

# 厌氧菌介导的肿瘤微环境响应型纳米粒子 增强肺癌疗效

李月<sup>1</sup>,熊康<sup>1</sup>,卢韵<sup>1</sup>,傅少志<sup>1,2</sup>

1.西南医科大学附属医院 肿瘤科(泸州 646000);2.核医学与分子影像四川省重点实验室(泸州 646000)

**【摘要】目的** 传统化疗药物不能在肿瘤内部维持高浓度,导致肺癌临床疗效降低,毒副作用严重。本研究的目的是开发一种由厌氧菌介导的新型纳米药物提升肿瘤组织药物浓度并提高治疗效果。**方法** 合成一种可降解聚合物并制备婴儿双歧杆菌抗体修饰的阿霉素纳米粒子(Ab-DOX-s-s-NPS),体外表征其形貌、药物释放行为和细胞摄取能力;建立A549肺癌荷瘤小鼠模型,评价该纳米粒抑制肿瘤生长的效果,并考察其毒副作用。**结果** 透射电镜(transmission electron microscopy, TEM)图像及凝胶电泳蛋白图谱等证实 Ab-DOX-s-s-NPS 纳米粒子的成功制备,粒径约为  $85.6 \pm 1.4$  nm,它能与细菌良好结合;在高谷胱甘肽(glutathione, GSH)环境中能快速释放药物并被肿瘤细胞摄取;通过预植入的双歧杆菌为靶标,该纳米粒子在荷瘤小鼠体内能主动富集到肿瘤缺氧区域,显著抑制肿瘤生长,延长小鼠生存时间;且与游离阿霉素造成的心肌纤维化相比,纳米药物组没有造成显著的心脏毒性和肝肾功能损伤。**结论** 本研究制备的 Ab-DOX-s-s-NPS 纳米粒子具有还原响应性,能通过双歧杆菌的招募主动靶向富集到肿瘤组织,对肺癌移植瘤具有优异的抗肿瘤效果,有望成为治疗其他恶性实体瘤的候选药物。

**【关键词】** 婴儿双歧杆菌;肿瘤乏氧;纳米粒子;多柔比星;肺癌

**【中图分类号】** R73-3

**文献标志码** A

**DOI:** 10.3969/j.issn.2096-3351.2024.03.004

## Anaerobic Bacteria-Mediated Tumor Microenvironment-Responsive Nanoparticles Enhance the Therapeutic Efficacy of Lung Cancer

Li Yue<sup>1</sup>, XIONG Kang<sup>1</sup>, LU Yun<sup>1</sup>, FU Shaozhi<sup>1,2</sup>

1. Department of Oncology, The Affiliated Hospital, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 2. Nuclear Medicine and Molecular Imaging Key Laboratory of Sichuan Province, Luzhou 646000, China

**【Abstract】 Objective** Traditional chemotherapy drugs are unable to maintain high concentration in the tumor, which leads to the reduction of clinical efficacy of lung cancer and serious side effects. The purpose of this study is to develop a novel nanodrug mediated by anaerobic bacteria to increase the drug concentration in tumor tissue and improve the therapeutic effect. **Methods** A degradable polymer was synthesized and doxorubicin nanoparticles (Ab-DOX-s-s-NPS) modified with Bifidobacterium infantis (Bi) antibody were prepared. The morphology, drug release behavior and cell uptake were characterized in vitro. An A549 lung cancer-bearing mouse model was established to evaluate the effect of the nanoparticles on inhibiting tumor growth and to investigate their toxic and side effects. **Results** The transmission electron microscope (TEM) image and gel electrophoresis protein map confirmed the successful preparation of Ab-DOX-s-s-NPS nanoparticles, which could combine well with bacteria. It could rapidly release drugs and be absorbed by tumor cells in high GSH environment. With the pre-implanted bifidobacterium as the target, the nanoparticles could actively enrich to the anoxic regions of tumor. It could significantly inhibit the growth of tumor and prolong the survival time of mice. Compared with the myocardial fibrosis caused by free adriamycin, the nanodrug did not cause significant cardiac toxicity and liver and kidney function damage. **Conclusion** The nanoparticles prepared in this study were reduction-responsive and could be actively targeted and enriched into tumor tissue through the recruitment of Bi, which had excellent anti-tumor effect on lung cancer transplanted tumor. The drug system was expected to become a new strategy for the treatment of other malignant solid tumors.

