

· 药咖论坛 ·

口服细菌疫苗研究进展

付来颖^{1,2}, 王双¹, 岳华¹, 魏炜^{1,2*}, 郑迪威^{1**}

(1. 中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室 生物药制备与递送重点实验室, 北京 100190; 2. 中国科学院大学化学工程学院, 北京 100049)

[摘要] 口服细菌疫苗接种便捷, 患者依从性高, 可同时激活黏膜免疫、体液免疫和细胞免疫, 是目前疫苗研究的前沿热点。然而, 消化道环境的复杂性、递送载体的缺乏等因素极大地制约了口服细菌疫苗的稳定性和防治效果。近年来, 合成生物学和材料学等技术的快速发展为应对上述挑战提供了全新的机遇。综述围绕口服细菌疫苗的作用机制, 介绍了基于全细菌和细菌组分的口服疫苗的研究进展, 总结了新型口服细菌疫苗的工程化策略及其在恶性肿瘤和病毒感染等适应证中的应用, 进一步探讨了口服细菌疫苗递送系统的发展趋势, 以为未来口服细菌疫苗的研发提供参考。

[关键词] 口服疫苗; 工程细菌; 黏膜免疫; 疫苗递送

[中图分类号] R392-33; R945 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-5094 (2024) 06-0412-09

DOI: 10.20053/j.issn1001-5094.2024.06.003

Research Progress of Oral Bacterial Vaccine

FU Laiying^{1,2}, WANG Shuang¹, YUE Hua¹, WEI Wei^{1,2*}, ZHENG Diwei¹

(1. State Key Laboratory of Biochemical Engineering, Key Laboratory of Biopharmaceutical Preparation and Delivery, Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China; 2. School of Chemical Engineering, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

[Abstract] Oral bacterial vaccines are currently a hot topic in vaccine research, owing to such advantages as ease of administration, enhanced patient compliance, and their ability to induce mucosal immunity, humoral immunity, and cellular immunity simultaneously. Nonetheless, the stability and efficacy of these vaccines are hindered by the complexities of the gastrointestinal environment and the absence of efficient delivery systems. In recent years, the rapid development of synthetic biology and materials science technologies has provided opportunities for addressing the above challenges. This review offers a comprehensive overview of the immunological mechanisms underlying oral bacterial vaccines, recent research advancements concerning whole bacteria and bacterial components-based vaccines, innovative engineering strategies adopted in their development, and their applications in tumors and viral infection. In addition, several promising strategies for the delivery of oral bacterial vaccines have been thoroughly discussed, aiming to provide some valuable insights for future research in this important field.

[Key words] oral vaccine; engineered bacteria; mucosal immunity; vaccine delivery

疫苗作为疾病预防和控制的关键工具, 对医疗保健和公共卫生具有深远的影响。自爱德华·詹纳 (Edward Jenner) 发明天花疫苗以来, 疫苗的发展有效控制了天花^[1]、脊髓灰质炎^[2]、麻疹^[3]等致命疾病, 拯救了数十亿人的生命。然而, 目前已上市

的疫苗多为注射疫苗^[4], 在实际应用中面临多重挑战, 如需要专业医疗人员进行接种, 易引起患者的疼痛和不适感等^[5-6]。因此, 注射疫苗的患者依从性较低, 且难以在医疗资源匮乏地区进行推广。同时, 注射疫苗难以激发黏膜免疫, 无法建立黏膜防护屏障, 制约了其在消化道疾病中的应用^[7]。

相比于注射疫苗, 口服疫苗接种便捷、易于推广, 能够激活黏膜免疫, 是目前疫苗研发的焦点^[8]。口服疫苗的研发始于20世纪60年代, 口服脊髓灰质炎病毒疫苗作为其标志性成果, 在脊髓灰质炎的防治中发挥了关键作用^[9]。作为口服疫苗的理想底盘菌株^[10], 细菌具有免疫原性强^[11]、培养成本低^[12]以及基因组易于改造^[13]的优势。基于细菌的口服疫

接受日期: 2024-05-10

项目资助: 国家自然科学基金 (No. 52203185, No. 22108284, No. U20A20361)

* 通信作者: 魏炜, 研究员;

研究方向: 仿生剂型工程;

E-mail: weiwei@ipe.ac.cn

** 通信作者: 郑迪威, 研究员;

研究方向: 细菌生物材料;

E-mail: dwzheng@ipe.ac.cn

苗已在霍乱、伤寒等疾病的防治中展现出卓越的效果^[14-15]。近年来, 得益于合成生物学和材料学技术的迅猛发展, 科学家们得以对细菌进行理性改造, 为口服细菌疫苗的研制提供了全新策略。

本文围绕口服细菌疫苗的作用机制, 总结基于全细菌和细菌组分的口服疫苗在预防细菌感染等方面的研究进展; 进一步从合成生物学改造和材料学修饰 2 个方面对口服细菌疫苗的工程化策略进行介绍, 并概述其在防治细菌感染、恶性肿瘤和病毒感染中的应用; 针对现有口服细菌疫苗缺乏有效递送系统的现状, 将从提升细菌在消化道内的活性和靶向性 2 个方面深入探讨相关解决思路与未来发展趋势。

