抗肿瘤的作用。宋文刚等^[3]收集双歧杆菌 DNA 体外诱导培养 24 h 的小鼠腹腔巨噬细胞培养上清,检测培养上清中白介素-1 β (IL-1 β)、白介素-6 (IL-6) 及一氧化氮 (NO) 的含量,同时观察了双歧杆菌 DNA 诱导的巨噬细胞体外杀伤活性的变化,结果发现,双歧杆菌 DNA 能激活巨噬细胞,增高巨噬细胞 IL-1 β , IL-6 及 NO 的水平并增强其杀伤活性。

双歧杆菌主要是通过活化某些细胞因子来激活巨噬细胞。Wang 等^[4]应用激光共聚焦显微镜和免疫细胞化学染色法,检测了青春型双歧杆菌的 DNA 对小鼠腹腔巨噬细胞的影响,结果显示青春型双歧杆菌的 DNA 可通过活化细胞外信号调节激酶 1/2 (ERK1/2)、蛋白激酶 C α (PKC α)、蛋白激酶 C β II (PKC β II) 和核因子 κ B (NF- κ B) 来激活巨噬细胞。

1.2 抑瘤作用 双歧杆菌是一种生理性有益菌,除了通过增强人体的免疫功能达到抗肿瘤的作用外,还对多种肿瘤的发生与发展具有抑制作用^[5-7]。Coakley 等^[8]研究发现,肠道内的双歧杆菌能产生顺-9,11 共轭亚麻仁油酸,该脂肪酸对人类结肠的 SW480 和 HT-29 癌细胞具有抗增殖活性。黄红莹等^[9]用 MTT 比色法、HE 染色法和流式细胞术观察双歧杆菌对小鼠恶性黑素瘤 B16 细胞的增殖及细胞周期的影响,结果表明双歧杆菌能够通过影响细胞周期抑制 B16 细胞的生长。王立生等^[10]用激光共聚焦显微镜检测双歧杆菌对大肠癌的抑瘤途径,结果表明双歧杆菌的完整聚果糖能降低实验性大肠癌的有丝分裂原激活蛋白激酶 (MAPK)、嘧啶核苷酸 (AP-1) 的活性,从而起一定的抑瘤作用。Gueimonde 等^[11]用定量、定性 PCR 技术对患有结肠直肠癌、炎症性肠病和憩室炎的病人肠黏膜内双歧杆菌的数量和种类进行检测,在所有的病例中均发现长双歧杆菌和两歧双歧杆菌,且它们在结肠直肠癌或炎症性肠病病例中的数量明显少于憩室炎的病例,说明双歧杆菌起一定的抑瘤作用。

2 双歧杆菌在肿瘤基因治疗中的作用

基因治疗成为肿瘤治疗的一大热点。基因转移载体的选择是影响治疗效果的重要因素之一。以前的基因转移载体系统主要分为病毒载体系统和非病毒载体系统,其靶向性不理想,即便这些载体中的一部分能够到达肿瘤区,但在到达肿瘤细胞的过程中也面临生理、生化和免疫上的多重障碍,导致载体在

肿瘤内的有效浓度较低,治疗效果不够理想,且存在基因导入体内后表达水平不够理想及安全性等问题,在很大程度上制约了肿瘤的基因治疗。

2.1 双歧杆菌作为肿瘤基因治疗载体的理论依据和优点 当肿瘤的大小超过 1 mm³ 时,其继续生长就要依靠新生血管提供营养物质。由于肿瘤细胞生长迅速而血供相对不足,因而实体瘤代谢的一个重要特点是瘤体内部的相对缺氧状态。正常组织细胞的氧分压为 3.21 ~ 8.8 kPa,而对于人体及啮齿类动物而言,其实体瘤内部氧分压为 1.33 ~ 4 kPa,有的甚至低于 0.33 kPa^[12]。表明在实体瘤内存在低氧代谢区,这种缺氧区的存在为双歧杆菌选择性定植提供了有利的生长环境,因此从理论上讲,可利用双歧杆菌专性厌氧的特点将其作为肿瘤靶向治疗的载体。

双歧杆菌用于肿瘤基因治疗主要有两大优点:一是靶向性好。Li 等^[13]构建了含内皮抑素基因的质粒转染青春型双歧杆菌,将携带内皮抑素基因的青春型双歧杆菌经尾静脉注射给荷瘤鼠 (HepG2 肝癌),168 h 后发现双歧杆菌靶向性定植于瘤体中,而正常组织如肝、脾、肾、肺未见青春型双歧杆菌。二是安全性高。Henna 等^[14]用长双歧杆菌 2C,46 菌株对 19 ~ 26 岁的健康成人进行双盲测试来鉴定双歧杆菌的安全性,发现被测试者可以耐受双歧杆菌,且没有发现双歧杆菌的副作用。此外,双歧杆菌还具有表达效率高、使用范围广、不易引起排异反应等优点。以上表明双歧杆菌是目前肿瘤基因治疗的理想载体。