**【Key words】** Bifidobacterium infantis; Tumor hypoxia; Nanoparticles; Doxorubicin; Lung cancer

组织缺氧是造成恶性实体瘤疗效下降,甚至产生远处转移的主要原因<sup>[1]</sup>。因此,开发靶向肿瘤缺氧区治疗策略是提高疗效的关键<sup>[2-3]</sup>。除了提高肿瘤组织氧浓度外,采用仿生纳米粒子或厌氧菌递送药物也引起了大量关注<sup>[4-5]</sup>。虽然细菌在传递治疗性蛋白用于基

因治疗方面有所进步<sup>[6-7]</sup>,但效果并不理想。因此,有研究者采用“细菌机器人”将治疗药物递送到肿瘤缺氧区<sup>[8-9]</sup>。而且还采用细菌外膜对治疗药物进行伪装以实现精准递送,并增强免疫治疗效果<sup>[10-11]</sup>。婴儿双歧杆菌(bifidobacterium infantis, *B. infantis*, Bi)是一种专

**基金项目:**四川省科技厅应用基础研究项目(2020YJ0385);西南医科大学应用基础重点项目(2021ZKZD014)

**通信作者:**傅少志, E-mail: shaozhifu513@163.com

**引用本文:**李月,熊康,卢韵,等.厌氧菌介导的肿瘤微环境响应型纳米粒子增强肺癌疗效[J].西南医科大学学报.2024,47(3):200-205.DOI:10.3969/j.issn.2096-3351.2024.03.004.

性厌氧的益生菌,可以靶向肿瘤缺氧区<sup>[12-13]</sup>。我们前期研究已证实双歧杆菌结合细菌抗体后联合放疗的策略对肺癌具有协同治疗作用<sup>[14]</sup>。

依托肿瘤的低氧及还原性微环境<sup>[15-16]</sup>,我们拟采用一种还原响应的聚合物作为载体制备阿霉素纳米粒子,再在纳米粒表面修饰细菌抗体(antibody, Ab),构建用于肺癌治疗的“智能导弹”。通过事先在肿瘤组织定植的双歧杆菌作为靶标,召集抗体修饰的纳米粒(Ab-DOX-s-s-NPS)主动富集到肿瘤缺氧区。随着载体对还原性环境的智能响应,快速释放出阿霉素抑制肿瘤生长。我们将通过体内外实验验证这种细菌介导缺氧区靶向治疗策略的效果及毒副作用。

## 1 材料与实验方法

### 1.1 材料与仪器

**1.1.1 材料** 甲氧基聚乙二醇-聚己内酯-聚乙烯亚胺(methoxy polyethylene glycol-polycaprolactone-s-s-polyethyleneimine, MPEG-PCL-s-s-PEI)通过参考文献提供的多步化学合成方法事先制备<sup>[16]</sup>。婴儿双歧杆菌(GIM1.207)购自广东微生物菌种保藏中心;细菌抗体由京天成生物技术(北京)有限公司制备;多柔比星(doxorubicin, DOX)购自大连美仑生物有限公司;人肺癌细胞 A549 购自中国科学院细胞库。

**1.1.2 仪器** 荧光显微镜(Olympus IX73, Tokyo, Japan),共聚焦激光显微镜(CLSM Zeiss LSM 880, Carl Zeiss, Germany),<sup>18</sup>F-FMISO PET/CT 成像(Siemens, Munich, Germany)。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 阿霉素纳米粒子的制备与表征** 称取5 mg 聚合物溶于1.6 mL 去离子水中,在60 °C 条件下孵育后通过自组装形成空白纳米粒溶液。然后再逐滴加入DOX 溶液(0.2 mL, 5 mg/mL)并搅拌20 min,超滤纯化后冻干备用。采用相同方法制备非还原响应性纳米粒子(DOX-NPS)和空白纳米粒子(Blank NPS),测定纳米粒子的粒径和电位( $n = 3$ ),通过TEM 观察纳米粒子形貌。将不同的DOX 药物分别溶解在含不同浓度GSH 的磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffer solution, PBS)中并装入透析袋中(截留分子量:3 500),置于37 °C 的释放介质中振摇,收集释放媒介测定药物体外累积释放率。十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(dodium dodecyl sulfate - polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)分别测定 Ab、DOX-s-s-NPS 和 Ab-DOX-s-s-NPS 的蛋白谱。将细菌与 Ab-DOX-s-s-NPS 于37 °C 下共孵育4 h,离心后测定上清液在485 nm 处的紫外吸收强度,评价细菌与纳米粒子的结合能力。

**1.2.2 体外细胞摄取分析** 将A549 细胞以 $1.0 \times 10^5$  个/孔接种于6孔板中并培养。然后用含有生理盐水(nor-

mal saline, NS)、游离DOX、DOX-NPS 和 Ab-DOX-s-s-NPS 的新鲜无血清培养基进行置换。继续孵育4 h 后用含有10 mM GSH 的样品用作对照,通过荧光显微镜和共聚焦激光显微镜对细胞进行成像。

**1.2.3 体内靶向性及抗肿瘤效果评价** 通过尾静脉将0.2 mL 细菌悬液( $3 \times 10^8$  CFU/mL)注射到A549 荷瘤小鼠体内。48 h 后收集肿瘤制作切片。将切片与一抗(细菌抗体以1:25 稀释,缺氧诱导因子-1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )以1:100 稀释)在4 °C 下孵育。再将其与荧光标记的二抗,Cy3 偶联二抗(1:300 稀释)和 Alexa Fluor 488 偶联二抗(1:400 稀释)在黑暗环境中室温下孵育50 min。最后加入4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4'-6-diamidino-2-phenylindole, DAPI) 溶液孵育10 min,用荧光显微镜观察并成像。动物实验由西南医科大学实验动物伦理委员会批准(伦理批号:20190906-16)。