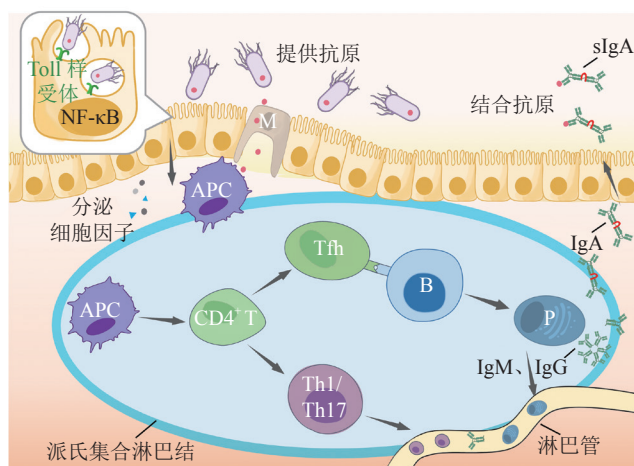
1 口服细菌疫苗的作用机制

肠道黏膜是口服细菌疫苗发挥作用的主要部位。从结构上来说, 肠道黏膜主要由黏液层、肠道上皮层以及固有层构成^[16]。黏液层是肠道黏膜的第一层屏障, 其中含有大量糖蛋白, 能够防御病原微生物对肠道上皮层的侵袭^[16]。肠道上皮层作为第二层屏障, 其中含有具有吞噬能力的微皱褶细胞, 当微皱褶细胞接触到外来的抗原时, 会将其捕获并吞噬, 进一步将抗原呈递至固有层中的派尔集合淋巴结^[17]。派尔集合淋巴结是肠道黏膜免疫中的核心角色, 其中富含树突状细胞 (dendritic cell, DC)、B 细胞和 T 细胞等免疫细胞^[18]。因此, 肠道黏膜可

以对病原微生物的侵袭做出快速反应。

口服细菌疫苗在进入肠道后, 细菌本身可作为免疫佐剂, 与肠道上皮细胞表面的 Toll 样受体结合, 激活上皮细胞的核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 通路并诱导其分泌促炎细胞因子和趋化因子, 从而激活后续的免疫反应^[19]。另外, 细菌也可以携带抗原, 或将表达的外源性抗原带入肠道。肠道中的大多数抗原由微皱褶细胞摄取, 微皱褶细胞所内化的抗原进一步被 DC 捕获^[20]。除了上述途径之外, 一些 DC 也可以跨越上皮细胞并将树突伸入肠腔以获取抗原。DC 随后将抗原呈递给淋巴细胞, 而活化的淋巴细胞继而启动抗原特异性免疫反应^[21]。

以派尔集合淋巴结中的抗原特异性免疫反应激活过程 (见图 1) 为例, 在滤泡辅助性 T 细胞等协助下, B 细胞进一步被活化, 进行增殖、分化和抗体亲和力成熟, 随后释放体液免疫的核心物质免疫球蛋白 M (immunoglobulin M, IgM) 或免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG), 产生保护效应^[22-23]。大部分位于派尔集合淋巴结中的 B 细胞会转化为 IgA⁺ 浆细胞, 进一步分泌 IgA, 建立黏膜免疫屏障^[24]。这些浆细胞可以进一步迁移到远端组织, 并对远端组织形成免疫保护^[25]。在 DC 的刺激下, CD4⁺ T 细胞能够进一步活化为不同的亚群, 如 Th1 细胞亚群, 其可以分泌细胞因子如干扰素- γ , 进一步介导细胞免疫^[26]。



NF- κ B: 核因子 κ B; M: 微皱褶细胞; APC: 抗原呈递细胞; Tfh: 滤泡辅助性 T 细胞; Th1: Th1 细胞; Th17: Th17 细胞; B: B 细胞; P: 浆细胞; IgM: 免疫球蛋白 M; IgG: 免疫球蛋白 G; IgA: 免疫球蛋白 A; sIgA: 分泌型免疫球蛋白 A

图 1 口服细菌疫苗的免疫机制

Figure 1 Immunological mechanism of oral bacterial vaccines

2 天然口服细菌疫苗

2.1 全细菌疫苗

全细菌疫苗是用完整的减毒或灭活细菌构建的疫苗, 在消化道疾病方面具有优越的预防效果。由伤寒沙门氏菌引起的伤寒每年在全球造成 1 100 万例感染和超过 10 万人死亡^[27]。近期研究表明, 伤寒沙门氏菌对抗生素的耐药性逐年增加, 极大提高了伤寒防治的难度, 因此亟需开发新一代伤寒疫苗^[28]。Ty21a 疫苗是由化学诱变的减毒伤寒沙门氏菌所制成的^[29], 在口服接种后能够有效激活肠道黏膜免疫, 并可持续预防伤寒 5~7 年。通过回顾在智利、埃及和印度尼西亚等国进行的大规模接种发现, 接种 Ty21a 疫苗的人群相比未接种人群的伤寒感染率降低了 40% 以上^[29]。

经灭活的全细菌疫苗也可以产生较强的免疫效应。霍乱是一种由霍乱弧菌引起的消化道疾病, 会导致严重的急性水样腹泻, 若不及时治疗, 50% 的患者可能在数小时内死亡^[30]。Dukoral[®] 是首个通过世界卫生组织资格预审的口服霍乱疫苗, 其包含了 4 种不同的灭活霍乱弧菌和霍乱毒素 B 亚基。临床试验显示, 在 Dukoral[®] 接种 30 天后, 接种者体内抗霍乱弧菌脂多糖和霍乱毒素 B 亚基的特异性记忆 B 细胞的活化数量显著增加^[31]。研究结果表明, Dukoral[®] 能够有效诱发针对霍乱的特异性免疫应答, 有望成为抗击霍乱的重要武器。

