

韩 晗,李雪敏,王 爽,等.噬菌体作抗菌剂使用的安全性评价研究进展[J].江苏农业科学,2017,45(22):18-23.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.22.005

噬菌体作抗菌剂使用的安全性评价研究进展

韩 晗^{1,2},李雪敏¹,王 爽¹,张体瑶¹,姜金仲¹,王 冉²

(1. 贵州师范学院贵州省生物资源开发利用特色重点实验室,贵州贵阳 550018;

2. 江苏省农业科学院省部共建国家重点实验室培育基地/江苏省食品质量安全重点实验室,江苏南京 210014)

摘要:噬菌体因其病毒本质,作抗菌剂使用时其安全性常倍受质疑,为探究与论证噬菌体的安全性,综述了近年来噬菌体相关安全性评价的研究结果。以往研究中,无论是动物试验,还是人体临床试验,均证实噬菌体不会对机体产生明显的副作用,而最新的研究揭示了人体内源性噬菌体的存在及其可能的益生作用。噬菌体的应用被认为安全性较高,对于噬菌体的传统认知,可能将被颠覆与更新,不过仍有必要深入开展更为系统的研究,以及从分子水平上探讨噬菌体对人体细胞可能产生的影响。

关键词:噬菌体;噬菌体治疗;安全性评价;毒理性;内源性噬菌体;抗菌剂;动物试验;人体临床试验

中图分类号: S852.65 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)22-0018-06

致病菌抗生素耐药性问题日趋严重,已使现代医学界与兽医学界面临巨大的挑战^[1]。许多研究均表明,无论是临床相关致病菌,还是动物源性致病菌,大多已对常用抗生素普遍耐药,而许多食源性致病菌也表现出较为严重的耐药性^[2-4]。因此,研发出抗生素替代物及能有效针对食品高危致病菌性

污染的抗菌剂尤为迫切。

噬菌体是细菌的天然克星,其本质为一类细菌病毒,可感染并裂解对应的宿主细菌,从而具有用作抗菌剂的可行性^[5-7]。近年来,在现代医学与兽医学领域,噬菌体用于治疗使用,尤其对治疗抗生素难治性感染,已彰显出巨大潜力^[8-9]。在食品工业中,噬菌体作抗菌剂使用,尤其对防控如大肠杆菌 O157、沙门氏菌、李斯特菌等高危致病菌造成的食品污染,也展现出巨大潜力^[10]。因此,噬菌体极有潜力被开发成为一种高效的治疗剂或食品抗菌剂。

然而,由于病毒的本质,噬菌体常呈现出较为负面的公众印象。其用作抗菌剂使用的安全性始终遭受部分学者质疑。若无法有力地论证它的安全性,将对日后相关研究获取基金的资助与进一步开展造成极大障碍。因此,为探究与论证噬

收稿日期:2016-05-29

基金项目:国家自然科学基金(编号:31402234);贵州省学位办项目(编号:2011231)。

作者简介:韩 晗(1987—),男,贵州贵阳人,硕士,讲师,研究方向为食源性病原菌的监测与防控。E-mail:teacherhann@126.com。

通信作者:王 冉,博士,研究员,研究方向为食源性病原菌的监测与防控。E-mail:wanran2001@126.com。

[69]刘立生,徐明岗,张 璐,等.长期种植绿肥稻田土壤颗粒有机碳演变特征[J].植物营养与肥料学报,2015,21(6):1439-1446.

[70]王 莉,王 鑫,余喜初,等.长期绿肥还田对江南稻田系统生产力及抗逆性的影响[J].中国水稻科学,2012,26(1):92-100.

[71]彭晚霞,宋同清,肖润林,等.覆盖与间作对亚热带丘陵茶园土壤水分供应的调控效果[J].水土保持学报,2005,19(6):97-101,125.

[72]Thorup-Kristensen K, Dresbøll D B, Kristensen H L. Crop yield, root growth, and nutrient in a conventional and three organic cropping systems with different levels of external inputs and N recycling through fertility building crops[J]. European Journal of Agronomy, 2012, 37(1):66-82.

[73]Dawe D, Dobermann A, Ladha J K, et al. Do organic amendments improve yield trends and profitability in intensive rice systems?[J]. Field Crops Research, 2003, 83(2):191-213.

[74]Yadav R L, Dwivedi B S, et al. Yield trends, and changes in soil organic C and available NPK in along-term rice-wheat system under integrated use of manures and fertilizers[J]. Field Crops Research, 2000, 68(3):219-246.

[75]Xie Z J, Tu S X, Shah F, et al. Substitution of fertilizer-N by green

manure improves the sustainability of yield in double-rice cropping system in South China[J]. Field Crops Research, 2016, 188:142-149.

[76]张久东,包兴国,王 婷,等.增施绿肥与降低氮肥对小麦产量和土壤肥力的影响[J].核农学报,2011,25(5):998-1003.

[77]杨 璐,曹卫东,白金顺,等.种植翻压二月兰配施化肥对春玉米养分吸收利用的影响[J].植物营养与肥料学报,2013,19(4):799-807.

[78]李子双,廉晓娟,王 薇,等.我国绿肥的研究进展[J].草业科学,2013,30(7):1135-1140.

[79]万水霞,朱宏斌,唐 杉,等.紫云英与化肥配施对安徽沿江双季稻区土壤生物学特性的影响[J].植物营养与肥料学报,2015,21(2):387-395.

