

# 乳酸菌作为粘膜重组疫苗呈递载体的研究进展

任晟诚<sup>1</sup>, 艾春青<sup>1</sup>, 张秋香<sup>1</sup>, 张 灏<sup>1</sup>, 陈 卫<sup>1,2\*</sup>

(1. 江南大学食品学院, 无锡 214122; 2. 江南大学食品科学与技术国家重点实验室, 无锡 214122)

**摘 要:** 乳酸菌是对人和动物具有多种益生功能的食品级微生物, 被广泛地应用于食品、医药、生物技术等领域。乳酸菌的安全益生特性及乳酸菌基因表达系统研究取得的重大进展, 使得重组乳酸菌黏膜疫苗成为研究的热点。乳酸菌作为黏膜免疫的蛋白呈递载体, 可诱导机体产生有效的免疫反应和免疫耐受, 具有巨大的发展潜力。

**关键词:** 重组乳酸菌; 呈递载体; 黏膜疫苗

## Advances in the field of lactic acid bacteria as delivery vehicles for mucosal recombinant vaccines

REN Cheng-Cheng<sup>1</sup>, AI Chun-Qing<sup>1</sup>, ZHANG Qiu-Xiang<sup>1</sup>, ZHANG Hao<sup>1</sup>, CHEN Wei<sup>1,2\*</sup>

(1. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;

2. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**ABSTRACT:** Lactic acid bacteria (LAB) are food-grade microorganisms, which exert various probiotic roles on the host, and have been widely applied in the fields of food, medicine, and biotechnology. The safety status and probiotic properties of LAB, as well as great strides in the development of LAB gene expression systems render the study of mucosal recombinant LAB vaccines a compelling research area. The use of LAB as protein delivery vectors for mucosal immunization, can effectively elicit both immune response and immune tolerance, and has great potential.

**KEY WORDS:** recombinant lactic acid bacteria; delivery vehicle; mucosal vaccine

## 1 引 言

乳酸菌(lactic acid bacteria, LAB)是能够利用糖类物质产生乳酸的一类革兰氏阳性细菌, 包含乳酸杆菌属、乳酸球菌属、链球菌属、肠球菌属、明串珠菌属、片球菌属和双歧杆菌属等, 应用于传统发酵食品的生产 and 保藏已有悠久的历史<sup>[1]</sup>。乳酸菌是公认安全(generally regarded as safe, GRAS)的食品级微生物,

其对人体健康的促进作用, 如维持胃肠道微生态平衡、促进营养物质吸收、调节免疫系统功能等已得到广泛的研究证实<sup>[2]</sup>。随着近年来乳酸菌分子生物学研究的不断深入, 乳酸菌基因表达系统的研究取得了重大进展, 这使得它成为极具发展潜力的黏膜疫苗传递载体, 将重组表达的生物活性蛋白呈递至机体的粘膜表面, 从而诱导机体产生有效的免疫应答和免疫耐受。目前, 在乳酸菌黏膜疫苗领域, 重组乳酸

基金项目: 国家自然科学基金项目(31200691)

**Fund:** Supported by the National Natural Science Foundation of China (31200691)

\*通讯作者: 陈卫, 博士, 教授, 主要研究方向为食品生物技术。E-mail: chenwei66@jiangnan.edu.cn

\*Corresponding author: CHEN Wei, Professor, School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China. E-mail: chenwei66@jiangnan.edu.cn

杆菌和重组乳酸球菌疫苗的研究最为深入。本文将从乳酸菌粘膜疫苗的优点、重组乳酸菌疫苗的应用研究、疫苗免疫效果的影响因素等方面进行阐述。

## 2 乳酸菌粘膜免疫疫苗的优势

粘膜免疫系统是机体抵御外来微生物入侵的第一道防线,包括肠道相关性淋巴组织(gut-associated lymphoid tissue, GALT)、鼻相关淋巴组织和支气管粘膜相关淋巴组织等,在机体预防感染方面发挥至关重要的作用<sup>[3]</sup>。粘膜免疫操作简便经济,可有效避免如静脉注射等其他免疫途径产生的副反应,同时能诱导机体产生系统性和局部性的免疫反应。