2.2 双歧杆菌作为肿瘤基因治疗载体的实验研究

近年来,利用双歧杆菌作为肿瘤基因治疗载体的研究已成为恶性肿瘤治疗的热点之一。Yazawa 等^[15]将野生型长双歧杆菌通过基因改造得到 105-A 株,并证明这种基因工程双歧杆菌与野生型相比安全性提高,能够用来作为乳腺癌基因治疗的载体。Nakamura 等^[16]将构建的 pBLES100-S-eCD 基因表达质粒转化到双歧杆菌并通过 Western 印迹技术确定转染的双歧杆菌能够产生胞嘧啶脱氨酶,表达产物能将 5-氟胞嘧啶 (5-FC) 转化成 5-氟尿嘧啶 (5-FU),可应用于癌症的治疗。Sasaki 等^[17]也用此类方法证明长双歧杆菌/S-eCD 比野生型长双歧杆菌能更有效地抑制鼠乳腺癌细胞的生长,且双歧杆菌可以作为酶前体药物治疗实体瘤的高效特异性

载体。Fu等^[18]用能抑制肿瘤细胞生长的内皮抑素基因转化长双歧杆菌灌喂携带肿瘤的裸鼠,发现,携带内皮抑素基因的长双歧杆菌能够强烈地抑制肝脏实体肿瘤的生长,并能延长带瘤小鼠的寿命。Xu等^[19]通过构建 pBV22210 载体并将含有对氯霉素抗性的质粒转化至长双歧杆菌中,结果显示该质粒能够明显抑制鼠活体内肝脏实体瘤的生长。安丽娜等^[20]通过构建质粒 pGEX-UPRT,以电穿孔法将该质粒转入婴儿双歧杆菌中,结果显示婴儿双歧杆菌联合转导 UPRT 基因可显著增强 CD/5-FC 自杀基因系统对鼠黑色素瘤细胞 B16-F10 的杀伤作用。Yi等^[21]也通过体内和体外试验证明婴儿型双歧杆菌介导的 CD/5-FC 自杀基因具有较好的抗肿瘤效果。Fujimori等^[22]用长双歧杆菌携带胞嘧啶脱氨酶基因,证明酶前体药物治疗对乳腺癌的治疗有效。以上研究表明,双歧杆菌是一种良好的肿瘤基因治疗载体,具有广阔的应用前景。

3 结语

双歧杆菌在肠道中的黏附及定植,可以阻止其他病原微生物的定植与入侵,还可以通过降低肠道内的 pH 值,影响其他细菌的代谢,从而减少肠道内致癌物的作用,对维持肠道菌群的结构与功能起主导作用,在调节胃肠道功能方面主要有生物、化学屏障功能和增强机体免疫力的作用^[23]。

双歧杆菌用于肿瘤治疗已取得了较大的进步,并且双歧杆菌和放化疗、基因治疗、免疫治疗等联合应用能增强其疗效^[24-25]。虽然双歧杆菌在基因治疗方面的应用尚处于起步阶段,但其在临床上的应用为肿瘤的治疗提供了一条新的思路。