2.2 细菌组分疫苗

细菌组分疫苗常由细菌外膜囊泡 (outer membrane vesicles, OMV)、细菌样颗粒等细菌衍生物所构成, 这些衍生物不具备增殖能力, 因而更加安全。OMV 是由革兰阴性菌分泌的天然纳米囊泡, 尺寸为 30~250 nm, 可以有效穿透肠上皮屏障并与固有层中的 DC 相互作用, 以激活免疫应答^[32]。Liu 等^[33] 系统分析了源自沙鼠幽门螺杆菌 OMV 的蛋白组成, 发现其同时包含来自胞外和胞质的蛋白质, 具有多价性。在小鼠模型中, 口服 OMV 诱导的分泌型免疫球蛋白 A (secretory immunoglobulin A, sIgA) 水平明显高于对照组, 可有效引发针对幽门螺杆菌的黏膜免疫应答。OMV 具有丰富的病原体相关分子模式, 还可用作口服疫苗的佐剂^[34]。例如,

以类鼻疽伯克霍尔德菌 OMV 为佐剂的灭活鼠伤寒沙门氏菌疫苗可以有效预防伤寒感染, 小鼠在口服该疫苗后, 肠道 sIgA 抗体水平明显增加; 在应对沙门氏菌感染时, 免疫组小鼠的存活率相比对照组提升了约 6 倍^[35]。

细菌样颗粒与 OMV 不同, 其不含核酸或细胞质蛋白, 但保留了细菌的肽聚糖骨架, 因此也可作为疫苗的佐剂^[36]。例如, 将乳酸杆菌衍生的细菌样颗粒作为口服轮状病毒疫苗的佐剂, 能够将小鼠肠道中 sIgA 抗体的水平提高约 1.5 倍, 显著增强肠道的黏膜免疫应答^[36]。虽然现阶段对细菌样颗粒在口服疫苗的应用研究较少, 但细菌样颗粒的组成明确, 构效关系更加清晰, 有望成为细菌组分疫苗的下一个研究热点。

3 口服细菌疫苗的应用场景拓展

3.1 口服细菌疫苗用于肿瘤防治

近年来, 口服细菌疫苗在防治肿瘤方面展现出良好的应用前景^[37]。Naciute 等^[38] 将含有肿瘤相关抗原 AH1td 肽的乳液附着在大肠埃希菌表面, 并将其与含有疫苗成分的阳离子脂质体配制成脂质体-细菌生物杂合疫苗。在原位结直肠癌小鼠模型中, 疫苗接种组小鼠肿瘤重量相较于对照组显著降低。此外, Kitagawa 等^[39] 以表达肾母细胞瘤相关抗原 WT1 蛋白的工程长双歧杆菌为底盘菌株构建了热灭活口服疫苗 (B440), 在前列腺癌小鼠模型中, B440 组前列腺癌小鼠的肿瘤体积相较于对照组大幅降低约 90%, 且小鼠的生存期显著延长。

3.2 口服细菌疫苗用于病毒防治

病毒性感染严重威胁人类健康。利用合成生物学技术构建表达病毒抗原的工程菌, 有望用于开发有效、广谱的抗病毒疫苗。例如, 表达新型冠状病毒病毒刺突蛋白的工程沙门氏菌疫苗能够显著增加小鼠血清中特异性抗体水平, 所诱导的细胞毒性 T 细胞数量约为对照组的 6 倍^[40]。此外, 枯草芽孢杆菌的芽孢抗逆性强, 能够在小肠中长时间存活, 也是备受关注的细菌疫苗底盘。Sung 等^[41] 将新型冠状病毒病毒刺突蛋白的受体结合结构域 (receptor binding domain, RBD) 表达在枯草芽孢杆菌的芽孢表面,

由工程化芽孢所制得的疫苗能够在短时间内诱导中和抗体产生。Lloren 等^[42]以工程沙门氏菌作为底盘, 构建了 2 种广谱新型冠状病毒疫苗: JOL2818-Cons 以病毒保守区域的七肽重复序列、核衣壳蛋白和病毒 RNA 复制酶的亚基为抗原; JOL2819-Var 则针对病毒的可变区域, 以 N-末端结构域和刺突蛋白的 RBD 为抗原。在仓鼠模型中发现, 同时口服接种这 2 种疫苗的仓鼠体内针对 Delta 和 Omicron 病毒的中和抗体滴度是对照组的 2 倍以上, 且肺部炎症也明显减轻。

4 口服细菌疫苗的工程化策略

4.1 口服细菌疫苗的合成生物学改造

传统的细菌改造方法常依赖于随机突变, 效率低下且结果难以预测, 而合成生物学则可精确设计细菌的基因回路和代谢途径^[43-44], 为研发更加有效、安全的新一代口服细菌疫苗提供助力^[45-47]。Tourlomousis 等^[48]发现沙门氏菌的鞭毛蛋白会阻断 Nod 样受体相关蛋白介导的免疫反应, 从而抑制口服沙门氏菌疫苗效果。基于这一发现, 运用合成生物学方法将沙门氏菌鞭毛蛋白替换为大肠埃希菌鞭毛蛋白。相较于传统疫苗, 杂化沙门氏菌疫苗接种的小鼠在面对沙门氏菌感染时生存率可提升 3 倍以上。

合成生物学方法不仅可对细菌的单个基因进行精准调控, 也可按需对多个基因进行同步调控。Hubbard 等^[49]以霍乱弧菌为底盘, 基于多位点的基因编辑技术理性构建了减毒的口服细菌疫苗 (HaitiV)。该研究以提高疫苗安全性为目标, 敲除了 DNA 重组所需的 *recA* 基因以防止细菌发生基因突变, 并删除了 5 个鞭毛蛋白相关基因以避免细胞因子风暴; 为防止噬菌体对底盘细菌的侵染, 进一步删除了 CTX Φ 前噬菌体基因, 并插入可预防噬菌体侵染的规律性重复短回文序列簇系统。在霍乱弧菌感染模型中, HaitiV 疫苗可以将幼兔的生存率提高到 50% 以上, 而未接种组的幼兔在 30 h 内全部死亡。