将乳酸菌基因工程菌开发为黏膜疫苗具有诸多显著的优势:第一,乳酸菌安全性高、不产生内毒素、表达的外源蛋白无需纯化,可和菌体一起直接用于免疫治疗,从而降低疫苗的生产成本;第二,乳酸菌作为食品级微生物,是构建食品级基因表达系统的理想菌株,实际应用中的安全性高;第三,某些乳酸菌菌株为益生菌,可对人体发挥多种有益的生理功能,增强黏膜疫苗的免疫调节作用;第四,乳酸菌的一些菌株对机体具有很强的免疫刺激作用,因此可在粘膜疫苗中发挥免疫佐剂效应,从而增强疫苗的免疫效果。

## 3 重组乳酸菌作为粘膜免疫疫苗的应用

乳酸菌的安全特性、益生功能及乳酸菌遗传学研究领域取得的重大突破,实现了抗原、酶类、细胞因子、抗体、过敏原蛋白等一系列外源蛋白分子在乳酸菌中的重组表达<sup>[1]</sup>。同时,动物实验和人体临床实验也验证了基因工程乳酸菌对于多种疾病预防和治疗的有效性。

### 3.1 感染性疾病的防治

早期基因工程乳酸菌领域的研究主要是集中在感染性疾病的防治,目前这方面的研究主要是通过重组乳酸菌表达多种致病性微生物(细菌、真菌、病毒和寄生虫等)的抗原物质进行粘膜免疫的策略来实现。破伤风毒素 C 片段(TTFC)作为早期重组乳酸菌疫苗研究的模式抗原,拉开了基因工程乳酸菌粘膜疫苗研究的序幕。Robinson 和 Norton 等<sup>[4-8]</sup>利用乳酸乳球菌重组表达 TTFC,并探究了不同粘膜免疫途径(口服、鼻饲)和蛋白表达的亚细胞部位(胞内、胞外和

细胞表面)对重组菌免疫效果的影响;动物实验结果表明,重组乳酸乳球菌可有效地刺激机体产生抗 TTFC 的特异性抗体。随后,Grangette 等<sup>[9]</sup>利用植物乳杆菌基因表达系统,构建了重组表达 TTFC 的重组乳杆菌,经鼻饲方式免疫小鼠可诱导产生特异性的抗 TTFC 的体液、粘膜抗体反应和细胞免疫反应。到目前为止,已实现多种细菌病毒抗原,如猪单核细胞增多性李斯特菌素 O(LLO)<sup>[10]</sup>、猪圆环病毒 2 型(PCV2)核衣壳蛋白<sup>[11]</sup>、人乳头瘤病毒 16(HPV-16)E7 抗原<sup>[12]</sup>、轮状病毒 VP7 和 VP8 蛋白<sup>[13, 14]</sup>等在重组乳酸菌中的表达,动物实验结果显示这些重组乳酸菌可增强机体抵抗病原微生物侵袭的能力。其中最引人注目的研究是利用重组乳酸菌防治非典型性肺炎冠状病毒(SARS-CoV)和人类免疫缺陷病毒(HIV)的感染<sup>[15, 16]</sup>。

此外,一些研究者采用乳酸菌基因工程菌重组表达抗体的策略,从而增强机体抵御致病微生物的感染。Beninati 等<sup>[17]</sup>构建可分泌和细胞表面展示表达抗菌型单链抗体 H6 的格氏链球菌,并利用大鼠的阴道炎模型评价疫苗的免疫保护结果。实验表明,两株重组格氏链球菌均可稳定地定植于大鼠的阴道,对白念珠菌引发的阴道炎具有显著的治疗功效。