[80]高菊生,曹卫东,李冬初,等.长期双季稻绿肥轮作对水稻产量及稻田土壤有机质的影响[J].生态学报,2011,31(16):4542-4548.

[81]李燕青,孙文彦,许建新,等.黄淮海地区绿肥与化肥配施对棉花生长和肥料利用率的影响[J].植物营养与肥料学报,2012,18(6):1397-1403.

[82]刘 国,王树林,沙富云,等.长期绿肥还田对烤烟产质量及土壤改良的影响[J].中国农学通报,2013,29(4):173-177.

菌体的安全性,本文综述了近年来相关安全性评价的研究结果,为日后更深入地开展噬菌体抗菌性研究奠定了理论基础。

1 噬菌体用作抗菌剂的安全性质疑

噬菌体本质上是一类细菌病毒^[5]。由于病毒一词常带有负面色彩,因此病毒用作抗菌剂应用于人体或是食品中,始终遭受部分学者质疑,甚至日后可能面临极大的公众阻力^[11]。这一状况堪比转基因食品。

无论噬菌体应用于人体、动物还是食品中,关于其安全性的质疑,主要集中在以下 4 个方面:(1)噬菌体是否会感染人体细胞;(2)噬菌体的使用是否会对人体产生毒理作用;(3)噬菌体的使用是否会破坏机体正常菌群;(4)噬菌体的使用是否会引发严重的内毒素血症。

诚然,若无法就上述问题进行有力的安全性论证,将对日后噬菌体治疗相关研究获取基金的资助与进一步开展造成极大障碍。近年来,许多研究者已就此开展研究,并获得了积极的结果。

2 噬菌体作抗菌剂使用的安全性评价研究

噬菌体无处不在,被认为是地球上最为丰富的物种,总量可达惊人的 10^{31} 个左右^[5]。另据 Weinbauer 估算,在地球水体环境中噬菌体密度可达 $10^4 \sim 10^8$ PFU/mL;在根际及土壤环境中密度约为 1.5×10^8 PFU/g^[12]。Bergh 等表明,在未受污染的水体中,噬菌体的密度约为 10^8 PFU/mL^[13]。

人体或动物体被这些巨量的细菌病毒包围,必然长期较大概率地与其反复接触。实际上,从健康人体、动物体和食品中,均易检测出噬菌体^[6-7,10,14]。显然,这些细菌病毒并未对人或动物造成危害。迄今为止,也未见任何有关噬菌体感染人体的报道^[6-7]。病毒通常具有严格的宿主特异性,因此,可以认为噬菌体不会感染人或动物细胞。

2.1 动物试验研究

尽管噬菌体被认为不会感染人或动物细胞,在临床使用前对噬菌体进行安全性评价仍尤为重要。近年来,已有大量相关动物试验被报道,受试对象包括小鼠^[15-27]、豚鼠^[15]、大鼠^[28]、家兔^[29]、鸡^[30-32]、猪^[33-34]、牛^[35-36]、羊^[37]等。结果均表明,噬菌体的使用,安全性较高。

但值得注意的是,药物的毒性效应与剂量和给药方式密切相关。在常用治疗剂量下,药物可能很少表现出毒性作用,但在高剂量下,却往往会产生一定的副作用甚至毒理作用。此外,胃肠外给药比局部给药或口服给药等更易导致药物毒理作用的发挥^[38]。因此,开展急性毒理试验尤为必要。Bogovazova 等以小鼠和豚鼠为受试对象,评价了噬菌体的急性毒理性,研究结果表明,受试对象经肌肉注射、腹腔注射和静脉注射等不同胃肠外给药后,并未出现任何不良反应^[15]。此外,即使将噬菌体剂量提高至常用治疗剂量的 3 500 倍,也未产生明显的毒理作用或引起任何组织学上的病变。Wang 等研究表明,在对小鼠腹腔急性攻毒高剂量的噬菌体后,未引起任何副作用或各脏器组织学上的病变^[16]。而其他许多研究,尽管未设置严格的急性毒性试验,仍表明噬菌体以高剂量胃肠外给药,不会产生毒理作用^[17-22,30]。

除剂量与给药方式外,用药时长也是关键因素。亚慢性

或慢性毒理试验,可用于检验噬菌体长期反复染毒机体后,可能产生的慢性毒理作用。据报道,Hwang 等让大鼠每日口服 10^8 PFU/mL 噬菌体,在连续进行 28 d 后发现,受试对象并未出现任何不良反应,大鼠采食量、饲料转化率、体质量和脏器指数均与对照组无显著差异^[28]。此外,研究者还表明,受试大鼠的肝、肾和脾未出现组织学上的病变;其血清中 12 种促炎细胞因子的水平均显示正常,机体未出现任何炎症征兆。而 Biswas 等在对小鼠腹腔长期反复接种高剂量(10^{10} PFU)的噬菌体后,受试对象未出现不良反应^[17]。Mai 等使小鼠连续 90 d 饮水口服噬菌体,结果表明受试对象心、肺、肝、肾、脾和胃未出现组织学上的病变,并且其血常规指标均正常^[26]。笔者所在课题组也曾对小鼠连续腹腔注射或长期灌胃噬菌体,未发现有任何副作用产生^[19,24]。