合成生物学策略同样适用于 OMV 的改造。DC 等固有免疫细胞表达的 Fc 受体能够与 IgG 抗体的 Fc

片段特异性结合, 从而诱发免疫应答。基于这一特性, 研究人员通过合成生物学技术将 Fc 片段、卵清蛋白 (ovalbumin, OVA) 和膜蛋白共同融合, 进一步使大肠埃希菌表达融合蛋白, 以获得表面展示融合蛋白的 OMV 口服疫苗。在肺转移性黑色素瘤动物模型中, 接种该疫苗小鼠的肺转移病灶几乎完全消失, 同时脾脏中的 CD8⁺T 细胞数量提升了约 6 倍^[50]。

4.2 口服细菌疫苗的材料学修饰

近年来, 不断涌现出兼具强大功能和优异安全性的新材料, 为细菌改造提供了新的发展方向^[51-52]。相较合成生物学方法, 材料学方法无需对细菌进行基因改造, 可通过简单的物理或化学偶联实现细菌与材料的融合^[53-54]。Hu 等^[55]合成了由 β -环糊精-聚乙烯亚胺和编码肿瘤抗原血管内皮细胞生长因子受体的 DNA 所构成的纳米粒子, 并将该纳米粒子和沙门氏菌复合, 构建了一种新型疫苗。荷瘤小鼠在口服该疫苗后, 脾脏中的活化 CD4⁺T 细胞含量从 8% 上升至 16%, 肿瘤抑制率也高达 60%。Zhang 等^[56]采用海藻酸钠/壳聚糖水凝胶对工程大肠埃希菌进行包裹, 以提高细菌在胃酸中的存活率, 同时通过合成生物学改造, 赋予细菌表达 CT26 结肠癌相关抗原 AH1-A5 肽的能力。该工程大肠埃希菌到达肠道环境可有效激活抗肿瘤免疫。口服该工程菌的小鼠肠系膜淋巴结中活化的 CD8⁺T 细胞水平约是对照组的 3.9 倍, 同时肿瘤体积缩小了约 75%。材料学和合成生物学方法在细菌改造中可以相互补充和融合, 以构建更加高效的口服细菌疫苗 (见表 1)。

随着材料学技术的快速发展, 一系列新技术如烷基链插膜^[57]、生物正交化学^[58]以及表面矿化^[59]等已被应用于 OMV 的改造。这些方法显著提升了 OMV 的功能性和稳定性, 为 OMV 的生物医学应用打下了坚实的基础。Chen 等^[60]将可有效激活免疫应答的大肠埃希菌质膜, 与富含抗原的患者来源肿瘤细胞膜融合为杂合细胞膜, 进一步将其包裹在聚乳酸-羟基乙酸共聚物粒子的表面, 构建了个性化 OMV 疫苗。该 OMV 疫苗在小鼠体内可高效激活抗肿瘤免疫应答, 显著抑制肿瘤的生长, 该方法有望为肿瘤个性化治疗提供全新的发展方向。

表 1 口服细菌疫苗的工程化策略

Table 1 Engineering strategies of oral bacterial vaccines

底盘	改造目的	改造策略	疾病	参考文献
长双歧杆菌	表达特定抗原	插入肾母细胞瘤相关抗原基因	前列腺癌	[39]
沙门氏菌		插入新型冠状病毒刺突蛋白基因	新型冠状病毒感染	[40]
枯草芽孢杆菌		插入新型冠状病毒刺突蛋白 RBD 基因	新型冠状病毒感染	[41]
大肠埃希菌 OMV		插入 OVA 基因	黑色素瘤	[50]
沙门氏菌	增强免疫原性	插入大肠埃希菌鞭毛蛋白基因	沙门氏菌感染	[48]
霍乱弧菌	改善安全性	敲除 DNA 重组相关基因和噬菌体基因	霍乱	[49]
大肠埃希菌	提升稳定性	使用水凝胶包裹大肠埃希菌	结肠癌	[56]

RBD: 受体结合结构域; OMV: 细菌外膜囊泡; OVA: 卵清蛋白

5 口服细菌疫苗的递送策略

5.1 细菌的体内保护策略

递送系统在保障口服细菌疫苗的稳定性和防治效果中起重要作用^[61]。一方面, 消化道中的胃酸、消化酶及其表面的黏液屏障等因素会限制口服疫苗的递送^[62]; 另一方面, 派尔集合淋巴结在肠道中的分布具有高度异质性, 导致疫苗在派尔集合淋巴结的富集效率低下^[63]。然而, 在口服细菌疫苗领域, 递送策略的研究目前尚处于空白状态, 是制约该领域发展的一大瓶颈。

近年来活菌制剂递送领域的成功经验和技术创新^[64], 有望为口服细菌疫苗递送策略的开发提供借鉴。Anselmo 等^[65]创新地利用聚阳离子壳聚糖和带负电的凝结芽孢杆菌之间的作用, 实现了对单个细菌的封装。经改造的细菌在肠道内的滞留效率提高了 10 倍以上, 同时可更好地耐受胃酸和胆汁酸。考虑到聚阳离子往往会抑制细菌本身的活力^[66], Zheng 等^[67]通过 β -环糊精和金刚烷介导的主客体相互作用, 将益生元葡聚糖包被在丁酸梭菌的孢子外。动物实验表明, 该方法不但可以保持细菌活力、增效肠道黏附, 还可以显著提高丁酸梭菌所合成的抗炎性短链脂肪酸产量。近年来, 研究人员相继开发了基于酰亚胺反应^[68]、原位矿化^[69]、多巴胺聚合^[70]等化学反应的细菌界面修饰方法, 这些高效、温和的方法为开发新型口服细菌疫苗提供了灵活的工具箱。