在裸鼠右腿皮下接种A549 细胞建立肺癌移植瘤模型。当肿瘤体积生长达到约50 mm<sup>3</sup> 时,小鼠被随机分为8组( $n = 6$ ),除NS 和DOX-NPS 组不注射细菌外,其余6组小鼠均在第0 d 通过尾静脉注射0.1 mL 细菌悬液( $3 \times 10^8$  CFU/mL)。然后各组在第3、6、9 d 分别注射6种不同药物:NS、Ab、DOX、DOX-NPS、Ab-DOX-NPS、Ab-DOX-s-s-NPS, DOX 剂量为4 mg/kg。每3 d 测量瘤体积和体重。在扫描前30 ~ 60 min,每组随机选取三只小鼠通过尾静脉注射100 ~ 150  $\mu$ Ci 的示踪剂,然后采用micro <sup>18</sup>F-FMISO PET/CT 成像评估肿瘤组织中的缺氧状况。

小鼠尾静脉注射不同的DOX 制剂(10 mg/kg),24 h 后处死采集小鼠器官及肿瘤组织并匀浆。离心后在激发光波长480 nm,发射光波长570 nm 处检测上清液的荧光强度,分析DOX 在各器官中的浓度( $n = 3$ )。采集治疗后小鼠心脏组织及血样,用于评价药物对心脏的组织毒性和测定血清生化指标,具体包括血液常规参数,如白细胞计数(WBC)、红细胞计数(RBC)、血小板(PLT)、中性粒细胞数(NEU)、中性粒细胞率(NEU-R)、淋巴细胞数(LYM)和淋巴细胞率(LYM-R),以及血清生化指标:丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、AST/ALT、碱性磷酸酶(ALP)、肌酐(CREA)、尿素(UREA)、葡萄糖(GLU)、白蛋白(ALB)和总胆固醇(TC)。

### 1.3 统计学分析

数据采用GraphPad Prism 6.07 进行统计学分析,以均数  $\pm$  标准差表示,采用单向方差分析对多组间进行比较。进行 *Post Hoc* 检验, *LSD* 法比较两组间差异。 $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

## 2.1 纳米粒子的制备及表征

图1A的TEM图像显示制备的DOX-s-s-NPS呈球形,粒径为 $(85.6 \pm 1.4)$  nm, Zeta电位为 $(+19.86 \pm 3.61)$  mV。抗体修饰的纳米粒子Ab-DOX-s-s-NPS与细菌结合后呈“芝麻糖”状外观(图1B)。药物释放曲线(图1C)证实在含有10 mM GSH的环境中,96 h后DOX

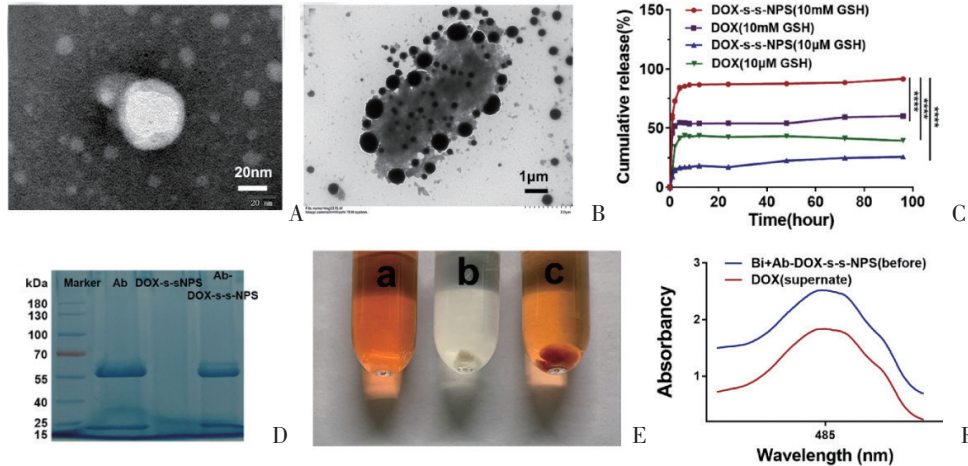


图1 Ab-DOX-s-s-NPS的体外性质表征

Figure 1 In vitro characterization of DOX-s-s-NPS

注:A. DOX-s-s-NPS的TEM图像;B. Bi/Ab-DOX-s-s-NPS杂化物的TEM图像;C. 体外释放曲线;D. SDS-PAGE凝胶电泳蛋白图谱;E. Bi与Ab-DOX-s-s-NPS共孵育后离心前(a)及离心后(c)照片,(b)为无纳米粒子的单纯细菌;F. 离心前(蓝色)和离心后(红色)溶液的紫外吸收曲线。