除毒理性外,一些药物的使用如抗生素,可能也会破坏机体微生态环境,由此常引发菌群失调或继发性感染。不过,一些学者表明,噬菌体的使用不会破坏受试动物肠道内的正常菌群。如 Mai 等让小鼠连续 90 d 饮水口服噬菌体,随后定期采集小鼠肠道内容物,并进行细菌群落结构差异的变性梯度凝胶电泳(简称 DGGE)分析,结果表明噬菌体的长期使用不会破坏小鼠肠道的微生态环境^[26]。笔者所在课题组所做研究也取得了相似结论^[19]。噬菌体不像其他广谱抗菌剂,它具有严格的宿主特异性。并且,治疗所用噬菌体,通常仅针对致病菌,而这些病原微生物一般不存在于健康者体内。应注意的是某些噬菌体具有宽宿主谱,其使用可能会影响正常菌群。不过,据 Chennoufi 等报道,在对小鼠长期灌胃宽宿主谱肠杆菌噬菌体后,小鼠肠道内大肠菌群并未受影响^[27]。这些大肠菌群尽管在体外均能被该噬菌体裂解,但在体内似乎能获得宿主某种生理机制的保护而不受噬菌体作用。

此外,某些药物因其免疫原性,常引发严重的变态反应,甚至引发变态反应性疾病。鉴于噬菌体是大分子物质,应高度重视。噬菌体(通常是它的衣壳蛋白)尽管具有免疫原性,但被证实免疫原性较弱,不会刺激机体产生严重的变态反应^[16-17,22-25]。如 Biswas 等报道,在对小鼠长期反复腹腔接种高剂量的噬菌体后,噬菌体诱导产生的免疫球蛋白 M (immunoglobulin M,简称 IgM)和免疫球蛋白 G (immunoglobulin G,简称 IgG)相对滴度较低,并且 IgG 高峰于多次免疫后的 74 d 才出现,表明其免疫原性较弱;在试验过程中,未观察到小鼠出现任何变态反应^[17]。

综上所述,噬菌体用于动物,甚至用于免疫功能不全的动物,具有较高的安全性^[21]。不过,上述研究大多以疗效评价为主要目的,即使涉及安全性验证,也缺少规范性与系统性,始终遭受部分学者的质疑。的确,近年来专门开展的安全评价研究较少,而系统性研究更是鲜有报道。上述研究尽管取得了乐观的结论,但并不利于客观理性地评价噬菌体的安全性。

实际上,仍有诸多问题亟待解决,如噬菌体是否会同其他许多药物一样,因代谢转化而引起副作用?尽管有报道称噬菌体即使被机体代谢(指被机体免疫系统吞噬、降解),也并未由此产生毒副物质^[6],但此类研究目前仍鲜有报道。另一个值得注意的方面是,用药者本身的体质状况如过敏体质、遗传异常等,可能会影响噬菌体的安全使用。目前,相关动物试验也鲜有报道。

2.2 人体临床试验研究

噬菌体自 1917 年被发现以来,在东欧地区尤其是在格鲁吉亚和波兰被尝试用于治疗人体各类细菌性感染^[7]。许多早期的临床研究均表明,噬菌体的使用未产生任何明显的副作用^[6]。不过,由于缺少随机对照试验,这些研究结果至今未被学界承认^[11]。

近年来,来自波兰免疫学及试验性治疗研究所的研究团队发表了大量有关噬菌体临床治疗的研究结果,其中包括在免疫功能不全患者身上开展的研究^[39-41]。结果均表明,噬菌体具有较高的临床安全性。而另一支团队所开展的临床研究,同样备受关注。该团队来自著名的 Eliava 研究所,该研究所位于格鲁吉亚首都第比利斯,曾是世界上最大的噬菌体治疗研究机构,创建人包括著名的噬菌体发现者 Felix d'Herelle^[42-43]。其研究结果同样表明,噬菌体用于人体,安全性较高。不过,上述研究同样缺乏随机对照试验。

近年来,一些设置随机对照试验的研究被报道:据 Bruttin 等报道,15 名健康自愿者在口服噬菌体 T₄ 后,未出现任何严重的临床反应,血清中谷丙转氨酶和天冬氨酸转氨酶水平均正常,体内未检测出抗噬菌体 IgG、IgM 免疫球蛋白 A (immunoglobulin A, 简称 IgA),肠道内大肠菌群未受到影响,体内的噬菌体未出现增殖迹象^[44]。另据 Sarkers 等报道,15 名健康自愿者在口服 T₄ 噬菌体后,未出现任何不良反应,肝功能指标、肾功能指标和血常规指标均显示正常,体内正常微生物区系未受到影响^[45]。而 Sarker 等于 2016 年再次报道,79 名小儿腹泻患者在接受噬菌体治疗时,未出现任何不良反应,肝功能、肾功能和血常规指标均显示正常^[46]。