5.2 细菌的智能靶向策略

目前研究人员也开发了一系列智能策略用于辅助细菌靶向派尔集合淋巴结。酵母菌可被微皱褶细

胞通过 Dectin-1 受体内吞, 进而富集于派尔集合淋巴结。基于该现象, Lin 等^[71]将益生菌包裹在酵母膜内, 使得益生菌也能够特异性富集于派尔集合淋巴结。这一策略显著提升了肠道中 CD11c⁺ DC、CD4⁺ T 细胞和 sIgA 抗体的水平, 引发了有效的黏膜免疫。除了自身的靶向性, 通过声^[72]、光^[73]、磁^[74]等外场作用也可以精准地控制细菌靶向。例如, 将大肠埃希菌负载在磁流体中, 通过调控磁体阵列的排布, 可以改变不同肠段的磁场强度, 使大肠埃希菌能够按照需求精准地富集于不同肠段^[74]。通过外场对细菌进行精准操控, 有望为口服细菌疫苗的递送和派尔集合淋巴结定点释放带来新的突破。

6 发展前景

口服细菌疫苗领域正迎来一次深远的变革, 从传统的全细菌疫苗逐步迈向以合成生物学、材料科学技术等为核心的工程化细菌疫苗, 其应用也由细菌感染逐渐深入到肿瘤治疗和病毒感染领域。然而, 口服细菌疫苗在理性设计、递送效率、适应证拓展等方面仍有较大发展空间。在疫苗设计方面, 经验式和试错式的科研范式极大制约了口服细菌疫苗效果的提升, 亟需在人工智能的指导下优化抗原和细菌底盘之间的适配性, 增强口服疫苗所引发的免疫应答水平; 在疫苗递送方面, 面对复杂的动态免疫过程, 需要通过跨学科的协作开发具有智能递送功能的口服细菌疫苗; 在适应证方面, 考虑到肠道黏膜在免疫耐受中的重要作用, 以及强直性脊柱炎、红斑狼疮等自身免疫性疾病缺乏有效治疗方案的现

状, 在未来可以进一步开辟基于口服细菌疫苗的负向免疫调控新方向。随着合成生物学、材料学和人工智能等领域的交叉融合, 基础研究的日益深化以

及临床试验数据的持续积累, 相信在不远的将来, 上述方向将从设想走向现实, 口服细菌疫苗也将为人类的健康事业做出更大贡献。

[参考文献]

- [1] Mazzotta V, Lepri A C, Matusali G, *et al.* Immunogenicity and reactogenicity of modified vaccinia Ankara pre-exposure vaccination against mpox according to previous smallpox vaccine exposure and HIV infection: prospective cohort study[J]. *EClinicalMedicine*, 2024, 68: 102420. DOI: 10.1016/j.eclinm.2023.102420.
- [2] Thompson K M, Luring A S, Pollard A J, *et al.* Polio eradication: addressing the hurdles on the last mile[J]. *Cell*, 2023, 186(1): 1–4.
- [3] Pandey A, Galvani A P. Exacerbation of measles mortality by vaccine hesitancy worldwide[J]. *Lancet Glob Health*, 2023, 11(4): e478–e479. DOI: 10.1016/s2214-109x(23)00063-3.
- [4] Ye Z, Harmon J, Ni W, *et al.* The mRNA vaccine revolution: COVID-19 has launched the future of vaccinology[J]. *ACS Nano*, 2023, 17(16): 15231–15253.
- [5] Rosenblum H G, Gee J, Liu R, *et al.* Safety of mRNA vaccines administered during the initial 6 months of the US COVID-19 vaccination programme: an observational study of reports to the vaccine adverse event reporting system and v-safe[J]. *Lancet Infect Dis*, 2022, 22(6): 802–812.
- [6] Saxena P, Pradhan I P, Kumar D. Redefining bio medical waste management during COVID-19 in India: a way forward[J]. *Mater Today Proc*, 2022, 60: 849–858. DOI: 10.1016/j.matpr.2021.09.507.
- [7] Holmgren J. Modern history of cholera vaccines and the pivotal role of icddr, b[J]. *J Infect Dis*, 2021, 224: S742–S748. DOI: 10.1093/infdis/jiab423.
- [8] Langel S N, Johnson S, Martinez C I, *et al.* Adenovirus type 5 SARS-CoV-2 vaccines delivered orally or intranasally reduced disease severity and transmission in a hamster model[J]. *Sci Transl Med*, 2022, 14(658): eabn6868. DOI: 10.1126/scitranslmed.abn6868.
- [9] Bandyopadhyay A S, Zipursky S. A novel tool to eradicate an ancient scourge: the novel oral polio vaccine type 2 story[J]. *Lancet Infect Dis*, 2023, 23(2): e67–e71. DOI: 10.1016/s1473-3099(22)00582-5.
- [10] Li C X, Qi Y D, Chen Y G, *et al.* Tuning bacterial morphology to enhance anticancer vaccination[J]. *ACS Nano*, 2023, 17(9): 8815–8828.
- [11] Zhang S M, Jin X K, Luo G F, *et al.* An engineered bacterium-based lactate bioconsumer for regulating immunosuppressive tumor microenvironment to potentiate antitumor immunity[J]. *ACS Mater Lett*, 2023, 5(10): 2785–2798.
- [12] Zhao Z, Deng J, Fan D. Green biomanufacturing in recombinant collagen biosynthesis: trends and selection in various expression systems[J]. *Biomater Sci*, 2023, 11: 5439–5461. DOI: 10.1039/D3BM00724C.
- [13] Cooper R M, Wright J A, Ng J Q, *et al.* Engineered bacteria detect tumor DNA[J]. *Science*, 2023, 381(6658): 682–686.
- [14] Xu H, Zou K, Dent J, *et al.* Enhanced cholera surveillance to improve vaccination campaign efficiency[J]. *Nat Med*, 2024, 30(4): 1104–1110.
- [15] Shakya M, Pollard A J. Typhoid conjugate vaccines: a step towards typhoid control[J]. *Lancet Glob Health*, 2024, 12(4): e535–e536. DOI: 10.1016/s2214-109x(24)00055-x.
- [16] Eshaghi B, Schudel A, Sadeghi I, *et al.* The role of engineered materials in mucosal vaccination strategies[J]. *Nat Rev Mater*, 2024, 9(1): 29–45.
- [17] Kurashima Y, Kiyono H. Mucosal ecological network of epithelium and immune cells for gut homeostasis and tissue healing[J]. *Annu Rev Immunol*, 2017, 35: 119–147. DOI: 10.1146/annurev-immunol-051116-052424.
- [18] Kayama H, Okumura R, Takeda K. Interaction between the microbiota, epithelia, and immune cells in the intestine[J]. *Annu Rev Immunol*, 2020, 38: 23–48. DOI: 10.1146/annurev-immunol-070119-115104.
- [19] Takeuchi O, Hoshino K, Kawai T, *et al.* Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components[J]. *Immunity*, 1999, 11(4): 443–451.
- [20] Lamichhane A, Azegami T, Kiyono H. The mucosal immune system for vaccine development[J]. *Vaccine*, 2014, 32(49): 6711–6723.
- [21] Despalatović R B, Babić M, Bratanić A, *et al.* The impact of phenotype of inflammatory bowel diseases, inflammation activity and