## 2.2 纳米粒子的体外细胞摄取

从图2A细胞摄取结果可知,孵育4 h后DOX组和DOX-s-s-NPS组的荧光信号较弱,表明有一定的游离药物DOX和纳米粒子DOX-s-s-NPS被肿瘤细胞摄取。在10 mM GSH的环境中,A549细胞与DOX-s-s-NPS共孵育后展示出最强的荧光信号,比相同GSH浓度的DOX-NPS更强。当肿瘤细胞、细菌与DOX药物共培养后,如图2B的CLSM图像所示,Ab-DOX-NPS比游离DOX更容易被肿瘤细胞摄取,并招募更多的婴儿双歧杆菌聚集在细胞周围,显示明显的绿色荧光。

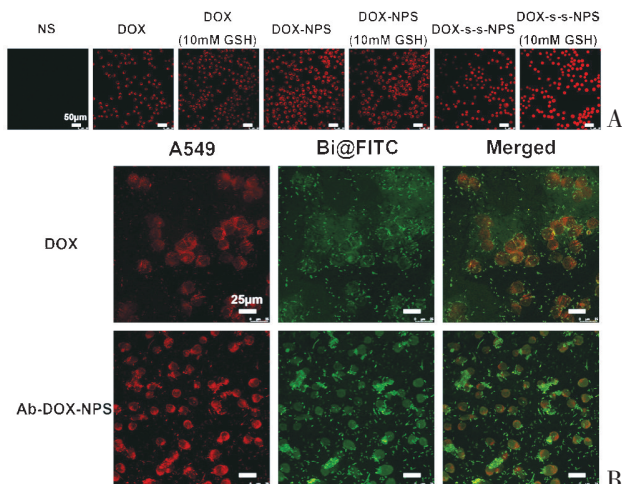


图2 体外A549细胞摄取的CLSM图像

Figure 2 CLSM images of A549 cell uptake in vitro

注:A. GSH (10 mM) 存在或缺乏条件下,细胞与不同药物共孵育4 h的图像;B. A549与Bi及不同DOX制剂共孵育后的图像。

的累积释放率为91.63%,而在10 μM GSH环境中仅为25.75%。图1D的SDS-PAGE电泳图谱显示Ab-DOX-s-s-NPS的蛋白条带与纯细菌抗体相同。图1E显示,细菌悬液离心后沉淀为白色,Ab-DOX-s-s-NPS结合到细菌表面后,离心后的沉淀为红色,上清液颜色变浅而且DOX的吸光度也明显降低(图1F)。

## 2.3 婴儿双歧杆菌在体内与肿瘤缺氧区的共定位

婴儿双歧杆菌的体内缺氧靶向性结果如图3A所示,绿色荧光表示HIF-1α高表达的缺氧区域,而红色荧光代表细菌定植的区域。从合并图像以及图中黄线的荧光强度分析表明,对照组(NS,图3B)中红色荧光强度非常弱,Bi组(图3C)中细菌红色荧光与缺氧区域绿色荧光有较明显的叠合。

## 2.4 体内抗肿瘤效应评价

<sup>18</sup>F-FMISO显像(图4A)中不论是肿瘤横截面还是小鼠冠状面图像均显示Bi+Ab-DOX-s-s-NPS组肿瘤部位的显像剂信号最弱,定量的SUV<sub>max</sub>(图4B)和SUV<sub>mean</sub>(图4C)柱状图表明该组中FMISO的摄取最低( $n = 3, P < 0.05$ )。

各组小鼠在给药后,Bi+Ab-DOX-s-s-NPS组肿瘤生长抑制最明显(图4D),NS组肿瘤生长最快。从图4E可以看出,Bi+Ab-DOX-s-s-NPS组小鼠的存活时间明显长于其他组,而游离DOX组小鼠的存活期最短。Bi+DOX组大部分小鼠具有消瘦、精神萎靡等症状,而其他组小鼠的体重没有明显变化(图4F)。

从H&E染色图像(图5A)可以看出,与NS组肿瘤细胞的旺盛增殖相比,Bi+Ab-DOX-s-s-NPS组的肿瘤细胞坏死最严重。图5B展示了注射不同的DOX后,Bi+Ab-DOX-s-s-NPS组的肿瘤组织中DOX含量最高,显著高于其他各组( $n = 3, P < 0.05$ )。而Bi+DOX组药物在心、肝、脾、肾等器官积累较多,可能产生较强的毒副作用。

