

细菌在肿瘤治疗中应用的研究进展

张媛*, 陈欢#

中国药科大学生命科学与技术学院, 江苏 南京

收稿日期: 2024年3月13日; 录用日期: 2024年4月11日; 发布日期: 2024年4月22日

摘要

近年来, 肿瘤治疗的手段不断取得新的突破, 在传统的手术、化疗、放疗对肿瘤治疗存在各自局限的现状下, 突破性地开发出肿瘤免疫疗法, 虽然其在血液瘤、多发性骨髓瘤等治疗中取得了成功, 但是对实体性肿瘤的治疗仍达不到理想效果, 因此亟待新的肿瘤治疗手段的开发。细菌肿瘤疗法早有先例, 但是因为其应用的安全性考量以及不能清楚阐明治疗的具体机制而未受到重视, 随着生物技术的蓬勃发展, 改造细菌能使其满足治疗使用的要求, 越来越多关于细菌在肿瘤治疗中的应用报道。本篇综述总结了细菌在肿瘤治疗中的优势、几种常用的细菌以及细菌在肿瘤治疗中的策略, 以期为开发新的肿瘤治疗手段提供理论依据和新思路。

关键词

细菌, 肿瘤治疗, 合成生物学, 免疫治疗, 工程化细菌

Advances in the Application of Bacteria in Tumor Therapy

Yuan Zhang*, Huan Chen#

School of Life Sciences and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing Jiangsu

Received: Mar. 13th, 2024; accepted: Apr. 11th, 2024; published: Apr. 22nd, 2024

Abstract

In recent years, new breakthroughs have been made in the means of tumor treatment. Under the current situation that traditional surgery, chemotherapy and radiotherapy have their own limitations in the treatment of tumor, tumor immunotherapy has been breakthrough developed. Although it has achieved success in the treatment of hematoma and multiple myeloma, the treat-

*第一作者。

#通讯作者。

ment of solid tumor still fails to achieve the ideal effect. Therefore, it is urgent to develop new tumor treatment methods. Bacterial tumor therapy has a precedent for a long time, but it has not been paid attention to because of the safety considerations of its application and the failure to clearly clarify the specific mechanism of treatment. With the vigorous development of biotechnology, bacteria can be modified to meet the requirements of therapeutic use, and more and more reports on the application of bacteria in tumor therapy are reported. The article summarizes the advantages of bacteria in tumor therapy, several commonly used bacteria and the strategies of bacteria in tumor therapy, in order to provide theoretical basis and new ideas for the development of new tumor therapy.

Keywords

Bacteria, Tumor Therapy, Synthetic Biology, Immunotherapy, Engineered Bacteria

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

细菌肿瘤疗法是指在肿瘤治疗过程中通过不同的策略应用活菌或灭活细菌的一种治疗手段。最早可以追溯到 19 世纪, 美国医生 William Coley 在患有肉瘤的病人体内注射灭活的化脓性链球菌和粘质沙雷氏菌(称为“科利毒素”), 惊奇地发现患者的肿瘤体积明显缩小。因为在当时其无法解释肿瘤消退的具体机制以及无法忽视可能会出现全身炎症和感染的副作用, 所以人们并没有重视细菌在肿瘤治疗中的潜力, 反而将目光转向逐渐兴起的肿瘤放射疗法[1] [2]。近年来, 有关于肠道微生物菌群影响肿瘤治疗作用的报道越来越多[3] [4]; 同时科学家发现在不同的肿瘤组织中天然存在着不同的细菌[5] [6]。这些发现又将细菌和肿瘤相关联, 再一次引发人们的关注。

随着肿瘤免疫疗法、合成生物学和纳米科学的蓬勃发展, 关于细菌在肿瘤治疗中的研究报道与日俱增。本综述介绍了细菌在肿瘤治疗中的天然优势、目前研究中主要使用的几种细菌种类和细菌在肿瘤治疗中的多种应用策略, 旨在帮助相关研究人员从多角度了解细菌在肿瘤治疗中应用的研究进展, 为开发新的细菌肿瘤疗法提供思路, 从而推动细菌肿瘤疗法在临床应用的快速发展。