上述试验再次论证了噬菌体的临床安全性。不过目前认为,对于任何拟用于临床的噬菌体制剂安全性评价研究,除设置必要的对照试验、随机化试验、盲法试验、志愿者试验等外,还应取得权威部门授权并接受严格监管,以保障客观性与公正性。据 Wright 等报道,一项经英国药监局和伦理委员会中央局授权与监督的 I 期/II 期临床试验被开展,以评价噬菌体制剂的安全性,结果表明 12 名患者在接受噬菌体治疗时,未出现任何不良反应^[47]。另据 Rhoads 等报道,一项经美国食品药品监督管理局 (food and drug administration, 简称 FDA) 授权与监管,并且由临床医师负责指导实施的 I 期临床试验表明,噬菌体的使用并未产生任何严重的副作用^[48]。值得注意的是,为保障噬菌体制剂的临床用药安全及稳定其质量,除进行必要的临床监测外,开展质量控制研究,亦尤为重要。Merabishvili 等对 Eliava 研究所生产的某种噬菌体制剂进行了稳定性、致热源性、细胞毒性和无菌性等检测,并对制剂中的噬菌体进行了透射电镜观察、基因组学分析和蛋白质组学分析,结果表明,该制剂中噬菌体均为专性裂解性噬菌体,且未携带任何毒力因子;该制剂稳定性较高,不含细菌毒素,亦未受微生物污染;在对家兔静脉接种该制剂后,未引起体温的明显升高 (+0.5 ℃);将该制剂与人体角质细胞共培养,噬菌体未表现出细胞毒性,人体角质细胞仍可正常增殖,且未出现病变^[49]。

综上所述,无论是东欧地区近百年来噬菌体临床治疗实践,还是欧美等国近年来开展的一系列安全性研究,均表明噬菌体具有较高的临床安全性。即使对于免疫功能不全患者,噬菌体的使用也未引起任何副作用^[41]。实际上,目前已

有许多商业化噬菌体制剂获得权威机构批准,并取得安全认证,如一种名为 Stafal 的制剂,已在捷克和斯洛文尼亚获批^[6]。这种制剂通过局部给药的方式,可用于去除皮肤感染或用于预防化脓性感染。其他如 Agriphage™、ListexP100、EcoShield™、SalmoFresh™、BioTector 等制剂,也已获得相关机构批准,可用于食品或动物饲料^[10]。值得注意的是由 Intralytix 公司开发的一种噬菌体制剂 ListShield™,该制剂早在 2006 年就已获 FDA 批准,并被授予一般公认安全 (generally recognized as safe, 简称 GRAS) 认证,这是近代第 1 款获得安全认证的噬菌体制剂^[50]。此后,该制剂又获得澳新食品标准局 (food standards australia & new zealand, 简称 FSANZ) 与欧盟相关机构的认证^[10]。这一系列里程碑式的事件,不仅推动了噬菌体治疗研究的发展,更有力地论证了噬菌体的安全性。目前,对于上述噬菌体制剂的应用,尚无任何有关安全性的负面报道,这再次证实了噬菌体的安全性。不过,为彻底消除学界的质疑,仍需更多细胞及分子水平的论据,而不仅仅是临床上的。

3 噬菌体与人或哺乳动物机体互作研究

为进一步探究噬菌体对机体可能产生的重要影响,也为获取更有力的安全性论据,许多学者就噬菌体与人或哺乳动物机体间的互作开展研究。目前,已有诸多积极的成果被相继报道。

3.1 内源性噬菌体及其可能的益生作用

噬菌体无处不在,据报道,噬菌体可从健康人体表皮、消化道、尿液、唾液及牙垢斑等处被检出^[6-7,14]。而另有研究表明,人体和哺乳动物体内本就存在着内源性噬菌体,其可能在机体病理学和生理学上发挥积极的作用^[14,51-52]。如 Górski 等表明,包括人在内的哺乳动物体内如口腔、肠道、唾液、尿液和血清中,均有内源性噬菌体存在^[51]。内源性噬菌体可能在抵御及清除病原菌上扮演着重要角色。此外,作者还暗示,这些内源性噬菌体可在肠道内发挥免疫抑制作用,这将有助于控制机体的局部炎症反应与自身免疫反应^[51]。而 Letarov 等研究表明,内源性噬菌体在调节机体微生态环境上发挥着重要作用^[52]。

这些研究不仅为噬菌体治疗提供了有力的安全性论据,更极大地颠覆了人类的认知。传统认为,人体或动物体尽管均是微生物聚居的天然场所,但细菌、真菌或原生动物才是其中的正常组成。不过近年来,随着宏基因组学的高速发展,许多难培养或不可培养的微生物在机体内被逐步揭示,这包括噬菌体。另有研究表明,有大量噬菌体正常栖息于机体后段肠道,尤其是长尾噬菌体 (*Siphoviruses*),这些细菌病毒,是机体正常微生物群落的重要组成^[14]。

以上发现可能将有助于消除学界或公众因噬菌体的病毒本质而产生的“畏惧”心理或“反感”情绪。目前,尽管仍难以将内源性噬菌体严格定义为机体内的益生性微生物,不过随着此类研究的深入开展,更多关于噬菌体本质的认知将被颠覆与更新。这可能与人类对细菌的认知过程发展有相似之处:从最早单纯地认为细菌皆为致病菌,到如今区分为致病菌、条件致病菌和益生菌。