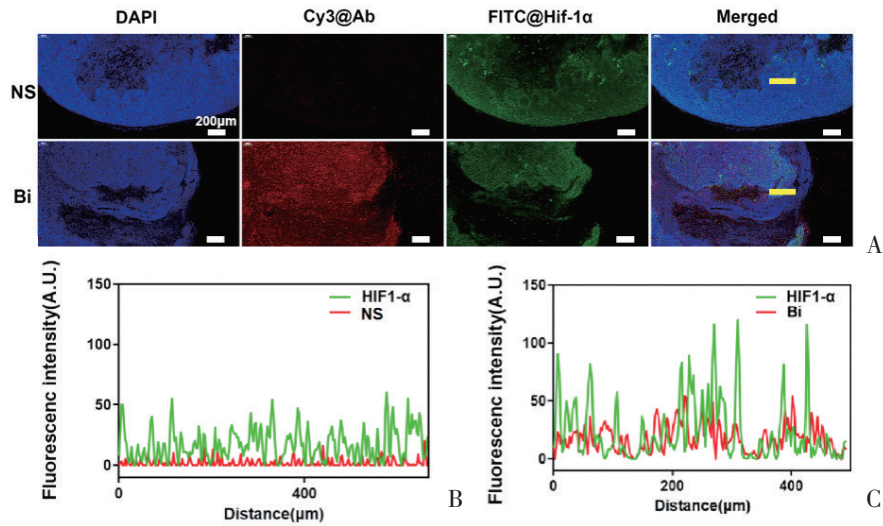


图3 Bi与HIF1-α缺氧区内共定位分析

Figure 3 Fluorescence analysis of Bi co-location with hypoxic region

注:A. 肿瘤组织免疫荧光图像(红色:Bi;绿色:缺氧区);B. 图A内NS组沿黄线的荧光强度分析;C. 图A内Bi组沿黄线的荧光强度分析。

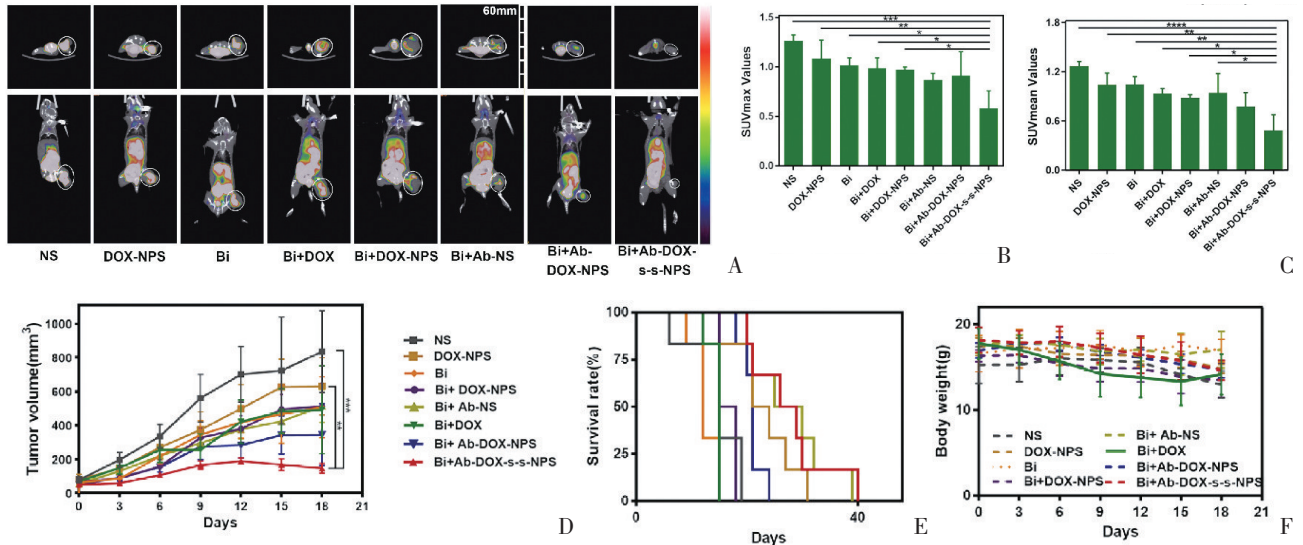


图4 荷瘤小鼠的体内治疗效果评价

Figure 4 In vivo evaluation of antitumor effect

注:A. micro<sup>18</sup>F-FMISO PET/CT 图像,上层为肿瘤横切面,下层为小鼠冠状面,白色圆圈表示肿瘤部位;B. 各组 SUVmax; C. 每组 SUVmean; D. 肿瘤体积变化; E. 小鼠的生存曲线; F. 体重变化。\**P* < 0.05, \*\**P* < 0.01, \*\*\**P* < 0.001, \*\*\*\**P* < 0.0001。

## 2.5 体内生物安全性(毒性)评价

Masson 染色图像(图6A)显示游离 DOX 组小鼠心肌可见大面积的蓝染胶原纤维分布,表明心肌损伤严重。而在 DOX 的纳米药物组(DOX-NPS 和 Bi+DOX-NPS),心肌中仅可见少量蓝染的胶原纤维。图6B展示的结果表明:Bi+DOX 组与阴性对照组(NS 组)相比,除白细胞,淋巴细胞和血小板明显减少外( $n = 3, P < 0.05$ ),其他指标均无显著变化。