2. 细菌在肿瘤治疗中的天然优势

肿瘤治疗的传统方法——手术、化疗、放疗仍是目前临床上使用最多的几种手段。其中, 在外科手术治疗之后能为肿瘤患者带来治愈希望的化疗, 却由于脱靶效应杀伤大量正常细胞而显示出强烈的副作用, 这限制了对肿瘤的完全清除[7]; 放疗则因为肿瘤内部的缺氧环境导致放射疗法只能针对肿瘤外围的癌细胞产生杀伤性, 难以深入肿瘤内部发挥作用。而新兴发展的免疫疗法则给部分患者带来了福音。免疫疗法主要利用患者自身的免疫系统, 重新激活免疫细胞杀伤肿瘤, 从某种程度上来说, 免疫疗法有一定的靶向能力, 但是由于实体肿瘤内部免疫抑制的微环境致使现阶段免疫疗法仅能对非实体肿瘤如血液瘤表现出积极的治疗作用。这些疗法所表现出的不足之处使细菌应用在肿瘤治疗中的天然优势更加凸显, 包括在肿瘤内部靶向定植的特性和细菌自身的免疫激活能力。

2.1. 靶向肿瘤内部

现有疗法所产生局限的原因如肿瘤内部的乏氧环境、免疫抑制微环境却是细菌生存良好的环境基础。

虽然细菌在肿瘤内特异性定植的天然特性有待于进一步研究解释其具体机制,但是现有报道已表明,专性厌氧菌和兼性厌氧菌能够在系统给药后于肿瘤内部大量聚集增殖。例如 Zheng 等[8]发现通过静脉注射 *S. typhimurium* 三天后,肿瘤部位的细菌数达到 10^{10} CFU/g,这一数量高于其它正常组织的 10,000 倍。虽然在给药初期其他正常组织也能检测到细菌的存在,但随着时间的推移,这些免疫正常组织中的细菌最终会被清除。关于这一优势的机制解释,有研究发现大量细菌定植的位置距离肿瘤组织中的正常血管更远,因此认为是肿瘤组织内混乱的血管系统导致肿瘤内部缺氧,使得厌氧细菌更适合在这种缺氧坏死的环境中生存[9]。同时,肿瘤内部免疫抑制的微环境为细菌的增殖提供了更大的机会,阻止了其被免疫系统进一步清除。

2.2. 细菌的免疫激活能力

细菌自身的天然组分很多都属于病原体相关分子模式(PAMPs),如脂多糖(LPS)、肽聚糖、脂磷壁酸、鞭毛等,它们是天然的免疫激活剂[10],能够和固有免疫细胞如树突状细胞(DCs)、巨噬细胞上的模式识别受体(PRRs)结合,激活固有免疫系统。同时外源细菌的核酸分子也是固有免疫系统组成中 STING 的激活剂[11],细胞质内的 cGAS-STING 途径(cyclic GMP-AMP synthesis-simulator of interferon genes)一旦激活可诱导 IFN- γ 等细胞因子产生[12][13],这一性质为其协同肿瘤免疫反应提供了有益条件。

3. 研究中主要使用的细菌种类

由于细菌天然的肿瘤靶向能力和免疫激活性质,使其逐渐向着应用为递送载体的方向发展,这对载体细菌的自身免疫激活能力提出了新要求,如果载体产生过于激烈的免疫效应导致机体产生不良反应将会阻碍递送因子治疗效力的发挥。因此毒力太强的细菌不再适合作为肿瘤治疗的基底。研究人员构建了一系列减毒的工程菌株来提高细菌应用的安全性,与此同时一些天然益生菌也逐渐被重视起来。当前研究中主要应用的几种细菌包括 *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN)、VNP20009、常见益生菌(主要是乳酸菌)。

3.1. *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN)

