

王 冉,张莉莉,何 涛,等.噬菌体治疗中的免疫问题探讨[J].江苏农业科学,2019,47(16):1-5.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.16.001

噬菌体治疗中的免疫问题探讨

王 冉^{1,2},张莉莉²,何 涛²,庞茂达²,周 艳²

(1.南京农业大学动物科技学院,江苏南京 210095;2.江苏省农业科学院,江苏南京 210014)

摘要:随着抗生素耐药性的快速增长,噬菌体治疗被日益重视和关注,越来越多的科学家和医生开始尝试用噬菌体治疗超级细菌感染。越来越多的噬菌体用于控制动物和人的细菌感染,但对在噬菌体治疗中,噬菌体本身就是免疫原性微生物,作为外源物质进入人或动物机体后,免疫系统是如何反应的仍不清楚,本文拟对噬菌体治疗中涉及的免疫问题进行探讨,进一步阐明噬菌体治疗过程中,噬菌体与免疫系统发生的生理作用、与吞噬细胞之间的互作、噬菌体引起的体液免疫和细胞免疫反应、中和抗体对噬菌体的清除及对噬菌体治疗成效的影响。

关键词:噬菌体治疗;吞噬细胞;体液免疫;细胞免疫;免疫调节

中图分类号: S182;S852.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)16-0001-05

噬菌体是一类细菌病毒的总称,广泛存在于自然界土壤、水、空气、动物和人体的各个器官,数量是生物圈中细菌的约 100 倍,调控着生物圈中细菌群体的数量。因其能天然裂解细菌,被称为细菌的天敌,被作为天然杀菌药物进行开发,并发明了噬菌体疗法,即用噬菌体治疗动物或人的细菌感染,又称噬菌体治疗。噬菌体自发现以来就被证明在控制动物及人体细菌感染以及食品中细菌污染方面发挥了积极作用。2017 年美国用噬菌体成功治愈了一位病人超级耐药菌——绿脓杆菌感染,美国 FDA 在 2006 年批准李斯特噬菌体混合物用于禽肉和芝士防止细菌污染。但在噬菌体治疗过程中噬菌体与动物和人的免疫系统如何作用一直不清楚。

噬菌体治疗主要发生在动物和人体,动物和人体经过长期进化,都有一套完善的自我保护功能的免疫系统,噬菌体作为外源物质进入机体后,会启动机体免疫防护功能^[1-2]。研究噬菌体与免疫系统以及免疫细胞的相互作用对合理设计噬菌体治疗有重要意义。

本文介绍噬菌体治疗过程中与机体免疫系统的相互作用,同时,还讨论这些相互作用对噬菌体治疗的影响。

1 噬菌体治疗过程与机体免疫系统的生理作用

1.1 噬菌体参与机体的过程

噬菌体治疗是将噬菌体作为一种药物用于机体,以对抗细菌的感染。噬菌体治疗的过程涉及与机体接触如噬菌体给药、体内吸收、分布、生物转化(或称代谢)、衰亡及排泄的过程,这里的机体包括正常组织、正常菌群和致病细菌。

噬菌体与机体接触依赖于噬菌体给药,给药途径包括口服、吸入、静脉注射、肌肉注射、外用(涂抹)、局部给药等。除

局部给药外,其他几种给药方式,噬菌体都可以进入到血液循环系统,被认为是系统给药或全身给药方式。噬菌体进入机体后,通过循环系统运输、渗透、易位等途径由循环系统运输到其他组织或从某一组织运输到另一组织,到达靶部位,在不同器官分布。噬菌体很容易通过肠道屏障和黏膜屏障被吸收,并在体内发生生物转化(自我复制和衰亡)。噬菌体在机体内与各类物质和细胞发生相互作用,或增加或减少或衰亡,都称为噬菌体在体内的代谢,也包括细菌或机体免疫系统作用于噬菌体引起的噬菌体衰亡^[1]。血液中噬菌体数量的减少也可能是渗透的结果,渗透是指噬菌体运动至局部感染组织或靶细菌上,它与血液中噬菌体的数量相关。

网状内皮系统(主要位于脾和肝)可以识别噬菌体上的蛋白从而将其从循环系统中清除。通过将噬菌体上的蛋白突变,可以使其不被网状内皮系统识别,而这种突变体很容易通过选择和富集在体循环中存时较长的噬菌体得到。这种噬菌体应用的优势就是可以延长体内峰浓度的时间。