- therapy on mucosal mature CD83⁺ dendritic cell[J]. *J Clin Med*, 2024, 13(7): 2070. DOI: 10.3390/jcm13072070.
- [22] Tsai C J Y, Loh J M S, Fujihashi K, *et al.* Mucosal vaccination: onward and upward[J]. *Expert Rev Vaccines*, 2023, 22(1): 885–899.
- [23] Chen K, Magri G, Grasset E K, *et al.* Rethinking mucosal antibody responses: IgM, IgG and IgD join IgA[J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(7): 427–441.
- [24] Lavelle E C, Ward R W. Mucosal vaccines-fortifying the frontiers[J]. *Nat Rev Immunol*, 2022, 22(4): 236–250.
- [25] Fitzpatrick Z, Frazer G, Ferro A, *et al.* Gut-educated IgA plasma cells defend the meningeal venous sinuses[J]. *Nature*, 2020, 587(7834): 472–476.
- [26] Neurath M F, Finotto S, Glimcher L H. The role of Th1/Th2 polarization in mucosal immunity[J]. *Nat Med*, 2002, 8(6): 567–573.
- [27] Batool R, Qamar Z H, Salam R A, *et al.* Efficacy of typhoid vaccines against culture-confirmed *Salmonella typhi* in typhoid endemic countries: a systematic review and meta-analysis[J]. *Lancet Glob Health*, 2024, 12(4): e589. DOI: 10.1016/s2214-109x(23)00606-x.
- [28] Webster E, Lopez P P, Kirchhelle C. Shifting targets: typhoid's transformation from an environmental to a vaccine-preventable disease, 1940–2019[J]. *Lancet Infect Dis*, 2024, 24(4): e232–e244. DOI: 10.1016/s1473-3099(23)00500-5.
- [29] Syed K A, Saluja T, Cho H, *et al.* Review on the recent advances on typhoid vaccine development and challenges ahead[J]. *Clin Infect Dis*, 2020, 71: S141–S150. DOI: 10.1093/cid/ciaa504.
- [30] Shaikh H, Lynch J, Kim J, *et al.* Current and future cholera vaccines[J]. *Vaccine*, 2020, 38: A118–A126. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.12.011.
- [31] Dash P, Hakim A, Akter A, *et al.* Cholera toxin and O-specific polysaccharide immune responses after oral cholera vaccination with Dukoral in different age groups of Bangladeshi participants[J]. *mSphere*, 2024, 9(3): e0056523. DOI: 10.1128/msphere.00565-23.
- [32] Toyofuku M, Schild S, Kaparakis-Liaskos M, *et al.* Composition and functions of bacterial membrane vesicles[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2023, 21(7): 415–430.
- [33] Liu Q, Li X, Zhang Y, *et al.* Orally-administered outer-membrane vesicles from *Helicobacter pylori* reduce *H. pylori* infection via th2-biased immune responses in mice[J]. *Pathog Dis*, 2019, 77(5): ftz050. DOI: 10.1093/femspd/ftz050.
- [34] Cheng K, Zhao R, Li Y, *et al.* Bioengineered bacteria-derived outer membrane vesicles as a versatile antigen display platform for tumor vaccination via plug-and-display technology[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 2041. DOI: 10.1038/s41467-021-22308-8.
- [35] Harrell J E, Kurtz J R, Bauer D L, *et al.* An outer membrane vesicle-adjuvanted oral vaccine protects against lethal, oral *Salmonella* infection[J]. *Pathogens*, 2021, 10(5): 616. DOI: 10.3390/pathogens10050616.
- [36] Tonetti F R, Arce L, Salva S, *et al.* Immunomodulatory properties of bacterium-like particles obtained from immunobiotic *Lactobacilli*: prospects for their use as mucosal adjuvants[J]. *Front Immunol*, 2020, 11(2): 15. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00015.
- [37] Liu Q, Yu Z, Tian F, *et al.* Surface components and metabolites of probiotics for regulation of intestinal epithelial barrier[J]. *Microb Cell Fact*, 2020, 19: 23. DOI: 10.1186/s12934-020-1289-4.
- [38] Naciute M, Kiwitt T, Kemp R A, *et al.* Bacteria biohybrid oral vaccines for colorectal cancer treatment reduce tumor growth and increase immune infiltration[J]. *Vaccine*, 2021, 39(39): 5589–5599.
- [39] Kitagawa K, Gono R, Tatsumi M, *et al.* Preclinical development of a WT1 oral cancer vaccine using a bacterial vector to treat castration-resistant prostate cancer[J]. *Mol Cancer Ther*, 2019, 18(5): 980–990.
- [40] Yoon W, Park Y, Kim S, *et al.* Development of an oral *Salmonella*-based vaccine platform against SARS-CoV-2[J]. *Vaccines*, 2022, 10(1): 67. DOI: 10.3390/vaccines10010067.
- [41] Sung J C C, Lai N C Y, Wu K C, *et al.* Safety and immunogenicity of inactivated *Bacillus subtilis* spores as a heterologous antibody booster for COVID-19 vaccines[J]. *Vaccines*, 2022, 10(7): 1014. DOI: 10.3390/vaccines10071014.
- [42] Lloren K K S, Jawalagatti V, Hewawaduge C, *et al.* *Salmonella*-mediated oral delivery of multiple-target vaccine constructs with conserved and variable regions of SARS-CoV-2 protect against the Delta and Omicron variants in hamster[J]. *Microbes Infect*, 2023, 25(5): 105101. DOI: 10.1016/j.micinf.2023.105101.
- [43] Hahn J, Ding S, Im J, *et al.* Bacterial therapies at the interface of synthetic biology and nanomedicine[J]. *Nat Rev Bioeng*, 2024, 2(2): 120–135.
- [44] Liu A P, Appel E A, Ashby P D, *et al.* The living interface between synthetic biology and biomaterial design[J]. *Nat Mater*, 2022, 21(4): 390–397.