参 考 文 献

- [1] Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases [J]. *Nature*, 2000, 407 (6801): 249-257.
- [2] Jain RK, Forbes NS. Can engineered bacteria help control cancer? [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98 (26): 14748-14750.
- [3] 宋文刚,曲迅,张彬彬,等. 双歧杆菌 DNA 对小鼠腹腔巨噬细胞分泌和杀瘤功能的影响[J]. *肿瘤学杂志*, 2002, 8(2): 89-91. SONG Wen-gang, QU Xun, ZHANG Bin-bin, et al. Effect of bifidobacterium DNA on cytokine production and cytotoxicity in peritoneal elicit macrophage of mice [J]. *Journal of Oncology*, 2002, 8(2): 89-91.
- [4] Wang Li-sheng, Li Ying-xue, Zhu Hui-ming, et al. Influence of bifidobacterium DNA on MAPK, PKC and NF- κ B of macrophage [J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2007, 17 (15): 1799-1810.
- [5] Fugimori M, Amano J, Taniguchi S. The genus bifidobacteria for cancer-gene therapy [J]. *Curr Opin Drug Discov Devel*, 2002, (20): 200-203.
- [6] Leahy SC, Hiqqins DG, Fitzgerald GF, et al. Getting better with bifidobacteria [J]. *Appl Microbiol*, 2005, 98 (6): 1303-1315.
- [7] Le Leu RK, Brown IL, Hu Y, et al. A synbiotic combination of resistant starch and *Bifidobacterium lactis* facilitates apoptotic deletion of carcinogen-damaged cells in rat colon [J]. *J Nutr*, 2005, 135 (5): 996-1001.
- [8] Coakley M, Johnson MC, McGrath E, et al. Intestinal bifidobacteria that produce trans-9, trans-11 conjugated linoleic acid: a fatty acid with antiproliferative activity against human colon SW480 and HT-29 cancer cells [J]. *Nutr Cancer*, 2006, 56 (1): 95-102.
- [9] 黄红莹, 黄汉菊. 双歧杆菌对小鼠黑色素瘤 B16 细胞增殖和细胞周期的影响 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2007, 14 (3): 284-286. HUANG Hong-ying, HUANG Han-ju. Inhibitory activity of *Bifidobacteria adolescentis* on growth and cell cycle of B16 cell [J]. *Chinese Journal of Cancer Biotherapy*, 2007, 14 (3): 284-286.
- [10] 王立生, 朱惠明, 潘令嘉, 等. 双歧杆菌的完整肽聚糖对实验性大肠癌 MAPK 和 AP-1 的影响 [J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2003, 23 (1): 57-59. WANG Li-sheng, ZHU Hui-ming, PAN Ling-jia, et al. Influence of peptidoglycan of bifidobacteria on MAPK and AP-1 of experimental large bowel carcinoma [J]. *Chin J Microbiol Immunol*, 2003, 23 (1): 57-59.
- [11] Gueimonde M, Ouwehand A, Huhtinen H, et al. Qualitative and quantitative analyses of the bifidobacterial microbiota in the colonic mucosa of patients with colorectal cancer, diverticulitis and inflammatory bowel disease [J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13 (29): 3985-3989.
- [12] Yazawa K, Fujimori M, Amano J, et al. *Bifidobacterium longum* as a delivery system for cancer gene therapy: selective localization and growth in hypoxic tumors [J]. *Cancer Gene Ther*, 2000, 7 (2): 269-274.
- [13] Li X, Fu GF, Fan YR, et al. *Bifidobacterium adolescentis* as a delivery system of endostatin for cancer gene therapy: selective inhibitor of angiogenesis and hypoxic tumor growth [J]. *Cancer Gene Ther*, 2003, 10 (2): 105-111.
- [14] Mäkeläinen H, Tahvonen R, Salminen S, et al. In vivo safety assessment of two *Bifidobacterium longum* strains [J]. *Microbiol Immunol*, 2003, 47 (12): 911-914.
- [15] Yazawa K, Fujimori M, Nakamura T, et al. *Bifidobacterium longum* as a delivery system for gene therapy of chemically induced rat mammary tumors [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2001, 66 (2): 165-170.
- [16] Nakamura T, Sasaki T, Fujimori M, et al. Cloned cytosine deaminase gene expression of *Bifidobacterium longum* and application to enzyme/pro-drug therapy of hypoxic solid tumors [J]. *Biosci Bio-*

- technol Biochem,2002,66(11):2362-2366.
- [17] Sasaki T, Fujimori M, Hamaji Y, et al. Genetically engineered *Bifidobacterium longum* for tumor-targeting enzyme-prodrug therapy of autochthonous mammary tumors in rats[J]. *Cancer Sci*,2006,97(7):649-657.
- [18] Fu GF, Li X, Hou YY, et al. *Bifidobacterium longum* as an oral delivery system of endostatin for gene therapy on solid liver cancer [J]. *Cancer Gene Ther*,2005,12(2):133-140.
- [19] Xu YF, Zhu LP, Hu B, et al. A new expression plasmid in *Bifidobacterium longum* as a delivery system of endostatin for cancer gene therapy[J]. *Cancer Gene Ther*,2007,14(2):151-157.
- [20] 安丽娜,李著华,岳扬,等. 婴儿双歧杆菌介导的双自杀基因 CD/UPRT 对鼠黑色素瘤细胞的杀伤效应[J]. *华西药理学杂志*,2006,21(2):121-123.
- AN Li-na, LI Zhu-hua, YUE Yang, et al. The killing effect of *Bifidobacterium infantis* carrying double suicide gene CD/UPRT on melanoma cell of mice[J]. *West China Journal of Pharmaceutical Sciences*,2006,21(2):121-123.
- [21] Yi C, Huang Y, Guo ZY, et al. Antitumor effect of cytosine deaminase/5-fluorocytosine suicide gene therapy system mediated by *Bifidobacterium infantis* on melanoma [J]. *Acta Pharmacol Sin*,2005,26(5):929-934.
- [22] Fujimori M. Genetically engineered bifidobacterium as a drug delivery system for systemic therapy of metastatic breast cancer patients [J]. *Breast Cancer*,2006,13(1):27-31.
- [23] 钟世顺,张振书. 肠黏膜屏障功能障碍与双歧杆菌[J]. *国外医学·生理、病理科学与临床分册*,2003,23(4):432-435.
- ZHONG Shi-shun, ZHANG Zhen-shu. Dysfunction of intestinal mucosal barrier and *Bifidobacterium* [J]. *Foreign Med Sic Sect Pathophysiol Clin Med*,2003,23(4):432-435.
- [24] Feng RH, Zhu ZG, Li JF, et al. Inhibition of human telomerase in MKN-45 cell line by antisense hTR expression vector induces cell apoptosis and growth arrest[J]. *World J Gastroenterol*,2002,(8):436-440.
- [25] Upta VK, Park JO, Jaskowiak NT, et al. Combined genetherapy and ionizing radiation is a novel approach to treat human esophageal adenocarcinoma [J]. *Ann Surg Oncol*,2002,9(5):500-504.