Escherichia coli Nissle 1917 (EcN)是德国微生物学家 Alfred Nissle 在一战时期首次分离出来的一种兼性厌氧的革兰氏阴性益生菌[14]。与其同种的致病大肠杆菌不同, EcN 在临床上表现出益生菌的特性。EcN 属于血清 O6:K5:H1 型, O6 抗原聚合酶基因上存在的一个点突变使得 O6 多糖侧链非常短且仅由单个寡糖重复单位组成,最终导致 LPS 表达半粗糙型 O6 抗原,这一特性可能是使 EcN 具有补体敏感性的原因,也导致 EcN 在固体培养基上形成的菌落呈粗糙状。其 K5 型荚膜具有血清敏感性,使其在体内遇到血清极易被清除[15]。此外, EcN 缺乏与它同种病原菌株中普遍存在的毒力因子,因此 EcN 不具有致病性,临床应用时具有较高的生物安全性,同时, EcN 的基因组研究清晰[16],为其后续的加工改造提供了重要的基础。

3.2. VNP20009

VNP20009 是 *Salmonella* (沙门氏菌)经改造 *purI*⁻, *msbB*⁻, *xylose*⁻, 具有一定 EGTA 抵抗能力但无抗生素抵抗力的一种稳定遗传的革兰氏阴性细菌[17]。*msbB* 基因被认为参与细菌脂多糖合成末期脂肪酸与肽链末端氨基或赖氨酸侧链氨基形成酰胺键的过程,而脂多糖是细菌感染中强力的致病因子。因此突变 *msbB* 基因降低了细菌毒性。而敲除嘌呤代谢相关 *purI* 基因后, VNP20009 只能依赖外源性腺嘌呤繁殖,由此肿瘤中富含嘌呤的微环境大大提高了 VNP20009 靶向肿瘤定植的效率。并且 VNP20009 是一种抗生素敏感的细菌,能够在治疗的任意时刻使用抗生素终止细菌的定植。在一项治疗黑色素瘤肾瘤的临床一期试验研究中,应用 VNP20009 被证实是安全的[18]。多项研究中都表明,减毒的 VNP20009 并未改变倾

向肿瘤中聚集的特性[19] [20]。

3.3. 乳酸菌

乳酸菌是一种广泛应用于食品生产中的革兰氏阳性细菌。它们天然不含 LPS, 不产生内毒素, 并且缺少分泌的蛋白酶。由于这些优点, 能够使乳酸菌表达的重组蛋白分泌出去而不形成包涵体。一些研究中也发现, 兼性厌氧性质的乳酸菌在肿瘤中同样具有靶向能力[21] [22] [23]。目前使用较多的乳酸菌是 *Lactococcus lactis* (乳酸乳球菌), 在这一菌株中应用最普遍的基因表达调控系统是 NICE (Nisin-Controlled Gene Expression), 当细菌膜上存在的感受蛋白(NisK)被 nisin 激活, 将发生组氨酸的自磷酸化进一步将活化的磷酸基团转运到细胞质反应调节器 NisR 上, 活化的 NisR 会诱导 PnisA 启动子控制的下游基因转录表达。这一精确的调控系统为外源蛋白提供了成熟的控制表达体系。

4. 细菌在肿瘤治疗中的应用策略

传统的一代细菌疗法利用天然细菌发挥抗肿瘤作用例如 FDA 批准的治疗膀胱癌的卡介苗, 虽然具有较好的治疗效果, 但是大部分细菌自身严重的毒性阻碍细菌疗法的进一步应用。第二代细菌疗法通过基因工程改造细菌敲除毒力因子获得减毒细菌, 增强抗肿瘤功能, 极大地提高其治疗效果和安全性。随着纳米技术的迅速发展, 借助功能化的纳米材料辅助细菌疗法, 构建“细菌-纳米材料杂合系统”已发展成为更加安全、高效的第三代细菌疗法。