## 3 讨论

组织缺氧是治疗恶性实体瘤的巨大障碍。尽管有许多策略被用来缓解肿瘤缺氧<sup>[17-18]</sup>,但存在氧输载体特异性低,以及肿瘤中血红蛋白的可用性降低等诸多不足<sup>[19]</sup>。基于厌氧菌的缺氧靶向性,我们提出

以厌氧菌作为靶标,通过细菌抗原-抗体结合的策略来实现治疗药物的靶向递送。先用细菌抗体修饰肿瘤微环境响应型纳米药物,然后通过细菌靶标的招募,纳米粒主动富集到肿瘤缺氧区并释放出药物发挥抗肿瘤效果。本研究中我们通过体外和体内实验验证了这种递送策略的抗肿瘤效果。

目前,已有大量研究使用包括大肠杆菌,沙门氏菌 VNP20009 等在内的细菌作为载体递送治疗药物<sup>[20-22]</sup>。与这些递送体系不同,本研究中我们预先在肿瘤的缺氧区植入一个靶标,再用细菌抗体对纳米药物进行修饰,然后纳米药物凭借细菌抗原-抗体的特异性结合主动聚集到肿瘤组织。因此,细菌的表面结构和生物活性并不会受到影响。

本研究构建的药物体系具有“智能”特征。首先

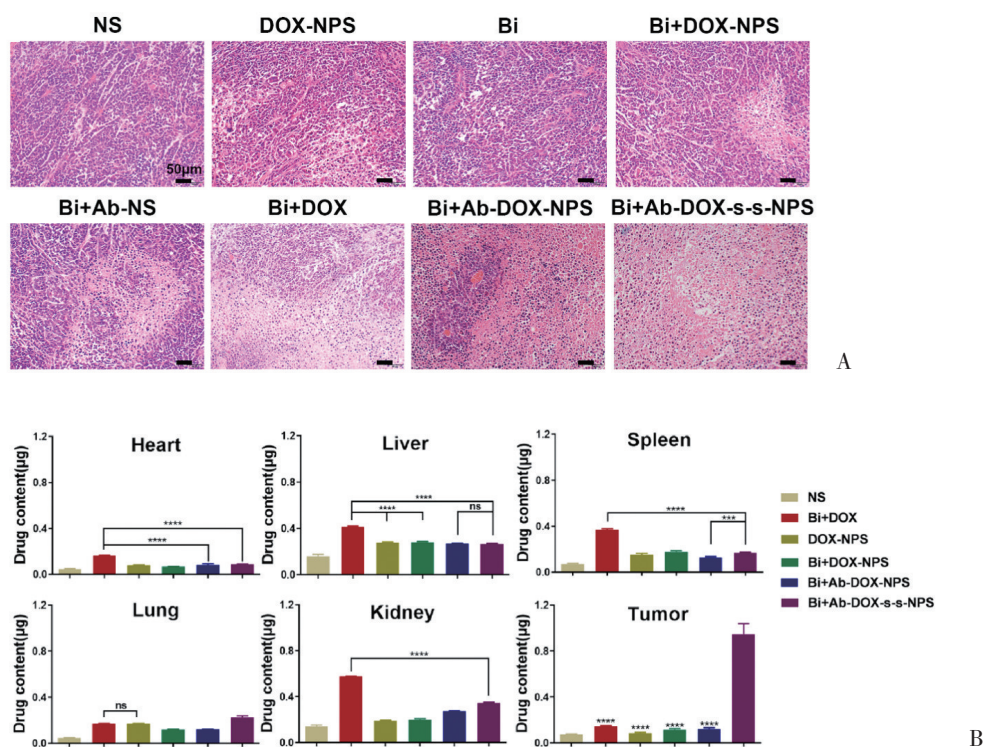


图5 肿瘤组织的H&E染色图像及药物的体内生物分布

Figure 5 H&E images of tumor tissues and in vivo biodistribution of DOX

注:A. 肿瘤组织H&E染色图像,标尺=50 µm;B. DOX的体内生物分布。ns:差异不具有统计学意义,\*\*\* $P < 0.001$ ,\*\*\*\* $P < 0.0001$ 。

儿双歧杆菌能主动定植到肿瘤缺氧区并招募细菌抗体修饰的纳米药物富集到此区域,能明显提升局部药物浓度,说明利用该策略对肿瘤缺氧区进行递送药物是成功的。另一方面的智能特征在于纳米粒子在肿瘤缺氧区积累后,聚合物中的二硫键(~s~s~)可以对肿瘤组织中高浓度的GSH产生智能响应而裂解,更快地释放药物发挥抗肿瘤作用。从体外药物释放、细胞摄取以及体内药物浓度分布等都充分证明了Ab-DOX-s-s-NPS依靠智能特性比其他药物组具有更好的治疗效果,以及更轻微的毒副作用。此外,我们也观察到尽管游离DOX的抗肿瘤效果比其他纳米药物组好,但其毒性不可忽视。给药后小鼠存活时间短,死亡率较高,甚至发生较严重的心肌损伤,这是蒽环类抗肿瘤药物常见的毒副作用<sup>[23]</sup>。