1.2 噬菌体与机体免疫系统的生理作用

噬菌体生活在它们的猎物生活的地方(细菌存在的地方),它们构成了哺乳动物生理微生物群的一部分。在人体肠道中,双链 DNA 和单链 DNA 噬菌体感染硬杆菌、类杆菌、变形杆菌和放线菌,而 RNA 噬菌体被认为是与食物一起摄入的,并且只是短暂存在^[3-5]。噬菌体可以黏附在不同动物的黏膜表面,减少这些界面的微生物定殖和病理学,同时提供非宿主源性免疫层^[6]。有研究表明,裂解噬菌体可调节微生物群的组成,并支持其多样性。噬菌体与宿主固有免疫细胞和上皮细胞的相互作用、细胞因子和噬菌体中和抗体可能反过来控制噬菌体组成^[4]。噬菌体进入机体,经过机体处理并由抗原递呈细胞(APCs)呈现给 T 细胞,启动噬菌体中和抗体的产生并产生持久的记忆反应。因此,了解噬菌体如何绕过上皮屏障到达通常无菌的淋巴器官非常重要。研究发现,啮齿类动物接受噬菌体不同给药途径(如口服、鼻内和静脉注射)后,首先在血液中发现噬菌体,并在肾脏、脾脏、肝脏和胸腺中积聚^[7]。

亲代给药的噬菌体快速分布到脾脏和其他器官,在这些

收稿日期:2019-06-10

基金项目:国家重点研发计划(编号:2018YFD0501403);江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(2019)2014]。

作者简介:王 冉(1973—),女,河北辛集人,博士,研究员,主要从事畜产品安全及细菌性污染防控研究。E-mail: ranwang@jaas.ac.cn。

器官中,噬菌体可存活超 4 d^[8]。口服给药后,在血液和尿液样本中检测到噬菌体^[8]。噬菌体穿透黏膜屏障的机制尚不清楚。目前有几种假设:(1)噬菌体颗粒通过上皮细胞的转录;(2)噬菌体隐藏在细菌内通过特洛伊木马机制绕过上皮屏障;(3)通过肠树突细胞直接摄取管腔内容物;(4)易位,噬菌体通过受损的上皮屏障进入^[8-9]。最后一种似乎最具说服力,有研究发现,在健康动物血液和组织中,肠道屏障完好,很难看到噬菌体易位和噬菌体血症现象。但大剂量使用噬菌体或抗生素可能导致易感细菌死亡、连续释放内毒素,引发炎症,最终导致肠屏障受损。目前,负责易位的受体尚不清楚^[7-9],需要更多地研究噬菌体黏附黏蛋白对于上皮易位的意义。

2 噬菌体-吞噬细胞之间的相互作用

吞噬细胞的活性是免疫反应的基本功能之一。研究噬菌体与主要吞噬细胞群的相互作用,发现噬菌体不仅能直接杀菌,还可通过激活吞噬细胞来消除体内细菌。先天性免疫细胞的主要功能是识别和清除外来物质,并在适当和必要时对其进行适应性免疫反应。中性粒细胞和粒细胞是先天免疫的重要组成部分,是抵抗细菌和病毒侵入组织的前线防御。

20 世纪 60 年代,人们已经认识到白细胞不仅能够以时间、浓度和温度依赖的方式结合噬菌体,而且能够内化并最终消除噬菌体。特异性受体是否参与噬菌体内吞作用尚不清楚,但 B3 整合素对 T4 噬菌体 p26 衣壳蛋白中赖氨酸-甘氨酸-天冬氨酸基序的识别可能与吞噬细胞中的 $\beta 1$ 整合素有关。这个过程显示促进噬菌体进入巨噬细胞和巨噬细胞活化的不同细胞机制。

巨噬细胞激活会产生一系列杀微生物效应物和免疫调节细胞因子,它们协同作战以消除入侵菌并影响免疫反应过程^[10]。吞噬细胞参加了器官(特别是肝脏)中噬菌体的快速清除,肝脏中的噬菌体滴度迅速下降,常驻肝的吞噬细胞——鼠 Kupffer 细胞——是清除噬菌体的主要细胞。脾脏中脾巨噬细胞也参与噬菌体的清除,但清除速度比 Kupffer 细胞慢 80%,所以脾脏中常有较高滴度的噬菌体^[11]。