3.2 噬菌体与人或哺乳动物细胞的互作研究

尽管噬菌体被认为不会感染哺乳动物细胞,但它仍可能

对某些细胞产生一些作用,如产生吸附作用。一些研究表明,噬菌体可聚集或黏附于癌细胞表面并影响细胞迁移^[53-56]。因此,这些研究认为噬菌体可能具有抗癌活性,如 Dabrowska 等报道,噬菌体可吸附并有效抑制小鼠肺部的黑素瘤细胞^[54]。此外,目前已揭示噬菌体 T₄ 对癌细胞的黏附可能与其所表达的 Hoc 蛋白和 gp24 蛋白密切相关。上述二者均为噬菌体衣壳的组成成分,Hoc 蛋白的缺失可能会增强噬菌体对癌细胞的吸附能力;而 gp24 蛋白的受体则可能为 $\beta 3$ 整合素——细胞表面一种介导细胞与其外环境相连接的跨膜受体^[54-56]。有趣的是,有关此类吸附作用的报道,研究对象几乎均为癌细胞,并且噬菌体对癌细胞的吸附作用似乎有益无害。此外,尽管 Wenger 等曾报道噬菌体可能会黏附于淋巴细胞的质膜表面,但噬菌体是否会对其他细胞产生吸附作用,目前仍鲜有报道^[53]。

除吸附作用外,许多研究表明噬菌体会对机体免疫系统产生作用,如刺激机体产生抗体。如前文所述,尽管噬菌体可诱导抗体的生成,但其免疫原性较弱,不会引发变态反应^[16-17,22-25,44]。并且,尽管经注射给药后噬菌体易刺激机体产生抗体,但口服给药通常不会^[23-24,44]。另外值得注意的是噬菌体是否会对细胞因子的分泌产生影响,细胞因子是一类主要由免疫细胞分泌的、具有广泛生物学活性的小分子蛋白,它对免疫调节、血细胞生成、细胞生长和组织损伤修复等具有重要功能。据 Przerwa 等报道,噬菌体 T₄ 在体外可对人体 T 细胞生成白细胞介素-2(IL-2)产生抑制作用,并且在一定程度上可抑制干扰素- γ (IFN- γ)的产生^[57]。Eriksson 等却研究表明,噬菌体 M13 在体外可诱导小鼠脾细胞分泌 IFN- γ 和 IL-12^[58-59]。不过,Korczak-Kowalska 等报道,在体外噬菌体 T₄ 不能诱导人体外周血单核细胞分泌 IL-6 和肿瘤坏死因子- α (简称 TNF- α)^[60]。而 Miernikiewicz 等研究表明,无论是在小鼠体内,还是在人体血细胞培养物中,噬菌体 T₄ 及其衣壳表面蛋白(gp23、gp24、Hoc、Soc)均不会影响炎症相关细胞因子(IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-6、IL-10、IL-12p40/p70、IFN- γ 、TNF- α 等)的分泌^[61]。

如上所述,尽管报道结果不一致,但相关学者均认为噬菌体不会对机体产生负面影响:不影响细胞因子的分泌,表明噬菌体不会感染细胞而引发炎症反应^[60-61];正常范围内抑制分泌,表明其可能具有免疫抑制作用,这反而有助于控制局部炎症反应^[57];而一定程度地促进分泌,则表明其可能具有抗肿瘤或抗病毒感染的潜力^[58-59]。不过,目前此类研究仍报道较少,尚须深入研究方可定论。

另值得关注的是,噬菌体对吞噬作用及活性氧簇(reactive oxygen species,简称 ROS)生成有一定的影响。吞噬作用是哺乳动物最基本的防御机制之一,也是非特异性免疫的重要组成。在一些体外试验中,既有报道表明噬菌体可增强吞噬作用,也有报道表明噬菌体可抑制吞噬作用^[62-63]。不过在健康小鼠体内,Przerwa 等研究表明噬菌体不会显著影响吞噬作用^[63]。

ROS 是需氧细胞在代谢过程中产生的一类自由基(如 O₂⁻·、·HO 等);当吞噬细胞受病原体或细菌内毒素刺激后,可过量分泌 ROS;而大量 ROS 的积累可能对正常细胞产生严重的毒害作用^[64]。无论是体外试验还是体内试验,许多研究

均表明噬菌体不会刺激吞噬细胞产生 ROS,并对此还具有抑制作用^[51,61,63,65-66]。一些研究还表明,噬菌体的使用有助于抑制吞噬细胞因细菌内毒素刺激而产生过量的 ROS^[51,63,66]。这一发现可能暗示,在噬菌体治疗过程中,尽管因细菌的裂解通常导致大量脂多糖(lipopolysaccharide,简称 LPS)的释放,由此可能引发严重的内毒素血症,但某些以 LPS 为受体的噬菌体,其新生子代可在细菌被裂解的同时有效吸附这些被释放入血液中的内毒素,最终抑制内毒素对免疫细胞的刺激并减轻 LPS 对机体的毒害。

有关此类互作机制的研究目前仍报道较少。但上述研究仍从细胞或分子水平表明噬菌体对人或哺乳动物某些细胞无毒理作用,并且未影响免疫细胞正常功能的发挥。不过,许多研究表明,噬菌体在机体内具有较强的扩散能力,经多种方式给药后噬菌体都能高浓度分布于各脏器或组织内,如口服给药后噬菌体可通过肠道进入血液循环,注射给药后甚至可穿越血脑屏障^[6-7]。这意味着机体内所有细胞都可能与噬菌体接触。因此,不仅仅是免疫细胞,噬菌体对其他细胞可能产生的作用,都应被深入研究。

4 结论

近年来,临床上相关致病菌的抗生素耐药性问题已日趋严重^[1-2]。加之免疫功能不全患者数量的逐年增长,这些耐药性菌株已对现代医疗界构成了极大威胁^[1]。而在畜牧兽医与食品工业领域,亦面临相同的形势^[3-4]。此外,因较低的投资回报率,近年来许多制药公司也缩减了研发新型抗生素的预算^[1,6]。这意味着研发一种经济、有效的抗生素替代物,以及研发能有效针对食品高危致病菌性污染的抗菌剂尤为迫切。