- [45] Diard M, Bakkeren E, Lentsch V, *et al.* A rationally designed oral vaccine induces immunoglobulin A in the murine gut that directs the evolution of attenuated *Salmonella* variants[J]. *Nat Microbiol*, 2021, 6(7): 830–841.
- [46] Qiao N, Du G, Zhong X, *et al.* Recombinant lactic acid bacteria as promising vectors for mucosal vaccination[J]. *Exploration*, 2021, 1(2): 20210026. DOI: 10.1002/EXP.20210026.
- [47] Maeda D L N F, Tian D, Yu H, *et al.* Killed whole-genome reduced-bacteria surface-expressed coronavirus fusion peptide vaccines protect against disease in a porcine model[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118(18): e2025622118. DOI: 10.1073/pnas.2025622118.
- [48] Tourlomousis P, Wright J A, Bittante A S, *et al.* Modifying bacterial flagellin to evade Nod-like receptor CARD 4 recognition enhances protective immunity against *Salmonella*[J]. *Nat Microbiol*, 2020, 5(12): 1588–1597.
- [49] Hubbard T P, Billings G, Dörr T, *et al.* A live vaccine rapidly protects against cholera in an infant rabbit model[J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(445): eaap8423. DOI: 10.1126/scitranslmed.aap8423.
- [50] Yue Y, Xu J, Li Y, *et al.* Antigen-bearing outer membrane vesicles as tumour vaccines produced in situ by ingested genetically engineered bacteria[J]. *Nat Biomed Eng*, 2022, 6(7): 898–909.
- [51] Wang C, Zhong L, Xu J, *et al.* Oncolytic mineralized bacteria as potent locally administered immunotherapeutics[J]. *Nat Biomed Eng*, 2024, 8(5): 561–578.
- [52] Wang W, Xu H, Ye Q, *et al.* Systemic immune responses to irradiated tumours via the transport of antigens to the tumour periphery by injected flagellate bacteria[J]. *Nat Biomed Eng*, 2022, 6(1): 44–53.
- [53] Cao F, Jin L, Gao Y, *et al.* Artificial-enzymes-armed *Bifidobacterium longum* probiotics for alleviating intestinal inflammation and microbiota dysbiosis[J]. *Nat Nanotechnol*, 2023, 18(6): 617–627.
- [54] Zheng D W, Deng W W, Song W F, *et al.* Biomaterial-mediated modulation of oral microbiota synergizes with PD-1 blockade in mice with oral squamous cell carcinoma[J]. *Nat Biomed Eng*, 2022, 6(1): 32–43.
- [55] Hu Q, Wu M, Fang C, *et al.* Engineering nanoparticle-coated bacteria as oral DNA vaccines for cancer immunotherapy[J]. *Nano Lett*, 2015, 15(4): 2732–2739.
- [56] Zhang Y, Kang R, Zhang X, *et al.* A programmable oral bacterial hydrogel for controllable production and release of nanovaccine for tumor immunotherapy[J]. *Biomaterials*, 2023, 299: 122147. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2023.122147.
- [57] Li Y, Ma X, Yue Y, *et al.* Rapid surface display of mRNA antigens by bacteria-derived outer membrane vesicles for a personalized tumor vaccine[J]. *Adv Mater*, 2022, 34(20): e2109984. DOI: 10.1002/adma.202109984.
- [58] Feng Q, Ma X, Cheng K, *et al.* Engineered bacterial outer membrane vesicles as controllable two-way adaptors to activate macrophage phagocytosis for improved tumor immunotherapy[J]. *Adv Mater*, 2022, 34(40): e2206200. DOI: 10.1002/adma.202206200.
- [59] Qing S, Lyu C, Zhu L, *et al.* Biomineralized bacterial outer membrane vesicles potentiate safe and efficient tumor microenvironment reprogramming for anticancer therapy[J]. *Adv Mater*, 2020, 32(47): e2002085. DOI: 10.1002/adma.202002085.
- [60] Chen L, Qin H, Zhao R, *et al.* Bacterial cytoplasmic membranes synergistically enhance the antitumor activity of autologous cancer vaccines[J]. *Sci Transl Med*, 2021, 13(601): eabc2816. DOI: 10.1126/scitranslmed.abc2816.
- [61] Han S, Lee P, Choi H J. Non-invasive vaccines: challenges in formulation and vaccine adjuvants[J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15(8): 2114. DOI: 10.3390/pharmaceutics15082114.
- [62] Davitt C J H, Lavelle E C. Delivery strategies to enhance oral vaccination against enteric infections[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015, 91: 52–69. DOI: 10.1016/j.addr.2015.03.007.
- [63] Jung C, Hugot J P, Barreau F. Peyer's patches: the immune sensors of the intestine[J]. *Int J Inflam*, 2010, 2010: 823710. DOI: 10.4061/2010/823710.
- [64] Wu F, Liu J. Decorated bacteria and the application in drug delivery[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2022, 188: 114443. DOI: 10.1016/j.addr.2022.114443.
- [65] Anselmo A C, McHugh K J, Webster J, *et al.* Layer-by-layer encapsulation of probiotics for delivery to the microbiome[J]. *Adv Mater*, 2016, 28(43): 9486–9490.
- [66] Truong T T T, Tran T T M, Tran T K C, *et al.* Highly adsorptive removal of molecular diclofenac and bacteria using polycation modified ZnO/SiO₂ nanocomposites[J]. *J Mol Liq*, 2023, 386: 122538. DOI: 10.1016/j.molliq.2023.122538.
- [67] Zheng D W, Li R Q, An J X, *et al.* Probiotics-encapsulated probiotic spores regulate gut microbiota and suppress colon cancer[J]. *Adv*