其实,噬菌体被清除过程也是抗体呈现和启动主动免疫反应的先决条件。因此,可以考虑在噬菌体治疗中进行改进,如选择具有天然抗清除能力的噬菌体,或设计重组噬菌体来减少被清除,或可以避免或延迟噬菌体特异性适应性免疫反应的诱导,并延长具有免疫能力的噬菌体在体内的停留时间。

2.1 噬菌体对吞噬细胞吞噬功能的影响

D'Herelle 第一个报告了噬菌体对吞噬功能的影响。他研究了志贺氏噬菌体对豚鼠“白细胞”吞噬志贺氏菌的作用。细菌、噬菌体和白细胞共培养 10 min 后,细胞的吞噬指数比对照组(无噬菌体的细菌培养细胞)显著增加。同时发现,细菌对噬菌体的抗性发展与其对吞噬作用的抗性发展有关。D'Herelle 认为,噬菌体能显著促进对细菌的吞噬作用,这种作用由噬菌体制剂中的可溶性因子介导^[3]。

但 Kan-Toch 等发现 T2 噬菌体可降低马白细胞吞噬不同物种细菌的能力,包括金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和结核分枝杆菌,且这种作用被发现是剂量依赖性的噬菌体^[12];但发现, T5 噬菌体不影响豚鼠粒细胞对大肠杆菌的吞噬作用。吸附

在细菌上的噬菌体被吞噬细胞吞噬后仍可能保持生物活性。

噬菌体治疗加速了中性粒细胞的转化,表现为未成熟形式粒细胞的数量增加,同时成熟细胞的数量减少。

2.2 噬菌体对吞噬细胞呼吸爆发的影响

呼吸爆发是微生物吞噬过程中活性氧(ROS)快速增加的现象。一方面,呼吸爆发是先天免疫的重要组成部分,使吞噬细胞能够消灭微生物。另一方面,ROS 的过量产生可能导致细胞内氧化应激的诱导。病原菌和病毒均可在感染过程中诱导宿主细胞氧化应激^[13]。因此,研究噬菌体对 ROS 产生的影响对于验证噬菌体治疗的安全性至关重要。

第一个评估噬菌体对 ROS 生成影响的研究表明,纯化 T4 噬菌体制剂在体外单核细胞和中性粒细胞中均能诱导非常弱的呼吸爆发^[14]。此外,噬菌体在与细菌预培养时以剂量依赖的方式减少大肠杆菌诱导的呼吸爆发,当噬菌体滴度较高($10^9 \sim 10^{10}$ PFU/mL)时效果显著。也有研究表明,噬菌体制剂均未在体外诱导单核细胞或中性粒细胞中产生明显的呼吸爆发。

2.3 噬菌体对吞噬细胞其他功能的影响

噬菌体对吞噬细胞迁移、细胞内细菌杀灭和 Toll 样受体(TLRs)表达的影响研究发现,大多数噬菌体制剂在体外对人粒细胞和单核细胞的迁移没有影响^[15-16]。此外,噬菌体制剂不影响这些细胞对细胞内细菌的杀灭。

Toll 样受体是吞噬细胞受体中最重要的一类,参与先天免疫反应,包括炎症反应^[16-17]。TLR 介导的单核细胞或巨噬细胞被致病菌和病毒激活,导致促炎细胞因子、ROS 和一氧化氮的产生增加。TLR4 和 TLR2 受体的天然配体是 LPS。研究表明,纯化制备 T4 没有影响 TLR2 和 TLR4 的表达,但 T4 溶菌产物略微增加 CD14 和 TLR4 的表达。这些发现对噬菌体治疗很重要,因为它们表明噬菌体制剂不太可能在 TLR 依赖的机制中发挥促炎活性。

3 噬菌体引发的适应性免疫反应

噬菌体作为一个具有免疫原性的微生物,可以引发适应性免疫,最早的证据可追溯到噬菌体(如 Φ X174 和 T4 样噬菌体)主动免疫的研究^[18]。

肠杆菌噬菌体 Φ X174。 Φ X174 含有 1 个小的圆形单链 DNA 基因组,病毒颗粒对革兰氏阴性病原体外膜上的脂多糖有特异性。专家用 Φ X174^[19-20] 免疫豚鼠和兔子的试验中,发现启动和增强了体液免疫反应,发现了噬菌体特异性短寿命抗体 IgM(19 s)和记忆反应(IgG/7 s)的存在和较长的半衰期。这种噬菌体诱导产生中和抗体反应呈剂量依赖性。