### 3.2 炎症性肠病的治疗

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种非特异性、慢性、复发性的肠道炎症疾病,包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD),其确切病因目前尚不清楚。近年来,IBD 的发病率在全球范围内有明显上升的趋势,甚至在亚洲等一些传统的低流行地区也显著增加<sup>[18]</sup>,且目前 IBD 的临床治疗效果不理想。白介素 10(IL-10)作为一种重要的调节性细胞因子,其对 IBD 炎症性反应的有效缓解作用已得到临床研究的证实,这使得利用乳酸菌表达 IL-10 用于治疗 IBD 的研究备受关注<sup>[19]</sup>。Steidler 等<sup>[20]</sup>给小鼠灌胃可分泌表达 IL-10 的重组乳酸乳球菌,能显著缓解葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导处理和 IL-10 基因缺陷引发的小鼠肠炎模型中的肠道炎症。而且,针对重组表达 IL-10 的基因工程乳酸乳球菌(LL-Thy12)的 I 期临床试验结果也表明,重组乳酸菌可有效避免系统性免疫的副反应和基因工程菌的“基因污染”问题,可被开发为一种安全、有效的 CD 治疗方案<sup>[21]</sup>。

利用乳酸菌作为疫苗载体向机体的黏膜系统传

送重组表达的抗炎蛋白,如三叶因子(TFF)、来源于致病性假结核耶尔森菌的 LcrV 蛋白,是近年来新型有效的肠炎防治策略<sup>[22,23]</sup>。

### 3.3 速发型过敏性疾病的防治

IgE 介导的速发型过敏反应,又称为 I 型过敏性疾病包括花粉过敏、尘螨过敏和食物过敏等,是以过度的 Th2 型免疫反应为特征的免疫失调性疾病,具有发病率高和发病迅速的特点。目前针对 I 型过敏性疾病尚无特效疗法。过敏原特异性免疫疗法用以诱导机体产生免疫耐受,是目前公认有效的过敏性疾病治疗方法。传统的脱敏治疗方法主要是采用不经胃肠道的方式让过敏患者摄入一定剂量的过敏原粗提物,可能会引发严重的副反应,具有潜在的安全隐患。此外,高纯度过敏原是获得理想免疫治疗效果的前提,但是从天然来源分离纯化获得过敏原蛋白操作繁复、得率低且纯度不高。因此,利用基因重组乳酸菌表达过敏原蛋白,可避免传统大肠杆菌表达系统产物所需的繁复的后续纯化步骤,可直接用于过敏性疾病的免疫治疗,成为乳酸菌黏膜疫苗领域新的研究方向。

大量的前期实验结果表明,重组乳酸菌对  $\beta$ -乳球蛋白(BLG)、卵清蛋白(OVA)和桦树花粉过敏原 Bet v1 等引发的过敏性反应具有有效的免疫调节作用<sup>[24-27]</sup>。在动物的过敏模型中,表达重组过敏原的乳酸菌在体液免疫和细胞免疫水平可逆转机体过敏性的 Th2 型反应向保护性的 Th1 型免疫应答方向转变,从而发挥对过敏性疾病的免疫调节功效。Hazebrouck 等<sup>[25]</sup>发现在对小鼠进行致敏前经鼻饲途径给小鼠免疫可表达 Bet v1 的基因重组植物乳杆菌,能显著降低机体 Th2 型反应(IgE、IL-5)强度,增加 Th1 型抗体(IgG2a)的分泌水平,并且能明显抑制呼吸道中炎症细胞的浸润。但是 Huijbregtse 等<sup>[26]</sup>研究者用分泌表达 OVA 的重组乳酸乳球菌口服免疫 DO11.10 转基因小鼠,可有效地促进 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>调节性 T 细胞的产生,从而成功诱导 OVA 特异性的免疫耐受。此外,一些研究者证实了重组表达调节性细胞因子 IL-10 的乳酸乳球菌可有效预防牛乳过敏的发生,为重组乳酸菌防治过敏性疾病的研究提供了新思路。将上述重组菌灌胃处理小鼠,可显著抑制 BLG 引发的过敏症的发生,降低血清中 Th2 型抗体(IgE 和 IgG1)水平,并且在肠道中可诱导产生保护性的 IgA 抗体<sup>[28]</sup>。