4.1. 工程化菌体增强抗肿瘤能力

4.1.1. 直接杀伤作用

结合细菌靶向肿瘤细胞的特性, 一部分研究人员, 将细菌设计为直接递送毒力因子的载体。细胞凋亡是一种程序性死亡的生理过程, 由于该过程属于一种正常的生理反应, 当直接诱导肿瘤细胞的凋亡时也不会引起剧烈的炎症反应。因此利用细菌递送诱导细胞凋亡的因子是一种具有吸引力治疗方式。Zhang 等[24]设计了表达肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TRAIL)的 *E. coli* DH5 alpha, 表达 TRAIL 的细菌能够在肿瘤内释放生物活性分子, 在小鼠实验中能够显著降低肿瘤的生长速度, 延长荷瘤小鼠的生存期。凋亡素(Apoptin)是一种来源于鸡贫血病毒的蛋白, 能够特异性诱导肿瘤细胞的凋亡[25]。Guan 等[26]将减毒的沙门氏菌作为凋亡素蛋白的表达载体能够通过激活 caspase-3 增加肿瘤细胞凋亡, 动物实验结果显示肿瘤组织的血管密度降低, 明显推迟肿瘤的生长, 延长了机体的生存期。CD47 是在多种人类肿瘤中高表达的抗吞噬受体。多项临床前动物试验表明, 阻断这一受体通路不仅能够增加对肿瘤细胞的吞噬, 而且能够促进巨噬细胞对肿瘤抗原的呈递进而增强抗肿瘤效应 T 细胞的激活。在使用 EcN 表达复合聚集裂解效应的 CD47 纳米抗体治疗肿瘤的实验中, 治疗组增加了肿瘤浸润 T 细胞的数量、引发快速的肿瘤消退反应, 阻止肿瘤转移的发生。这种细菌治疗策略避免了直接应用 CD47 抗体引起的贫血和血小板降低的毒副作用。

4.1.2. 免疫调节剂

1) 递送细胞因子

近年来人们越来越多从免疫学角度解释肿瘤的发展, 发现有一部分肿瘤是免疫“冷”肿瘤, 它们肿瘤内的微环境(TME)导致免疫非应答, 使疯狂增殖的癌细胞发生免疫逃逸。细胞因子是由多种细胞类型分泌产生的具有细胞活性的一类调节因子, 是 TME 中介导信号传递的重要媒介, 具有促进和抑制肿瘤的多重效应。Zhang 等[27]设计了递送 IL-12 的李斯特菌, 这一系统避免了 IL-12 全身给药的毒副作用, 同时在动物实验中表现出 14.3%的治愈率。LIGHT 是 TNF 家族细胞因子, 已被证明具有一定抗肿瘤能力;

Markus Loeffler 等[28]设计了表达 LIGHT 的减毒沙门氏菌, 在多个小鼠肿瘤模型中都观察到肿瘤的消退, 通过分析 TME, 发现治疗效果与肿瘤内浸润大量的炎症细胞有关, 也观察到 DCs 的数量增加。Thomas M. 等[29]构建表达人类趋化因子 CXCL16 激活突变体的细菌在多种小鼠肿瘤模型中表现出治疗益处, 他们又进一步构建表达 CCL20 的工程菌株, 趋化因子的协同作用使得肿瘤中 DC 募集和 T 细胞活化减缓了肿瘤的生长。

2) 递送免疫检查点抑制剂

免疫检查点抑制剂的主要机制是逆转肿瘤中的免疫抑制微环境, 缓解免疫细胞的耐受状态例如临床上使用的 PD-1, PD-L1, CTLA4。Nami 等[30]已经通过基因修饰成功地在乳酸菌内表达人类抗 CTLA4 抗体, 并且通过 ELISA 实验验证其与人 CTLA4 的结合。Zhou 等[19]构建了表达 mPD-1 的 VNP20009 工程化菌株, 在小鼠黑色素瘤模型中观察到显著的肿瘤消退现象。Gurbatri 等[31]将抗 PD-L1 抗体蛋白基因和抗 CTLA4 抗体基因蛋白通过高拷贝质粒转化到工程菌 *E. coli* 中, 实现了在肿瘤部位表达 PD-L1、CTLA4 抑制剂的表达, 并且观察到 Treg 细胞数量的下降和 CD4⁺T 和 CD8⁺T 细胞数量的增加, 显示了对肿瘤内部抑制的免疫微环境的逆转。