T2 和 T4 样噬菌体。T2 和 T4 噬菌体有双链 DNA 基因组和溶解肠道细菌功能。T2 噬菌体的抗体:在大鼠和兔血清中发现抗 T2-IgM 和 IgG 与噬菌体头部和尾部的结合。81% 的受试人血清中检测到抗 T4 样噬菌体抗体。对几种噬菌体头部蛋白进行免疫组化,发现有中和活性。小鼠体内试验发现,免疫诱导产生的高效价抗体对 T4 具有中和活性。

大量文献表明,热灭活的噬菌体失去了它们的免疫刺激能力,而紫外线照射保持了活噬菌体制剂引起的免疫原性(如噬菌体诱导的抗体反应)^[21]。巨噬细胞与 T2 噬菌体共培养过程中,一种 RNase 敏感物质能够刺激抗体合成。噬菌体

衍生的 RNA 能诱导产生干扰素^[22],噬菌体衍生的 RNA 可以直接促进 B 细胞的活化和噬菌体中和抗体的合成。

噬菌体刺激诱导 B 细胞反应需要的成分有^[23-24]:(1)免疫原性噬菌体蛋白,通过 BCR 实现特异性识别;(2)激活 B 细胞共刺激 TLR 的配体(例如核酸),例如源自(活的) PHA 的 RNA,GES(危险信号);(3)APC 介导的辅助 T 细胞活化。从理论上讲,可以通过预先选择免疫刺激性低的噬菌体来避免适应性免疫应答,而提高噬菌体治疗效果。

3.1 噬菌体引起的体液免疫

抗病毒抗体是抗病毒免疫应答的主要组成部分之一。在致病病毒入侵时,这些抗体表现出 4 种活性:病毒中和、抗体依赖性细胞毒性、抗体依赖性细胞介导的病毒抑制和吞噬作用^[25-26]。在大多数噬菌体免疫研究中检测到的抗体是中和抗体。噬菌体治疗中,中和抗体通过结合噬菌体尾部来抑制细菌感染^[27]。但要说明的是,噬菌体与抗体结合并不意味着噬菌体的失活。抗噬菌体的中和抗体被认为是影响噬菌体治疗效果的最重要因素之一。有研究发现,这些中和抗体可能会降低噬菌体的治疗效果。首先,未免疫的人和动物的血清实际上具有低水平的噬菌体抗体(所谓的“天然抗体”)。即在噬菌体给药前,某些个体的血清中就存在噬菌体中和抗体,这是因为我们周围的环境、食品和正常微生物群中都存在大量的噬菌体,人类和动物对噬菌体抗原的持续自然“免疫”。第二,对动物进行噬菌体系统性给药后,会产生高效价中和抗体。第三,在缺乏 B 细胞的小鼠中,噬菌体从小鼠血液中清除的速度比野生型小鼠要慢一些^[28]。这些数据表明,中和抗体确实会大大降低噬菌体治疗的效果,但噬菌体引起的体液免疫反应的强度因噬菌体类型而异;一些噬菌体是非常弱的免疫原,需要反复注射,并辅以佐剂以诱导才检测到抗体滴度。对噬菌体的抗体反应似乎也依赖于患者最初的反应,可分为“反应”组和“无反应”组^[29]。

研究噬菌体产生的抗体时,应考虑到噬菌体颗粒本身刺激产生中和抗体,噬菌体制剂中存在的细菌细胞的某些组分如脂多糖(LPS)也会刺激产生中和抗体。因此,在设计(解释)噬菌体中和抗体的研究和噬菌体治疗时,需要考虑噬菌体制剂中脂多糖污染的情况。

3.2 噬菌体引起的细胞免疫

噬菌体治疗给药也会引起某种形式的细胞免疫。有关噬菌体引起的细胞免疫数据与噬菌体引起的体液免疫相比是很少的。有一篇报告明确指出,给药噬菌体可以在体外和体内引起实质性细胞反应。这项研究中,Langbeheim 等研究了豚鼠对 MS-2 噬菌体和噬菌体外壳蛋白结合物的反应^[27]。动物被抗原致敏,体内致敏通过皮内注射试验抗原进行评价,导致局部红斑和硬结。通过测量淋巴结细胞对试验抗原的增殖反应来确定体外细胞致敏。所有动物体内对注射的噬菌体都有强烈的反应。整个噬菌体颗粒比结合物诱导的敏化更强。用噬菌体致敏的动物淋巴细胞对病毒有强烈的反应,但对结合物没有反应。也有人发现,T 细胞在体内对噬菌体的灭活作用不明显。