### 3.4 自身免疫性疾病的控制

动脉粥样硬化被认为是一种以过度产生 Th1 型免疫反应为临床特点的、复杂的自身免疫性疾病。之前的研究显示,热休克蛋白(heat shock protein, Hsp)家族与动脉粥样硬化的诱发有着极其密切的关系。基于此,Hou 等<sup>[29]</sup>构建了可在胞内、分泌表达来源于结核分枝杆菌的热休克蛋白 65(Hsp65)的重组乳酸乳球菌,利用小鼠的低密度脂蛋白受体缺陷(LDL-RD)模型评价其免疫保护效果;实验结果表明,口服免疫两株重组菌均可刺激机体产生抗炎细胞因子 IL-10,抑制 Th1 型细胞因子 IFN- $\gamma$  的分泌,诱导机体产生 Hsp65 特异性免疫耐受,从而有效抑制内皮细胞损伤等动脉粥样硬化病变的发生。

## 4 影响重组乳酸菌黏膜疫苗免疫效果的因素

### 4.1 疫苗载体菌株的选择

目前,乳酸菌黏膜疫苗领域的研究主要集中在重组乳酸杆菌和重组乳酸球菌疫苗的研究。研究者们已成功利用乳酸乳球菌、植物乳酸菌、干酪乳杆菌等作为疫苗载体制备黏膜疫苗应用于多种疾病的防治。一些研究表明,疫苗载体菌株的不同会影响重组乳酸菌疫苗的免疫效果<sup>[4,9]</sup>,这主要是由于不同乳酸菌在胃肠道存活率、体内定植状况、免疫调节功效及其与 GALT 的作用方式等方面均存在差异。疫苗载体菌株的体内存活率和定植情况影响重组乳酸菌向粘膜表面释放重组蛋白的方式和能力;不同乳酸菌菌株对宿主的免疫调节能力迥异,因而作为疫苗载体将发挥不同的疫苗佐剂效应;载体菌株与 GALT 的作用方式将影响重组乳酸菌及其表达的异源蛋白与胃肠道的相互作用,从而影响重组疫苗的免疫有效性。

乳酸乳球菌不属于人和动物的共生菌群,不能定植于胃肠道,自身免疫原性低,可进行多次免疫,避免因长期定植产生的免疫耐受。而植物乳杆菌、干酪乳杆菌等乳酸杆菌可定植于胃肠道,耐受胃酸和胆盐的能力更强,能更好地在消化道存活,且菌体自身具有较强的免疫刺激功效,因此能增强黏膜疫苗引发的免疫反应强度。总之,我们应根据实际的免疫需要选择适宜的乳酸菌菌株作为疫苗呈递载体,从而获得最理想的疫苗保护效果。

### 4.2 异源蛋白表达方式及表达量

研究表明,当表达的外源蛋白种类和免疫策略

一定时,蛋白表达量的高低影响引发的免疫反应强度,且蛋白表达量过低会导致疫苗免疫后无应答<sup>[30]</sup>。Lee等<sup>[30]</sup>用可在胞内表达幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)尿素酶B亚单位(ureB)的重组乳酸乳球菌免疫小鼠,不能诱导机体产生有效的特异性抗体反应。因此,可能存在诱导机体产生有效免疫应答所需的阈值蛋白量。

目前乳酸菌的异源表达载体主要是采用组成型和诱导型启动子,从而实现了目的蛋白的不同表达方式。从乳酸菌中分离得到的P59、P32、P23组成型启动子已被成功地用于pVE5523、pMG36e和pOri23等多种组成型表达载体的构建<sup>[31-34]</sup>。组成型启动子可保证外源基因持续、恒定的表达水平,而诱导型启动子在诱导物的刺激作用下,可实现基因可控、高效地表达。目前,已构建的乳酸菌诱导型表达系统包括PH诱导表达系统、金属离子诱导表达系统、糖诱导表达系统和乳酸链球菌素(Nisin)诱导表达系统(NICE)等,其中研究最成熟、应用最广泛的是NICE系统<sup>[35]</sup>。目的蛋白的不同表达方式会导致重组表达蛋白被呈递至机体黏膜系统的方式也存在差异。一般而言,诱导型表达系统的蛋白表达量显著高于组成型系统,从而影响疫苗的免疫效应。Bermudez-Humaran等<sup>[36]</sup>利用乳酸菌乳球菌的组成型和诱导型基因表达系统重组表达HPV-16 E7抗原,诱导型重组菌中HPV-16 E7抗原的表达量较高,经鼻饲免疫小鼠可引发更显著的特异性细胞免疫反应。