3) 递送 CAR-T 抗原

嵌合抗原受体的 T 细胞疗法(CAR-T)在血液肿瘤的治疗中获得了显著的成功, 但是对于实体肿瘤的治疗仍存在很大的局限性。这一阻碍的关键在于肿瘤相关抗原(TAAs)的表达极少是肿瘤组织所特有的, 它们也存在于其他重要的组织中, 因此靶向 TAAs 有极大的脱靶风险。近期研究人员 Rosa L. Vincent 等[32]根据在大多数实体肿瘤细胞外基质中所富含的胶原蛋白、纤连蛋白、硫酸乙酰肝素蛋白多糖(HSPG)上广泛存在着来源于胎盘生长因子-2 (PIGF-2)的肝素结合域(HBD)受体, 将能够介导 CAR-T 反应的复合超变体绿色荧光蛋白(diGFP)和 PIGF-2₁₂₃₋₁₃₄ 相连接并使这一复合物的基因通过益生菌 EcN 表达。利于微生物的聚集裂解效应, 使得细菌在肿瘤中富集到一定程度后一致性裂解释放出合成抗原。这相当于特异性地为实体肿瘤贴上“抗原标签”, 能够使重组的嵌合抗原受体的 T 细胞高效靶向肿瘤发挥治疗效果。实验中, 在多种小鼠和人类的异源、同源肿瘤模型中验证了其安全性和有效性。此外, 研究人员还设计了多功能益生菌 EcN, 通过共同释放趋化因子来增强 CAR-T 细胞募集和治疗反应。这项研究利用细菌所建立的 PROCARs 平台为开发通用型 CAR-T 提供了新的思路。

4.2. 纳米材料——细菌系统增强肿瘤治疗效力

4.2.1. 光热疗法与细菌 - 纳米系统

吡啶胺 2, 3-双加氧酶 1 (IDO-1)能够降低近红外光照射下诱导肿瘤细胞免疫原性死亡(ICD)的治疗效果, Song 等[33]利用 VNP20009 细菌定植于肿瘤内招募肿瘤相关巨噬细胞(TAMs)协助生物合成 CuS 纳米材料形成 CuS VNP20009, 再将 NLG919 (IDO-1 抑制剂)嵌入到谷胱甘肽响应的白蛋白纳米颗粒(NBNPs)中, 并进一步搭载于 CuS VNP20009 的细胞外表面, 形成 CuS VNP20009_{NB}, 在近红外光照射下细胞内的 CuSNMs 可以光热诱导 ICD 激活抗肿瘤免疫, 将 TAMs 从 M2 型转化为 M1 型, 抑制 IDO-1 活性和肿瘤生长。光热疗法(PTT)是一种可以在肿瘤局部准确且有效的产生肿瘤相关抗原来激活机体免疫响应。然而传统的 PTT 存在一些应用弊端, 如光热剂会无差别引起热效应导致炎症, 可能会加剧肿瘤的转移甚至复发, 因此实现精准的肿瘤原位光热免疫治疗是亟待解决的问题。Wu 等[34]设计了一种细菌代谢启动和光热增强的纳米催化免疫肿瘤治疗新模式, 通过将聚乙二醇修饰的 Cu₂O 纳米颗粒偶连到沙门氏菌表面, 靶向肿瘤组织的细菌将在代谢过程中产生 H₂S 气体和其他酸性物质, 导致双重治疗效应。一方面产生的 H₂S 触发 Cu₂O 原位硫化反应形成 CuS, 在局部近红外激光照射下实现肿瘤原位光热治疗; 另一方面 Cu₂O 在酸化的肿瘤微环境中释放的 Cu⁺能够触发瘤内的类芬顿, 实现原位肿瘤催化治疗。