- Mater*, 2020, 32(45): e2004529. DOI: 10.1002/adma.202004529.
- [68] Luo H, Chen Y, Kuang X, *et al.* Chemical reaction-mediated covalent localization of bacteria[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 7808. DOI: 10.1038/s41467-022-35579-6.
- [69] Wang X, Lin S, Wang L, *et al.* Versatility of bacterial outer membrane vesicles in regulating intestinal homeostasis[J]. *Sci Adv*, 2023, 9(11): eade5079. DOI: 10.1126/sciadv.ade5079.
- [70] Wang L, Liu J. Dopamine polymerization-mediated surface functionalization toward advanced bacterial therapeutics[J]. *Acc Chem Res*, 2024, 57(6): 945–956.
- [71] Lin S, Mukherjee S, Li J, *et al.* Mucosal immunity-mediated modulation of the gut microbiome by oral delivery of probiotics into peyer's patches[J]. *Sci Adv*, 2021, 7(20): eabf0677. DOI: 10.1126/sciadv.abf0677.
- [72] Yang Y, Yang Y, Liu D, *et al.* *In-vivo* programmable acoustic manipulation of genetically engineered bacteria[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 3297. DOI: 10.1038/s41467-023-38814-w.
- [73] Cui M, Pang G, Zhang T, *et al.* Optotheranostic nanosystem with phone visual diagnosis and optogenetic microbial therapy for ulcerative colitis at-home care[J]. *ACS Nano*, 2021, 15(4): 7040–7052.
- [74] Buss M T, Ramesh P, English M A, *et al.* Spatial control of probiotic bacteria in the gastrointestinal tract assisted by magnetic particles[J]. *Adv Mater*, 2021, 33(17): e2007473. DOI: 10.1002/adma.202007473.



【专家介绍】魏伟：中国科学院过程工程研究所研究员，国家杰出青年科学基金获得者（2022），生物药制备与递送重点实验室主任，国家重点研发计划首席科学家，中国科学院基础研究青年团队首席科学家。研究领域主要聚焦于仿生剂型工程，重点基于蛋白、细菌、细胞等天然对象，对载体进行仿生设计，并发展新的制备过程，借助仿生对象体内固有途径实现药物精准递送，应用于抗肿瘤、疫苗、组织修复等领域。目前，以第一/通信作者在 *Nature*, *Nat Nanotechnol*, *Nat Biomed Eng*, *Sci Transl Med*, *Nat Commun*, *Sci Adv*, *Adv Mater*, *JACS* 等期刊发表 SCI 论文 140 余篇，包括 CNS 正刊及子刊系列 17 篇。已授权 3 项国际发明专利和 7 项中国发明专利；1 个剂型完成工艺开发并转让，2 个剂型启动临床个体化治疗研究。获亚洲杰出科研工作者和工程师奖、中源协和生命医学创新突破奖、中国颗粒学会自然科学一等奖、中国科学院卢嘉锡青年人才奖等。



【专家介绍】郑迪威：中国科学院过程工程研究所研究员，生物药制备与递送重点实验室主任助理，湖北省高层次人才，中国科学院过程工程研究所百人（过程杰青），连续入选全球前 2% 顶尖科学家榜单。研究主要聚焦于细菌生物材料及其在重大疾病治疗中的应用。目前以第一/通信作者在 *Nat Biomed Eng*（3 篇），*Nat Commun*（3 篇），*Adv Mater*（6 篇）等期刊发表论文 20 余篇。研究成果获 *Nature*、*Science* 等期刊正面引用和评价，被 *The Scientist* 杂志评为“细菌肿瘤疗法的四大代表性成果之一”，获评中国肠道菌群研究十大成果。曾获中国青少年科技创新奖、中国化学会化学化工与材料京博优秀博士奖铜奖、中国生物材料学会科学技术二等奖、中国生物物理学会纳米生物学分会优秀青年学者、湖北省长江学子、武汉大学十大杰出青年等荣誉。