尽管噬菌体作抗生素替代物或食品抗菌剂使用具有诸多优势,但由于其病毒本质,安全性始终遭受部分学者的质疑。即使相关制剂已获批使用,但也可能面临极大的公众阻力。这对噬菌体治疗相关研究获取基金资助与进一步发展极为不利。

通过上述研究,笔者发现无论是经动物试验,还是经人体临床试验,噬菌体的使用均被证实不会产生副作用,包括一些毒理学试验也表明噬菌体对机体无急性或慢性毒理作用。而一些受权威机构监督的自愿者试验同样表明了噬菌体较高的临床安全性。实际上,已有一些噬菌体制剂获得权威机构的安全性认证,并且目前尚无任何有关其安全性的负面报道,这些均为噬菌体提供了有力的安全性论据。近年来,尽管关于噬菌体与人或哺乳动物机体互作研究的报道较少,但现有研究均表明噬菌体不会危害人或动物细胞。并且,随着内源性噬菌体及其益生作用逐渐被揭示,关于噬菌体本质的认知,可能会被颠覆与更新,学界与公众亦可能逐渐抛去偏见而更理性地评价其安全性。

综上所述,噬菌体被认为不会感染人体细胞,它们作抗菌剂使用不会产生明显的副作用和毒理作用,且不会破坏机体的正常菌群、引发严重的内毒素血症。将其开发为抗生素替代物应用于医学或兽医学领域,或开发为食品抗菌剂应用于食品工业,前景光明。不过,仍有必要深入开展更为系统的安全性评价研究,从而更多地从细胞或分子水平上探讨噬菌体

对人体细胞可能产生的影响。

参考文献:

- [1] Fauci A S, Marston H D. The perpetual challenge of antimicrobial resistance[J]. The Journal of the American Medical Association, 2014, 331(18): 1853 – 1854.
- [2] Rosso J Q, Zeichner J A. The clinical relevance of antibiotic resistance: thirteen principles that every dermatologist needs to consider when prescribing antibiotic therapy [J]. Dermatologic Clinics, 2016, 34(2): 167 – 173.
- [3] Martin M J, Thottahil S E, Newman T B. Antibiotics overuse in animal agriculture: a call to action for health care providers[J]. American Journal of Public Health, 2015, 105(12): 2409 – 2410.
- [4] Ammar A M, Attia A M, El – Aziz N K A, et al. Class I integron and associated gene cassettes mediating multiple – drug resistance in some food borne pathogens [J]. International Food Research Journal, 2016, 23(1): 332 – 339.
- [5] Clokier M R J, Millard A D, Letarov A V, et al. Phages in nature[J]. Bacteriophage, 2011, 1(1): 31 – 45.
- [6] Boryowski J, Miedzybrodzki R, Gorski A. Phage therapy: current research and applications [M]. Norfolk: Caister Academic Press, 2014: 159 – 187.
- [7] Kutter E M, Gvasalia G, Alavidze Z, et al. Biotherapy – history, principles and practice. chapter 8: phage therapy [M]. Berlin: Springer Netherlands, 2013: 191 – 231.
- [8] Kutter E, de Vos D, Gvasalia G, et al. Phage therapy in clinical practice: treatment of human infections[J]. Current Pharmaceutical Biotechnology, 2010, 11(1): 69 – 86.
- [9] Tiwari R, Dhama K, Kumar A, et al. Bacteriophage therapy for safeguarding animal and human health: a review [J]. Pakistan Journal of Biological Sciences, 2014, 17(3): 301 – 315.
- [10] Endersen L, O'Mahony J, Hill C, et al. Phage therapy in the food industry [J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2014, 5(1): 327 – 349.
- [11] Brüssow H. What is needed for phage therapy to become a reality in western medicine? [J]. Virology, 2012, 434(2): 138 – 142.
- [12] Weinbauer M G. Ecology of prokaryotic viruses [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2004, 28(2): 127 – 181.
- [13] Bergh Ø, Børshiem K Y, Bratbak G, et al. High abundance of viruses found in aquatic environments [J]. Nature, 1989, 340(6233): 467 – 468.
- [14] Hyman P, Abedon S T. Bacteriophages in health and disease[M]. Oxfordshire: CABI Publishing, 2012.
- [15] Bogovazova G, Voroshilova N N, Bondarenko V M. The efficacy of *Klebsiella pneumoniae* bacteriophage in the therapy of experimental *Klebsiella* infection[J]. Journal of Microbiology, Epidemiology, and Immunobiology, 1991(4): 5 – 8.
- [16] Wang J, Hu B, Xu M C, et al. Use of bacteriophages in the treatment of experimental animal bacteremia from imipenem – resistant *Pseudomonas aeruginosa* [J]. International Journal of Molecular Medicine, 2006, 17(2): 309 – 317.
- [17] Biswas B, Adhya S, Washart P, et al. Bacteriophage therapy rescues mice bacteremia from a clinical isolate of vancomycin – resistant *Enterococcus faecium* [J]. Infection and Immunity, 2002, 70(1): 204 – 210.
- [18] Oduor J M O, Onkoba W N, Maloba F, et al. Safety and therapeutic efficacy of staphylococcus aureus specific lytic phage against multidrug – resistant *S. aureus* (MDRSA) in BALB/c mice: a prospective study[J]. International Journal of Infectious Diseases, 2016, 45: 108.
- [19] 韩 晗. 产肠毒素性大肠杆菌噬菌体 PK88 – 4 的分离及其抗菌效果与安全性的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.
- [20] Tóthová L, Celec P, Bábířková J, et al. Phage therapy of Cronobacter – induced urinary tract infection in mice[J]. Medical Science Monitor International Medical Journal of Experimental & Clinical Research, 2011, 17(7): 173 – 178.
- [21] Sunagar R, Patil S A, Chandrakanth R K. Bacteriophage therapy for *Staphylococcus aureus* bacteremia in streptozotocin – induced diabetic mice[J]. Research in Microbiology, 2010, 161(10): 854 – 860.
- [22] Capparelli R, Nocerino N, Iannaccone M, et al. Bacteriophage therapy of *Salmonella enterica*: a fresh appraisal of bacteriophage therapy[J]. Journal of Infectious Diseases, 2010, 201(1): 52 – 61.
- [23] Majewska J, Beta W, Lecion D, et al. Oral application of T₄ phage induces weak antibody production in the gut and in the blood[J]. Viruses, 2015, 7(8): 4783 – 4799.
- [24] 张 辉, 王 冉, 包红朵. 李斯特菌噬菌体体内消长规律及其免疫特性分析[J]. 食品科学, 2012, 33(21): 169 – 172.
- [25] 张红梅, 梁 梅, 刘 平, 等. 噬菌体的免疫原性及安全性评价 [J]. 世界科技研究与发展, 2012, 34(4): 692 – 695.
- [26] Mai V, Ukhanova M, Visone L, et al. Bacteriophage administration reduces the concentration of *Listeria monocytogenes* in the gastrointestinal tract and its translocation to spleen and liver in experimentally infected mice [J]. International Journal of Microbiology, 2010: 624234.
- [27] Chennoufi S, Sidoti J, Bruttin A. *In vitro* and *in vivo* bacteriolytic activities of *Escherichia coli* phages: implications for phage therapy [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2004, 48(7): 2558 – 2569.
- [28] Hwang J Y, Kim J E, Song Y J, et al. Safety of using *Escherichia coli* bacteriophages as a sanitizing agent based on inflammatory responses in rats[J]. Food Science and Biotechnology, 2016, 25(1): 355 – 360.
- [29] Jaiswal A, Koley H, Ghosh A, et al. Efficacy of cocktail phage therapy in treating *Vibrio cholerae* infection in rabbit model [J]. Microbes and Infection, 2013, 15(2): 152 – 156.
- [30] Oliveira A, Sereno R, Nicolau A, et al. *In vivo* toxicity study of phage lysate in chickens[J]. British Poultry Science, 2009, 50(5): 558 – 563.
- [31] Carvalho C M, Gannon B W, Halfhide D E, et al. The *in vivo* efficacy of two administration routes of a phage cocktail to reduce numbers of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* in chickens[J]. BMC Microbiology, 2010, 10(1): 1 – 11.
- [32] Hammerl J A, Jäckel C, Alter T, et al. Reduction of *Campylobacter jejuni* in broiler chicken by successive application of group II and group III phages[J]. PLoS One, 2014, 9(12): e114785.
- [33] Wall S K, Zhang J Y, Rostagno M H, et al. Phage therapy to reduce pre-processing *Salmonella* infections in market – weight Swine[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(1): 48 – 53.
- [34] Callaway T R, Edrington T S, Brabban A, et al. Evaluation of phage treatment as a strategy to reduce *Salmonella populations* in growing