#### 4.3 蛋白表达的亚细胞部位

目前为止,外源蛋白可在乳酸菌的不同亚细胞位置(胞内、胞外、细胞表面)进行重组表达,并且蛋白的最终表达部位对重组疫苗免疫效应的影响作用已得到广泛的研究证实<sup>[5, 10, 13, 14, 29]</sup>。然而,不同研究中获得最佳免疫效果的最优表达位置不尽相同: Perez等<sup>[14]</sup>将轮状病毒VP7抗原在乳酸乳球菌中以胞内、分泌和锚定方式进行重组表达,用重组菌免疫小鼠后发现,胞内表达菌株的免疫保护效果优于分泌和锚定方式疫苗;但在Norton等<sup>[5]</sup>的研究中,与胞内和分泌表达方式的重组乳酸乳球菌相比,锚定表达TTFC的重组菌可引发更有效的免疫效应。这些差异性的研究结果可能与重组表达蛋白的种类,疫苗的免疫策略等因素有关。上述三种蛋白表达位置具有各自的优缺点:胞内表达蛋白在细胞内积累,只有当菌

体死亡裂解后才能被释放至粘膜免疫系统,因此可有效避免消化道对蛋白的降解作用;有些外源蛋白在胞内持续高效的表达可能会对宿主细胞产生毒害作用,分泌表达方式可及时将表达的蛋白分泌至细胞外,可有效地防止这种毒害作用的发生,并且分泌表达可显著提高外源蛋白的表达量;将蛋白展示表达于菌体表面,使得蛋白可直接接触粘膜系统,从而提供更好的免疫保护效率;但分泌和细胞壁锚定表达可能会导致重组蛋白容易在胃肠道被降解。因此,在具体的研究中应综合考虑目的蛋白的性质、宿主菌株和疫苗免疫方式等多方面因素,选择最适宜的表达位置。

#### 4.4 疫苗的黏膜免疫方式

消化道免疫和鼻腔免疫是目前重组乳酸菌疫苗使用最为广泛的黏膜免疫方式,之前的研究表明乳酸菌疫苗接种方式是影响其免疫效果的关键因素。免疫途径将直接影响重组菌株进行抗原呈递的具体免疫通路,从而影响产生的免疫效应。口服方式是将药物经胃传送至消化道,由于受到胃肠道中酸、胆盐和消化酶类物质的作用可能会降低药物的生物利用率,因此通常需要较高的免疫剂量;而鼻饲方式是将药物经鼻腔黏膜免疫系统呈递至肺部,可有效避免胃肠道的降解作用,使得药物具有较高的生物利用率,因此一般所需的免疫剂量较少。此外,由于鼻腔容量的限制,鼻腔免疫对于免疫剂量具有一定的限制;通常鼻饲方式代谢药物的速度较口服方式更快,因此能更迅速地发挥疫苗保护效果<sup>[37-40]</sup>。经消化道和鼻腔免疫均可有效诱导机体的免疫应答;然而就同一种重组菌株而言,两种接种方式产生的免疫效果存在差异。Daniel等<sup>[41]</sup>通过口服和鼻饲方式给小鼠接种可重组表达假结核耶尔森菌LcrV蛋白的乳酸菌疫苗,结果表明与口服途径相比,鼻饲疫苗可更有效地诱导机体产生系统性和局部性的免疫应答,增强机体抵御假结核耶尔森菌感染的能力。

乳酸菌粘膜疫苗以何种途径进行免疫最佳目前尚无定论,并且针对两种免疫方式的比较研究得到的结果也存在差异<sup>[41-44]</sup>。Daniel和Cortes-Perez等<sup>[41, 42]</sup>的研究结果表明鼻饲免疫可更有效地诱导产生保护性的免疫应答,而在Cheun和Ramasamy等<sup>[43, 44]</sup>的研究中口服疫苗的免疫效果比鼻饲疫苗更显著。但是值得注意的是,上述研究中不同免疫途径疫苗的免疫