4.2.2. 磁热疗法与细菌 - 纳米系统

磁性氧化铁纳米材料具有独特的磁学性质和较高的生物安全性, 广泛应用于生物学各个前沿领域, 特别是基于其介导外磁场产生的磁热效应发展起来的肿瘤磁热疗技术(MHT)。目前临床氧化铁纳米材料(超顺磁氧化铁纳米材料)介导的磁热疗法仍存在疗效难以满足临床需求的问题。近年来, 越来越多的研究集中于改变磁热疗材料的颗粒大小、形态、成分、磁各向异性常数等增强磁性热疗材料的磁热效率, 提高磁热抗肿瘤效果。Ma 等[35]通过 Fe₃O₄ 修饰 *E. coli*, 利用 Fe₃O₄ 纳米材料能够将磁信号转化为热信号, 控制了细菌体内的热诱导启动子激活下游抗 CD47 纳米抗体的表达, 磁性装载的细菌能够增强肿瘤靶向释放 CD47 抑制剂, 这一方法创新实现交变磁场对体内细菌基因表达和药物释放行为的时间 - 空间精准操纵, 最终实现肿瘤精准免疫治疗。

5. 总结与展望

近年来研究证明了肿瘤内部细菌的存在和微生物群的免疫调节作用, 表明肿瘤组织是细菌与肿瘤细胞和宿主相互作用的复合体。随着对 TME 的深入了解以及微生物学、纳米技术和重组 DNA 技术的快速发展, 重新编程细菌的实现使细菌治疗日益成为癌症研究和治疗的新热点, 一系列的报道也显示出了应用细菌治疗肿瘤的有益效果, 但某些作用的机制研究仍不清楚如细菌在肿瘤中大量繁殖的依据、细菌自身激活免疫程度的控制等。细菌和肿瘤的作用关系仍需要进一步的探索, 例如 Fu 等[6]发表的研究报道指出肿瘤细胞内确实存在细菌, 并且它们在肿瘤转移定植的过程中发挥了关键作用, 因此在利用细菌治疗肿瘤时仍然不能不考虑细菌在治疗中主要作用及其可能产生的副作用。在临床前研究初见成效的基础上, 细菌肿瘤疗法用药安全性评价、临床治疗效果评估等工作, 有待于更多的科研工作者完成, 以造福更多的肿瘤患者。

参考文献

- [1] Kocijancic, D., Felgner, S., Frahm, M., *et al.* (2016) Therapy of Solid Tumors Using Probiotic Symbioflor-2—Restrains and Potential. *Oncotarget*, **7**, 22605-22622. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.8027>
- [2] HoptonCann, S.A., Van Netten, J.P. and Van Netten, C. (2003) Dr William Coley and Tumour Regression: A Place in History or in the Future. *Postgraduate Medical Journal*, **79**, 672-680. <https://doi.org/10.1093/postgradmedj/79.938.672>
- [3] Choi, Y., Lichtenman, J.N., Coughlin, L.A., *et al.* (2023) Immune Checkpoint Blockade Induces Gut Microbiota Translocation That Augments Extraintestinal Antitumor Immunity. *Science Immunology*, **8**, Eabo2003. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abo2003>
- [4] Bender, M.J., McPherson, A.C., Phelps, C.M., *et al.* (2023) Dietary Tryptophan Metabolite Released by Intratumoral *Lactobacillus reuteri* Facilitates Immune Checkpoint Inhibitor Treatment. *Cell*, **186**, 1846-1862.E26. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.03.011>
- [5] Galeano Niño, J.L., Wu, H., LaCourse, K.D., *et al.* (2022) Effect of the Intratumoral Microbiota on Spatial and Cellular Heterogeneity in Cancer. *Nature*, **611**, 810-817. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-05435-0>
- [6] Fu, A., Yao, B., Dong, T., *et al.* (2022) Tumor-Resident Intracellular Microbiota Promotes Metastatic Colonization in Breast Cancer. *Cell*, **185**, 1356-1372.E26. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.02.027>
- [7] Nolan, E., Bridgeman, V.L., Ombrato, L., *et al.* (2022) Radiation Exposure Elicits a Neutrophil-Driven Response in Healthy Lung Tissue That Enhances Metastatic Colonization. *Nature Cancer*, **3**, 173-187. <https://doi.org/10.1038/s43018-022-00336-7>
- [8] Zheng, J.H., Nguyen, V.H., Jiang, S.-N., *et al.* (2017) Two-Step Enhanced Cancer Immunotherapy with Engineered *Salmonella typhimurium* Secreting Heterologous Flagellin. *Science Translational Medicine*, **9**, Eaak9537. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aak9537>
- [9] Forbes, N.S., Munn, L.L., Fukumura, D., *et al.* (2003) Sparse Initial Entrapment of Systemically Injected *Salmonella typhimurium* Leads to Heterogeneous Accumulation within Tumors. *Cancer Research*, **63**, 5188-5193.
- [10] Tang, Q., Peng, X., Xu, B., *et al.* (2022) Current Status and Future Directions of Bacteria-Based Immunotherapy. *Frontiers in Immunology*, **13**, Article ID: 911783. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.911783>