T 细胞在病毒感染反应中起着重要作用,病毒特异性 CD₈⁺ T 细胞和 CD₄⁺ T 细胞都参与了在这种感染过程中触发的适应性免疫^[28]。

4 噬菌体蛋白引起的免疫反应

噬菌体治疗引起的免疫反应相当复杂,因为大多数噬菌体的结构非常复杂,有许多不同的外壳蛋白暴露在外,以进行相互作用。因此,噬菌体产生的免疫反应一般是衣壳蛋白多组分活性的结果。通过将这种作用分解为特定的蛋白质,我们可以获得一种处理抗噬菌体免疫的敏感工具^[29]。噬菌体最引人注目的作用是它们会诱导产生抗体。在噬菌体研究早期阶段,噬菌体蛋白的抗原性和抗体诱导作用是表征进化相关性的工具。这一观点被称为血清学交叉反应,因为这些反应的强度反映了噬菌体之间的相关性,通常随着物种间进化距离的增加而减少。噬菌体衣壳蛋白与抗血清的相互作用反映了噬菌体之间的同源性和相似性^[30]。现在我们知道噬菌体基因组的同源性通常积累在特定的保守区域(甚至是一个基因的部分),而其他区域是高度可变的。同样,噬菌体衣壳上抗原的排列也不均匀,也就是说,噬菌体之间潜在的相似性可能只发生在特定的部位^[29-31]。一些衣壳成分对噬菌体具有抗原特异性,而另一些则与不同种类的噬菌体共享。

特定噬菌体基因产生的抗体也是识别噬菌体基因功能的主要工具之一。结构蛋白可以通过特定抗体定位在衣壳上,从而提供有关病毒颗粒排列的准确信息^[32]。

噬菌体展示的多肽间的互作研究发现,噬菌体表面肽的性质与先天免疫系统反应之间存在依赖。天然抗体,即哺乳动物血清中存在的抗体,可以识别噬菌体并启动补体激活。然而,有羧基末端赖氨酸或精氨酸残基的衣壳,可通过结合大鼠体内的 C 反应蛋白来保护噬菌体免受补体介导的失活^[33]。

噬菌体清除机制涉及网状内皮系统的过滤,这通常被认为是非免疫哺乳动物清除噬菌体的主要途径。衣壳蛋白上主要基因的单一突变(G 突变为 A)导致赖氨酸取代谷氨酰胺,这影响了该噬菌体在小鼠体内被清除的速度。这表明,噬菌体抗原结构中这种细微差异能够调节噬菌体与免疫系统的相互作用,对于其在治疗中的潜在用途具有重要性。对细菌或生物膜的黏附可能减缓噬菌体被清除的速度。生物信息学研究表明,Ig 样结构域在噬菌体基因组中非常常见,这意味着一些衣壳蛋白在其他噬菌体菌株中也有类似的黏附调节作用。受体靶向性,即化学修饰,也影响噬菌体在体内的清除时间。Molenaar 等发现半乳糖或琥珀酸基团与噬菌体外壳蛋白的结合大大缩短噬菌体的血浆半衰期^[30]。值得注意的是,通过将单甲氧基聚乙二醇(MPEG)与蛋白质结合对噬菌体进行化学修饰,降低了噬菌体的免疫原性;聚乙二醇化噬菌体会导致其半衰期显著增加^[34]。这表明,这种方法可能有助于提高噬菌体的治疗效果。

5 噬菌体的中和抗体对噬菌体的清除

在大肠杆菌和铜绿假单胞菌耐药菌的菌血症小鼠模型中,给药各噬菌体 10⁹ PFU 后的第 10 天检测到噬菌体中和抗体 IgG 水平^[35-36]。在 30 d 和 40 d 后,IgG 水平分别达到最大值。也有报道,使用相似剂量(10¹⁰ PFU)噬菌体,只有在 3 次重复的噬菌体注射后才能被检测到噬菌体中和抗体 IgM 和 IgG^[37]。