- swine[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2010, 8(2): 261 – 266.
- [35] Bicalho M L S, Machado V S, Nydam D V, et al. Evaluation of oral administration of bacteriophages to neonatal calves: phage survival and impact on fecal *Escherichia coli* [J]. Livestock Science, 2012, 144(3): 294 – 299.
- [36] Rozema E A, Stephens T P, Bach S J, et al. Oral and rectal administration of bacteriophages for control of *Escherichia coli* O157: H7 in feedlot Cattle [J]. Journal of Food Protection, 2009, 72(2): 241 – 250.
- [37] Bbtech A D, Morale S, Boase S, et al. Safety and efficacy of topical bacteriophage and ethylenediaminetetraacetic acid treatment of *Staphylococcus aureus* infection in a sheep model of sinusitis [J]. International Forum of Allergy and Rhinology, 2014, 4(3): 176 – 186.
- [38] 张 波. 静脉给药的安全性 [J]. 医学信息旬刊, 2010, 5(9): 2454 – 2455.
- [39] Weber – Dałbrowska B, Mulczyk M, Górski A. Bacteriophage therapy of bacterial infections: an update of our institute's experience [J]. Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis, 2000, 48(6): 547 – 551.
- [40] Międzybrodzki R, Borysowski J, Weber – Dałbrowska B, et al. Clinical aspects of phage therapy [J]. Advances in Virus Research, 2012, 83: 73 – 121.
- [41] Borysowski J, Gorski A. Is phage therapy acceptable in the immunocompromised host? [J]. International Journal of Infectious Diseases, 2008, 12(5): 466 – 471.
- [42] Chanishvili N. A literature review of the practical application of bacteriophage research [M]. New York: Nova Science Publishers, 2011: 1 – 292.
- [43] Chanishvili N. Phage therapy – history from Twort and d'Herelle through Soviet experience to current approaches [J]. Advances in Virus Research, 2012, 83: 3 – 40.
- [44] Bruttin A, Brussow H. Human volunteers receiving *Escherichia coli* phage T₄ orally: a safety test of phage therapy [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2005, 49(7): 2874 – 2878.
- [45] Sarker S A, McCallin S, Barretto C, et al. Oral T₄ – like phage cocktail application to healthy adult volunteers from Bangladesh [J]. Virology, 2012, 434(2): 222 – 232.
- [46] Sarker S A, Sultana S, Reuteler G, et al. Oral phage therapy of acute bacterial diarrhea with two coliphage preparations: a randomized trial in children from Bangladesh [J]. EBioMedicine, 2016, 4: 124 – 137.
- [47] Wright A, Hawkins C H, Ånggård E E, et al. A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic – resistant *Pseudomonas aeruginosa*; a preliminary report of efficacy [J]. Clinical Otolaryngology, 2009, 34(4): 349 – 357.
- [48] Rhoads D D, Wolcott R D, Kuskowski M A, et al. Bacteriophage therapy of venous leg ulcers in humans: results of a phase I safety trial [J]. Journal of Wound Care, 2009, 18(6): 237 – 243.
- [49] Merabishvili M, Pirnay J P, Verbeken G, et al. Quality – controlled small – scale production of a well – defined bacteriophage cocktail for use in human clinical trials [J]. PLoS One, 2009, 4(3): e4944.
- [50] Lang L H. FDA approves use of bacteriophages to be added to meat and poultry products [J]. Gastroenterology, 2006, 131(5): 820 – 821.
- [51] Górski A, Weber – Dałbrowska B. The potential role of endogenous bacteriophages in controlling invading pathogens [J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2005, 62(5): 511 – 519.
- [52] Letarov A, Kulikov E. The bacteriophages in human – and animal body – associated microbial communities [J]. Journal of Applied Microbiology, 2009, 107(1): 1 – 13.
- [53] Wenger S L, Turner J H, Petricciani J C. The cytogenetic, proliferative and viability effects of four bacteriophages on human lymphocytes [J]. Vitro, 1978, 14(6): 543 – 549.
- [54] Dałbrowska K, Opolski A, Wietrzyk J, et al. Antitumor activity of bacteriophages in murine experimental cancer models caused possibly by inhibition of beta3 integrin signaling pathway [J]. Acta Virologica, 2004, 48(4): 241 – 248.
- [55] Dałbrowska K, Zembala M, Boratynski J, et al. Hoc protein regulates the biological effects of T₄ phage in mammals [J]. Archives of Microbiology, 2007, 187(6): 489 – 498.
- [56] Dałbrowska K, Skaradzinski G, Jończyk P, et al. The effect of bacteriophages T₄ and HAP1 on *in vitro* melanoma migration [J]. BMC Microbiology, 2009, 9(13): 1 – 9.
- [57] Przerwa A, Kniotek M, Nowaczky M, et al. Bacteriophages inhibit IL – 2 production by human T lymphocytes [C]. Abstracts of the 12th Congress of European Society of Organ Transplantation. Geneva: the 12th Congress of European Society of Organ Transplantation, 2005: 16 – 20.
- [58] Eriksson F, Culp W D, Massey R, et al. Tumor specific phage particles promote tumor regression in a mouse melanoma model [J]. Cancer Immunology and Immunotherapy, 2007, 56(5): 677 – 687.
- [59] Eriksson F, Tsagozis P, Lundberg K, et al. Tumor – specific bacteriophages induce tumor destruction through activation of tumor – associated macrophages [J]. Journal of Immunology, 2009, 182(5): 3105 – 3111.
- [60] Korczak – Kowalska, Wierzbicki G, Borysowski P, et al. T₄ phage preparations do not induce the production of IL – 6 and TNF – α in human monocytes *in vitro* [C]. Proceedings of Viruses of Microbes Conference. Paris: Viruses of Microbes Conference, 2010: 21 – 25.
- [61] Miernikiewicz P, Dałbrowska K, Piotrowicz A, et al. T₄ phage and its head surface proteins do not stimulate inflammatory mediator production [J]. PLoS One, 2013, 8(8): e71036.
- [62] D'Herelle F. The bacteriophage, its role in immunity [M]. Baltimore: William and Wilkins Publishing, 1922: 125.
- [63] Przerwa A, Zimecki M, Świtańa – Jeleń K, et al. Effects of bacteriophages on free radical production and phagocytic functions [J]. Medical Microbiology and Immunology, 2006, 195(3): 143 – 150.
- [64] 黄雷招. 活性氧簇及其介导的自噬 [J]. 医学综述, 2012, 18(19): 3160 – 3163.
- [65] Borysowski J, Wierzbicki P, Kłosowska D, et al. The effects of T₄ and A3/R phage preparations on whole – blood monocyte and neutrophil respiratory burst [J]. Viral Immunology, 2010, 23(5): 541 – 544.
- [66] Międzybrodzki R, Switala – Jelen K, Fortuna W, et al. Bacteriophage preparation inhibition of reactive oxygen species generation by endotoxin – stimulated polymorphonuclear leukocytes [J]. Virus Research, 2008, 131(2): 233 – 242.