在本研究中我们仅建立了小鼠的肺癌异种移植瘤模型来验证这种给药策略是否有效,因此还存在一定的不足。后续我们将考虑采用其他类型的治疗药物或更多的恶性肿瘤模型来进一步验证,为发展新型的药物递送体系奠定更坚实的理论基础。

#### 4 结论

本研究构建的新型抗肿瘤纳米粒子Ab-DOX-s-s-NPS可以通过婴儿双歧杆菌的精确引导,精准聚集到肿瘤组织,并在还原性微环境作用下,快速释放阿霉素发挥显著的抗肿瘤作用。这种基于厌氧菌介导的

物靶向递送策略可以显著提高肿瘤内部药物浓度,抑制肿瘤生长,并且明显地减轻DOX导致的全身系统性毒副作用,在恶性实体瘤的精确治疗中具有广阔的应用前景。

#### 5 参考文献

- [1] TIWARI A, TRIVEDI R, LIN S Y. Tumor microenvironment: barrier or opportunity towards effective cancer therapy[J]. *J Biomed Sci*, 2022, 29(1): 83.
- [2] THAKKAR S, SHARMA D, KALIA K, *et al.* Tumor microenvironment targeted nanotherapeutics for cancer therapy and diagnosis: a review[J]. *Acta Biomater*, 2020, 101: 43-68.
- [3] YI X, ZHOU H, CHAO Y, *et al.* Bacteria-triggered tumor-specific thrombosis to enable potent photothermal immunotherapy of cancer[J]. *Sci Adv*, 2020, 6(33): eaba3546.
- [4] LIU Y, NIU L, LI N, *et al.* Bacterial-mediated tumor therapy: old treatment in a new context[J]. *Adv Sci*, 2023, 10(12): e2205641.
- [5] 贾铭, 李春红. 基于细胞外基质的胰腺癌纳米治疗策略[J]. *西南医科大学学报*, 2021, 44(05): 506-510.
- [6] YU X, LIN C, YU J, *et al.* Bioengineered Escherichia coli Nissle 1917 for tumour-targeting therapy[J]. *Microbial Biotechnol*, 2020, 13(3): 629-636.
- [7] CHEN F, ZANG Z, CHEN Z, *et al.* Nanophotosensitizer-engineered Salmonella bacteria with hypoxia targeting and photothermal-assisted mutual bioaccumulation for solid tumor therapy[J]. *Biomaterials*, 2019, 214: 119226.
- [8] FAN J X, LI Z H, LIU X H, *et al.* Bacteria-mediated tumor therapy utilizing photothermally-controlled TNF- $\alpha$  expression via oral administration[J]. *Nano Lett*, 2018(4), 18: 2373-2380.
- [9] NGUYEN V D, 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]. *Sensor Actuat B-Chem*, 2016, 224: 217-224.
- [10] CHEN H, LEI P, JI H, *et al.* Advances in Escherichia coli Nissle 1917 as a customizable drug delivery system for disease treat-