- [11] Leventhal, D.S., Sokolovska, A., Li, N., *et al.* (2020) Immunotherapy with Engineered Bacteria by Targeting the STING Pathway for Anti-Tumor Immunity. *Nature Communications*, **11**, Article No. 2739. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16602-0>
- [12] Fang, R., Jiang, Q., Jia, X., *et al.* (2023) ARMH3-Mediated Recruitment of PI4KB Directs Golgi-to-Endosome Trafficking and Activation of the Antiviral Effector STING. *Immunity*, **56**, 500-515.E6. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2023.02.004>
- [13] Zhang, X., Bai, X.-C. and Chen, Z.J. (2020) Structures and Mechanisms in the CGAS-STING Innate Immunity Pathway. *Immunity*, **53**, 43-53. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.05.013>
- [14] Yu, X., Lin, C., Yu, J., *et al.* (2019) Bioengineered *Escherichia coli* Nissle 1917 for Tumour-Targeting Therapy. *Microbial Biotechnology*, **13**, 629-636. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13523>
- [15] Behnsen, J., Deriu, E., Sassone-Corsi, M., *et al.* (2013) Probiotics: Properties, Examples, and Specific Applications. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, **3**, A010074. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a010074>
- [16] Reister, M., Hoffmeier, K., Krezdorn, N., *et al.* (2014) Complete Genome Sequence of the Gram-Negative Probiotic *Escherichia coli* Strain Nissle 1917. *Journal of Biotechnology*, **187**, 106-107. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.07.442>
- [17] Clairmont, C., Lee, K.C., Pike, J., *et al.* (2000) Biodistribution and Genetic Stability of the Novel Antitumor Agent VNP20009, a Genetically Modified Strain of *Salmonella typhimurium*. *The Journal of Infectious Diseases*, **181**, 1996-2002. <https://doi.org/10.1086/315497>
- [18] Toso, J.F., Gill, V.J., Hwu, P., *et al.* (2002) Phase I Study of the Intravenous Administration of Attenuated *Salmonella typhimurium* to Patients with Metastatic Melanoma. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, **20**, 142-152. <https://doi.org/10.1200/JCO.2002.20.1.142>
- [19] Zhou, D.-X., Wang, X.-H., Xu, X., *et al.* (2022) Anti-Tumor Effects of Engineered VNP20009-Abvec-Ig κ -MPD-1 Strain in Melanoma Mice via Combining the Oncolytic Therapy and Immunotherapy. *Pharmaceutics*, **14**, Article No. 2789. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14122789>
- [20] Pawelek, J.M., Low, K.B. and Bermudes, D. (1997) Tumor-Targeted Salmonella as a Novel Anticancer Vector. *Cancer Research*, **57**, 4537-4544.
- [21] Garza-Morales, R., Rendon, B.E., Malik, M.T., *et al.* (2020) Targeting Melanoma Hypoxia with the Food-Grade Lactic Acid Bacterium *Lactococcus lactis*. *Cancers*, **12**, Article No. 438. <https://doi.org/10.3390/cancers12020438>
- [22] Feizollahzadeh, S., Khanahmad, H., Rahimmanesh, I., *et al.* (2016) Expression of Biologically Active Murine Interleukin-18 in *Lactococcus lactis*. *FEMS Microbiology Letters*, **363**, Fnw234. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnw234>