用免疫缺陷小鼠和野生型小鼠研究噬菌体中和抗体清除

噬菌体情况^[38-40],结果发现,野生型小鼠给药 1 h 内噬菌体开始被清除,而免疫缺陷小鼠和 B 细胞缺陷小鼠的噬菌体滴度持续存在,未发现被清除。体内研究发现,噬菌体中和抗体能清除肠道和血液循环中的噬菌体。抗体浓度高的患者中,噬菌体在 4 d 内被完全清除^[36],而在抗体滴度很低的患者中,噬菌体保持可检测状态长达 7 周。说明,噬菌体中和抗体具有清除体内噬菌体的能力。

6 噬菌体中和抗体与噬菌体治疗效果之间的关系

噬菌体中和抗体会导致噬菌体治疗失败。研究大肠杆菌特异性单链 DNA 噬菌体 M13 发现,噬菌体中和抗体清除噬菌体与结合抗原导致的细菌细胞渗透的机械障碍有关。最近一项对 20 例金黄色葡萄球菌感染患者的研究中发现,噬菌体中和抗体 IgM 有显著的诱导作用^[41-42]。

许多研究^[41-43]表明,噬菌体特异性抗体的存在会干扰治疗效果。这在慢性感染中尤其相关,在慢性感染中,用同一噬菌体反复治疗可增强体液免疫反应。相反,噬菌体特异性免疫球蛋白的诱导似乎与急性感染的治疗无关,因为噬菌体的抗菌作用在抗体形成之前就已生效。在开始治疗前,仍然推荐先对患者血清进行预筛选以确定是否存在抗噬菌体是明智的。但这种延迟可能与急性治疗不相容。最近的一份报告中提出了一种可能的解决方案,即将噬菌体包装成脂质体不仅能促进细胞吸收到巨噬细胞中,而且避免了噬菌体中和抗体的结合和中和^[44]。在这里,通过生物技术去除编码免疫原性蛋白的噬菌体基因可能是一种非常有趣的替代产品,以维持或挽救噬菌体的效力。这种方法需要对噬菌体进行广泛的鉴定,以全面鉴定潜在的免疫原性噬菌体蛋白,考虑到目前应用的方法,也很难实现。当最终基因工程裂解噬菌体应用于患者时,又可能提出更多的监管问题。

7 结语

综上所述,绝大多数数据表明,高滴度噬菌体治疗应用会刺激宿主免疫系统发生免疫反应,部分研究发现了剂量和时间依赖的免疫效应^[45]。此外,系统性抗噬菌体的免疫反应需要与治疗持续时间和管理途径相结合来评估。到目前为止,还没有在患者或动物模型中得到系统的解决。因此,在今后需要重点关注 3 个主要领域是:(1)通过模式识别受体的免疫识别主要通过在感染部位招募噬菌体来帮助解决感染。噬菌体介导的天然免疫细胞活化主要是基于对噬菌体衍生的 DNA 和 RNA 的识别。因此,特定的模式识别受体结合和免疫激活的程度将因噬菌体类型、噬菌体剂量和核酸合成活性而不同。(2)噬菌体的免疫原性促进了噬菌体中和抗体的形成,这种抗体会阻碍治疗成功,并随着反复用药而增加。尽管核酸传感的模式识别受体驱动了中和抗体的生成,产生的中和抗体直接指向噬菌体上的免疫原性蛋白。在选择治疗用噬菌体时应考虑到:抗体的诱导是高度可变的,且噬菌体具有免疫原性。尽管存在挑战,噬菌体基因工程消除免疫原性蛋白的表达可能是一种不错的方法,以避免由于噬菌体特异性免疫球蛋白的存在而导致治疗无效。目前,避免模式识别受体介导的免疫效应将减少噬菌体中和抗体的产生。可以通过使用自增强噬菌体或改进的剂量范围研究来实现。(3)噬菌体

特异性 IgG 或 IgA 可以限制噬菌体的增殖速度。高抗体水平和 FC 介导的巨噬细胞吞噬噬菌体和抗体混合物加速了机体中噬菌体的清除^[46]。尚不清楚哪些噬菌体特异性因子对这种清除机制有影响。因此,有必要进行更深入的研究,以阐明由于缺乏免疫控制而导致的噬菌体持续存在是否有利于在体内选择抗噬菌体的菌株。

参考文献:

- [1] Barr J J. A bacteriophages journey through the human body [J]. Immunol Rev, 2017, 279: 106 – 122.
- [2] Delmastro P, Meola A, Monaci P, et al. Immunogenicity of filamentous phage displaying peptide minotopes after oral administration [J]. Vaccine, 1997, 15: 1276 – 1285.
- [3] D'Herelle F. Opsonic power of the lysins [M]//Bacteriophage: Its role in immunity. Baltimore: Williams & Wilkins, 1992: 125.
- [4] Mirzaei M K, Maurice C F. Menagetrois in the human gut: interactions between host, bacteria and phages [J]. Nat Rev Microbiol, 2017, 15: 397 – 408.
- [5] Zhang T M, Breitbart W H, Lee J Q, et al. RNA viral community in human feces: prevalence of plant pathogenic viruses [J]. PLoS Biol, 2006, 4: e3.
- [6] Barr J J, Auro R, Furlan M, et al. Bacteriophage adhering to mucus provide a non – host – derived immunity [J]. Proc Natl Acad Sci, 2013, 110: 10771 – 10776.
- [7] Gorski A E, Wazna B W, Dabrowska K, et al. Bacteriophage translocation [J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2006, 46: 313 – 319.
- [8] Duerkop B A, Hooper L V. Resident viruses and their interactions with the immune system [J]. Nat Immunol, 2013, 14: 654 – 659.
- [9] Nguyen S, Baker K, Padman B S, et al. Bacteriophage transcytosis provides a mechanism to cross epithelial cell layers [J]. mBio, 2018, 9: e02207.
- [10] Weber – Dabrowska B, Dabrowski M, Slopek S. Studies on bacteriophage penetration in patients subjected to phage therapy [J]. Arch Immunol Ther Exp, 1987, 35 (5): 563 – 568.
- [11] Inchley C J. The activity of mouse Kupffer cells following intravenous injection of T₄ bacteriophage [J]. Clin Exp Immunol, 1969, 5: 173 – 187.
- [12] Kan'Toch M, Skurski A, Wiczorek Z. *In vitro* blockade of bacterial phago – cytosis of leukocytes by means of bacterial viruses [J]. Schweiz Pathol Mikrobiol, 1958, 21: 1106 – 1119.
- [13] Schwar zK B. Oxidative stress during viral infection: a review [J]. Free Radic Biol Med, 1996, 21: 641 – 649.
- [14] Przerwa A, Zimecki M, Switała – Jele nK, et al. Effects of bacteriophages on free radical production and phagocytic functions [J]. Med Microbiol Immunol, 2006, 195: 143 – 150.
- [15] Kurzepa A. The influence of bacteria on migration and intracellular killing of bacteria by human phagocytes [D]. Wrocław, Poland: Hirsfeld Institute of Immunology and Experimental Therapy, 2011.
- [16] Kumar H, Kawai T, Akira S. Toll – like receptors and innate immunity [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 388: 621 – 625.
- [17] Eriksson F, Culp W D, Massey R, et al. Tumor specific phage particles promote tumor regression in a mouse melanoma model [J].