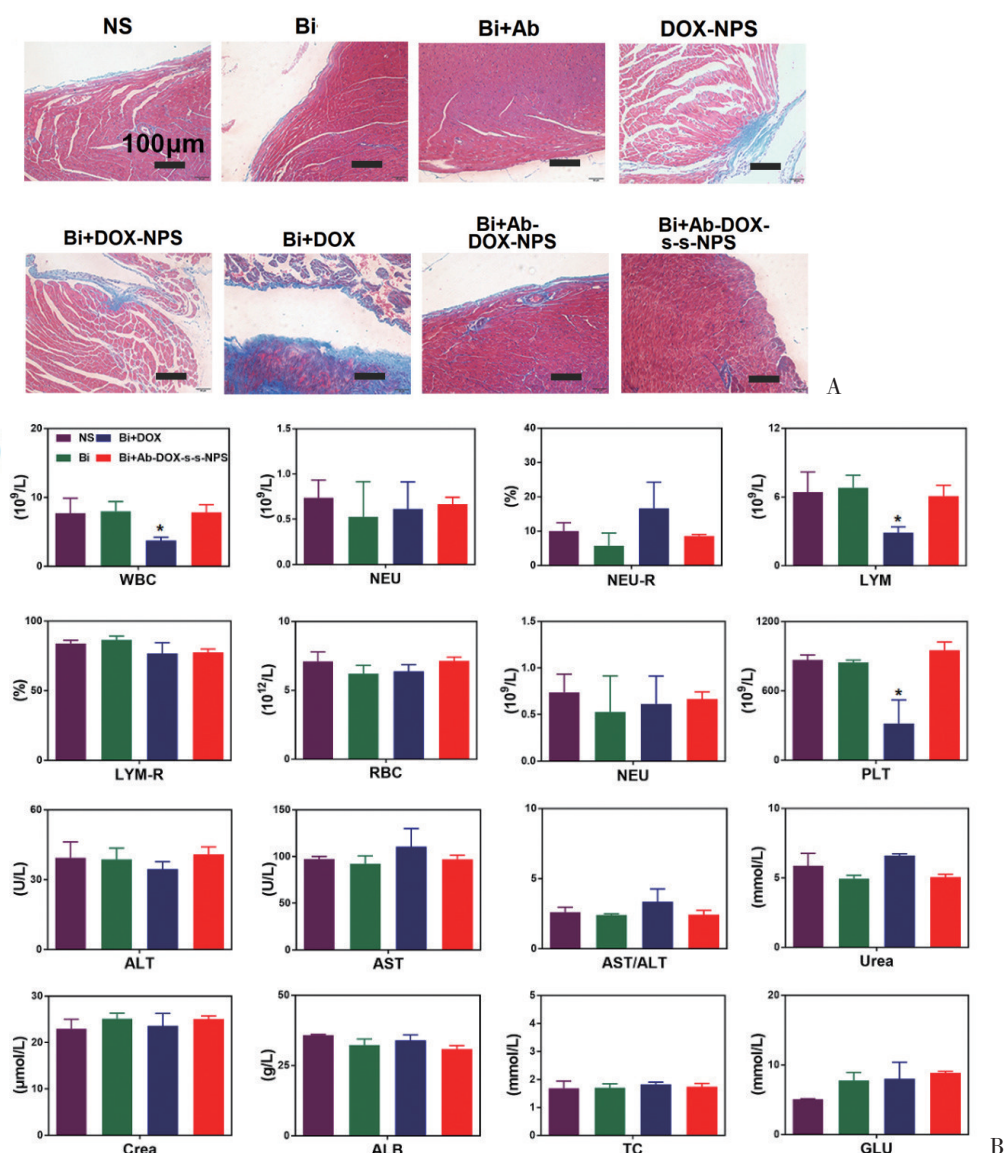


图6 体内毒性评价

Figure 6 In vivo evaluation of toxicity

注:A.各组心脏组织的Masson染色图像;B.各组生化指标和血常规分析。\* $P < 0.05$ 。

- ment and diagnosis strategies[J]. Mater Today Bio, 2023, 18: 100543.
- [11] 王钰莹,王曦,秦泓林,等.用于肺部疾病治疗的细胞膜涂层仿生纳米粒递送体系研究进展[J].药理学学报,2023,58(1):76-85.
- [12] 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: 649-657.
- [13] NGO N, CHOUCAIR K, CREEDEN J F, *et al.* *Bifidobacterium* spp: the promising Trojan Horse in the era of precision oncology[J]. Future Oncol, 2019, 15(33): 3861-3876.
- [14] YANG J, WU Z, CHEN Y, *et al.* Pre-treatment with *Bifidobacterium infantis* and its specific antibodies enhance targeted radiosensitization in a murine model for lung cancer[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2021, 147(2): 411-422.
- [15] LI J, HU Z E, YANG X L, *et al.* GSH/pH dual-responsive biodegradable camptothecin polymeric prodrugs combined with doxorubicin for synergistic anticancer efficiency[J]. Biomater Sci, 2019, 7(8): 3277-3286.
- [16] CHEN G, WU K, LI H, *et al.* Role of hypoxia in the tumor micro-environment and targeted therapy[J]. Front Oncol, 2022, 12: 961637.
- [17] WANG S B, LIU X H, LI B, *et al.* Bacteria-assisted selective photothermal therapy for precise tumor inhibition[J]. Adv Funct Mater, 2019, 29: 1904093.
- [18] 李鹏鹏,韩治敏,宫春爱,等.基于肿瘤缺氧微环境促进肿瘤治疗的纳米递送策略[J].海军军医大学学报,2022,43(2): 174-181.
- [19] SHARMA A, ARAMBULA J F, KOO S, *et al.* Hypoxia-targeted drug delivery[J]. Chem Soc Rev, 2019, 48(3): 771-813.
- [20] 汪梓宁,祝映,罗阳,等.细菌介导肿瘤治疗的进展与思考[J].重庆医科大学学报,2022,47(8):923-932.
- [21] 周航.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(1):67-74.
- [22] SHI H, CHEN L, LIU Y, *et al.* Bacteria-driven tumor microenvironment-sensitive nanoparticles targeting hypoxic regions enhances the chemotherapy outcome of lung cancer[J]. Int J Nanomedicine, 2023, 18: 1299-1315.
- [23] 高晓丽.抗肿瘤药的心脏毒性[J].西南医科大学学报,2019,42(05):483-488.

(利益冲突:无)

(收稿日期:2023-02-27;修回日期:2024-03-18)