- [23] Zhu, J., Ke, Y., Liu, Q., *et al.* (2022) Engineered *Lactococcus lactis* Secreting Flt3L and OX40 Ligand for *in Situ* Vaccination-Based Cancer Immunotherapy. *Nature Communications*, **13**, Article No. 7466. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-35130-7>
- [24] Zhang, H.-Y., Man, J.-H., Liang, B., *et al.* (2010) Tumor-Targeted Delivery of Biologically Active TRAIL Protein. *Cancer Gene Therapy*, **17**, 334-343. <https://doi.org/10.1038/cgt.2009.76>
- [25] Malla, W.A., Arora, R., Khan, R.I.N., *et al.* (2020) Apoptin as a Tumor-Specific Therapeutic Agent: Current Perspective on Mechanism of Action and Delivery Systems. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **8**, Article No. 524. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00524>
- [26] Guan, G., Zhao, M., Liu, L., *et al.* (2013) *Salmonella typhimurium* Mediated Delivery of Apoptin in Human Laryngeal Cancer. *International Journal of Medical Sciences*, **10**, 1639-1648. <https://doi.org/10.7150/ijms.6960>
- [27] Zhang, Y.-L., Lü, R., Chang, Z.-S., *et al.* (2014) Clostridium Sporogenes Delivers Interleukin-12 to Hypoxic Tumours, Producing Antitumour Activity without Significant Toxicity. *Letters in Applied Microbiology*, **59**, 580-586. <https://doi.org/10.1111/lam.12322>
- [28] Loeffler, M., Le'Negrata, G., Krajewska, M., *et al.* (2007) Attenuated Salmonella Engineered to Produce Human Cytokine LIGHT Inhibit Tumor Growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **104**, 12879-12883. <https://doi.org/10.1073/pnas.0701959104>
- [29] Savage, T.M., Vincent, R.L., Rae, S.S., *et al.* (2023) Chemokines Expressed by Engineered Bacteria Recruit and Orchestrate Antitumor Immunity. *Science Advances*, **9**, Eadc9436. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adc9436>
- [30] Namai, F., Murakami, A., Ueda, A., *et al.* (2020) Construction of Genetically Modified *Lactococcus lactis* Producing Anti-Human-CTLA-4 Single-Chain Fragment Variable. *Molecular Biotechnology*, **62**, 572-579. <https://doi.org/10.1007/s12033-020-00274-8>
- [31] Gurbatri, C.R., Lia, I., Vincent, R., *et al.* (2020) Engineered Probiotics for Local Tumor Delivery of Checkpoint Blockade Nanobodies. *Science Translational Medicine*, **12**, Eaax0876. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aax0876>
- [32] Vincent, R.L., Gurbatri, C.R., Li, F., *et al.* (2023) Probiotic-Guided CAR-T Cells for Solid Tumor Targeting. *Science*,

- 382**, 211-218. <https://doi.org/10.1126/science.add7034>
- [33] Song, P., Han, X., Li, X., *et al.* (2023) Bacteria Engineered with Intracellular and Extracellular Nanomaterials for Hierarchical Modulation of Antitumor Immune Responses. *Materials Horizons*, **10**, 2927-2935. <https://doi.org/10.1039/D3MH00249G>
- [34] Wu, W., Pu, Y., Gao, S., *et al.* (2022) Bacterial Metabolism-Initiated Nanocatalytic Tumor Immunotherapy. *Nano-Micro Letters*, **14**, Article No. 220. <https://doi.org/10.1007/s40820-022-00951-0>
- [35] Ma, X., Liang, X., Li, Y., *et al.* (2023) Modular-Designed Engineered Bacteria for Precision Tumor Immunotherapy via Spatiotemporal Manipulation by Magnetic Field. *Nature Communications*, **14**, Article No. 1606. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-37225-1>