程序(如疫苗免疫量、免疫天数等)不同,使得这些研究中疫苗的免疫效果可能还受到除免疫途径以外的其他免疫因素的影响。因此我们不能直接根据这些研究结果确定最优的疫苗免疫方式。

## 5 结束语

近些年来,尽管在重组乳酸菌黏膜疫苗领域的研究已取得突破性进展,但目前仅有极少数的重组乳酸菌菌株应用于人体的临床实验。乳酸菌作为粘膜疫苗呈递载体的研究还存在很多亟待解决的问题。首先,目前已构建的大多数乳酸菌基因工程疫苗携带抗生素的抗性基因作为载体的选择标记,应用在人和动物体内具有很大的安全隐患,因此迫切需要构建高效、安全的食品级表达系统。其次,由于目前技术手段的限制,针对重组乳酸菌疫苗的研究多是着眼于表观免疫效果的评价,而对于重组疫苗进入机体后的存活率、目的蛋白在体内的原位表达情况及生物活性、菌体及重组蛋白与黏膜免疫系统的相互作用的研究甚少,这使得重组乳酸菌疫苗的应用具有很大的盲目性,极大地阻碍了该领域的飞跃性发展。另外,一些已构建的乳酸菌疫苗的免疫有效性低,因此通过优化重组乳酸菌的表达策略、开发有效的免疫佐剂等来提高疫苗的免疫保护效果将成为未来研究的热点。

总之,随着乳酸菌原核表达系统、乳酸菌疫苗作用机制等方面研究的逐步深入,重组乳酸菌在医疗保健和功能食品等领域将具有广阔的应用前景和巨大的商业潜力。

## 参考文献

- [1] Daniel C, Roussel Y, Kleerebezem M, *et al.* Recombinant lactic acid bacteria as mucosal biotherapeutic agents [J]. Trends Biotechnol, 2011, 29(10): 499–508.
- [2] 任大勇, 李昌, 秦艳青, 等. 乳酸菌益生功能及作用机制研究进展[J]. 中国兽药杂志, 2011, 45(2): 47–50.  
Ren DY, Li C, Qin YQ, *et al.* Development review on healthy function and potential mechanisms of lactic acid bacteria [J]. Chin J Vet Drug, 2011, 45(2): 47–50.
- [3] 李国平, 杨恬. 粘膜免疫系统研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2001, 17(6): 594–596.  
Li GP, Yang T. Advances in the study of mucosal immune system [J]. J Cell Mol Immunol, 2001, 17(6): 594–596.
- [4] Robinson K, Chamberlain LM, Schofield KM, *et al.* Oral vaccination of mice against tetanus with recombinant *Lactococcus lactis* [J]. Nat Biotech, 1997, 15(7): 653–657.
- [5] Norton PM, Brown HWG, Wells JM, *et al.* Factors affecting the immunogenicity of tetanus toxin fragment C expressed in *Lactococcus lactis* [J]. FEMS Immunol Med Mic, 1996, 14(2–3): 167–177.
- [6] Norton PM, Wells JM, Brown HW, *et al.* Protection against tetanus toxin in mice nasally immunized with recombinant *Lactococcus lactis* expressing tetanus toxin fragment C [J]. Vaccine, 1997, 15(6–7): 616–619.
- [7] Robinson K, Chamberlain LM, Lopez MC, *et al.* Mucosal and cellular immune responses elicited by recombinant *Lactococcus lactis* strains expressing tetanus toxin fragment C [J]. Infect Immun, 2004, 72(5): 2753–2761.
- [8] Wells JM, Wilson PW, Norton PM, *et al.* *Lactococcus lactis*: high-level expression of tetanus toxin fragment C and protection against lethal challenge [J]. Mol Microbiol, 1993, 8(6): 1155–1162.
- [9] Grangette C, Müller-Alouf H, Goudercourt D, *et al.* Mucosal immune responses and protection against tetanus toxin after intranasal immunization with recombinant *Lactobacillus plantarum* [J]. Infect Immun, 2001, 69(3): 1547–1553.
- [10] Bahey-El-Din MCP, Griffin BT, Gahan CGM, *Lactococcus lactis*-expressing listeriolysin O (LLO) provides protection and specific CD8+ T cells against *Listeria monocytogenes* in the murine infection model [J]. Vaccine, 2008, 26(41): 5304–5314.
- [11] Wang K, Huang LH, Kong J, *et al.* Expression of the capsid protein of porcine circovirus type 2 in *Lactococcus lactis* for oral vaccination [J]. J Virol Methods, 2008, 150(1–2): 1–6.
- [12] Cortes-Perez NG, Bermúdez-Humarán LG, Le Loir Y, *et al.* Mice immunization with live lactococci displaying a surface anchored HPV-16 E7 oncoprotein [J]. FEMS Microbiol Lett, 2003, 229(1): 37–42.
- [13] Marelli B, Perez AR, Banchio C, *et al.* Oral immunization with live *Lactococcus lactis* expressing rotavirus VP8\* subunit induces specific immune response in mice [J]. J Virol Methods, 2011, 175(1): 28–37.
- [14] Perez CA, Eichwald C, Burrone O, *et al.* Rotavirus vp7 antigen produced by *Lactococcus lactis* induces neutralizing antibodies in mice [J]. J Appl Microbiol, 2005, 99(5): 1158–1164.
- [15] Lee JS, Poo H, Han DP, *et al.* Mucosal immunization with surface-displayed severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein on *Lactobacillus casei* induces neutralizing antibodies in mice [J]. J Virol, 2006, 80(8): 4079–4087.
- [16] Xin KQ, Hoshino Y, Toda Y, *et al.* Immunogenicity and protective efficacy of orally administered recombinant