- Cancer Immunol Immunother, 2007, 56: 677 – 687.
- [18] Uhr J W, Finkelstein M S, Baumann J B. Antibody formation. III. The primary and secondary antibody response to bacteriophage phi X 174 in guinea pigs [J]. J Exp Med, 1962, 115: 655 – 670.
- [19] Uhr J W, Finkelstein M S. Antibody formation. IV. Formation of rapidly and slowly sedimenting antibodies and immunological memory to bacteriophage phi – X 174 [J]. J Exp Med, 1963, 117: 457 – 477.
- [20] Samoylova T I, Norris M D, Samoylov A M, et al. Infective and inactivated filamentous phage as carriers for immunogenic peptides [J]. J Virol Methods, 2012, 183: 63 – 68.
- [21] Jegerlehner A, Maurer P, Bessa J, et al. TLR9 signaling in B cells determines class switch recombination to IgG2a [J]. J Immunol, 2007, 178: 2415 – 2420.
- [22] Táborský I, Dolník V. Ability of human polymorphonuclear blood cells to produce interferon after induction with phage double – stranded RNA [J]. Acta Virol, 1977, 21: 499 – 502.
- [23] Bekereldjian – Ding I, Jego G. Toll – like receptors – sentries in the B – cell response [J]. Immunology, 2009, 128: 311 – 323.
- [24] Jerne N K. The presence in normal serum of specific antibody against bacteriophage T₄ and its increase during the earliest stages of immunization [J]. J Immunol, 1956, 1987, 76: 209 – 216.
- [25] Srivastava A S, Kaido T, Carrier E. Immunological factors that affect the *in vivo* fate of T₇ phage in the mouse [J]. J Virol Methods, 2004, 115: 99 – 104.
- [26] Sulakvelidze A, Barrow P. Phage therapy in animals and agribusiness [M] // Bacteriophages: biology and applications. Boca Raton: CRC Press, 2005.
- [27] Langbeheim H, Teitelbaum D, Arnon R. Cellular immune responses toward MS – 2 phage and a synthetic fragment of its coat protein [J]. Cell Immunol, 1978, 38: 193 – 197.
- [28] Stent G S. Molecular biology of bacterial viruses [M]. London: Freeman Company, 1963.
- [29] Tikhonenko A S, Gachechiladze K K, Bespalova I A, et al. Electron – microscopic study of the serological affinity between the antigenic components of phages T₄ and DDV1 [J]. Mol Biol, 1976, 10: 667 – 673.
- [30] Molenaar T J, Michon I, de Haas S A, et al. Uptake and processing of modified bacteriophage M13 in mice: Implications for phage display [J]. Virology, 2002, 293: 182 – 191.
- [31] Geier M R, Trigg M E, Merrill C R. Fate of bacteriophage lambda in non – immune germ – free mice [J]. Nature, 1973, 246: 221 – 223.
- [32] Ishii T, Yanagida M. The two dispensable structural proteins (soc and hoc) of the T₄ phage capsid; their purification and properties, isolation and characterization of the defective mutants, and their binding with the defective heads *in vitro* [J]. J Mol Biol, 1997, 109: 487 – 514.
- [33] Sokoloff A V, Bock I, Zhang G, et al. The interaction of peptides with the innate immune system studied with use of T7 phage peptide display [J]. Mol Ther, 2000, 2: 131 – 139.
- [34] Kim K P, Cha J D, Jang E H, et al. PEGylation of bacteriophages increases blood circulation time and reduces T – helper type 1 immune response [J]. Microb Biotechnol, 2008, 1: 247 – 257.
- [35] Uchiyama J, Maeda Y, Takemura J. Blood kinetics of four intraperitoneally administered therapeutic candidate bacteriophages in healthy and neutropenic mice [J]. Microbiol Immunol, 2009, 53: 301 – 304.
- [36] Kamme C. Antibodies against staphylococcal bacteriophages in human sera. I. Assay of antibodies in healthy individuals and in patients with staphylococcal infections [J]. Acta Path Microbiol Scand, 1973, 81: 741 – 748.
- [37] Ochs H D, Davis S D, Wedgwood R J. Immunologic responses to bacteriophage phi – X 174 in immunodeficiency diseases [J]. J Clin Invest, 1971, 50: 2559 – 2568.
- [38] Geier M R, Trigg M E, Merrill C R. Fate of bacteriophage lambda in non – immune germ – free mice [J]. Nature, 1973, 246: 221 – 223.
- [39] 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: 4783 – 4799.
- [40] Beaudoin J, Pratt D. Antiserum inactivation of electrophoretically purified M13 diploid virions; model for the F – specific filamentous bacteriophages [J]. J Virol, 1974, 13: 466 – 469.
- [41] Kucharewicz – Krukowska A, Slopek S. Immunogenic effect of bacteriophage in patients subjected to phage therapy [J]. Arch Immunol Ther Exp, 1987, 35: 553 – 561.
- [42] Zaczek M, Łusiak – Szelachowska M E, Jonczyk – Matysiak B. et al. Antibody production in response to Staphylococcal MS – 1 phage cocktail in patients undergoing phage therapy [J]. Front Microbiol, 2016: 1681.
- [43] Jerzak M, Baranowski W, Rechberger T. Enhanced T cells interactions with extracellular matrix proteins in infertile women with endometriosis [J]. Immunol Lett, 2002, 81: 65 – 70.
- [44] Singla S, Harjai K, Katare O P. Encapsulation of bacteriophage in liposome accentuates its entry into macrophage and shields it from neutralizing antibodies [J]. PLoS One, 2016, 11: e0153777.
- [45] Esber H J, de Courcy S J, Bogden A E. Specific and nonspecific immune resistance enhancing activity of staphage lysate [J]. J Immunopharmacol, 1981, 3: 79 – 92.
- [46] Forthal D N, Moog C. Fc receptor – mediated antiviral antibodies [J]. Curr Opin in HIV and AIDS, 2009, 4(1): 388 – 393.