- Lactococcus lactis* expressing surface-bound HIV Env [J]. Blood, 2003, 102(1): 223–228.
- [17] Beninati COM, Boccanera M, Spinosa MR, *et al.* Therapy of mucosal candidiasis by expression of an anti-idiotypic in human commensal bacteria [J]. Nat Biotechnol, 2000, 18(10): 1060–1064.
- [18] Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, *et al.* Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review [J]. Gastroenterol, 2012, 142(1): 46–54.
- [19] 顾秋平, 白爱平. 白介素-10 与炎症性肠病[J]. 世界华人消化杂志, 2011, 19(1): 57–61.  
Gu QP, Bai AP. Interleukin-10 and inflammatory bowel disease [J]. World Chin J Digestol, 2011, 19(1): 57–61.
- [20] Steidler L, Hans W, Schotte L, *et al.* Treatment of murine colitis by *Lactococcus lactis* secreting interleukin-10 [J]. Science, 2000, 289(5483): 1352–1355.
- [21] Braat H, Rottiers P, Hommes DW, *et al.* A phase I trial with transgenic bacteria expressing interleukin-10 in Crohn's disease [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2006, 4(6): 754–759.
- [22] Foligne B, Dessein R, Marceau M, *et al.* Prevention and treatment of colitis with *Lactococcus lactis* secreting the immunomodulatory yersinia lcrv protein [J]. Gastroenterology, 2007, 133(3): 862–874.
- [23] Vandenbroucke K, Hans W, Van Huisse J, *et al.* Active delivery of trefoil factors by genetically modified *Lactococcus lactis* prevents and heals acute colitis in mice [J]. Gastroenterology, 2004, 127(2): 502–513.
- [24] Adel-Patient K, Ah-Leung S, Creminon C, *et al.* Oral administration of recombinant *Lactococcus lactis* expressing bovine  $\beta$ -lactoglobulin partially prevents mice from sensitization [J]. Clin Exp Allergy, 2005, 35(4): 539–546.
- [25] Hazebrouck S, Oozeer R, Adel-Patient K, *et al.* Constitutive delivery of bovine  $\beta$ -lactoglobulin to the digestive tracts of gnotobiotic mice by engineered *Lactobacillus casei* [J]. Appl Environ Microbiol, 2006, 72(12): 7460–7467.
- [26] Huijbregtse IL, Snoeck V, de Creus A, *et al.* Induction of ovalbumin-specific tolerance by oral administration of *Lactococcus lactis* secreting ovalbumin [J]. Gastroenterol, 2007, 133(2): 517–528.
- [27] Daniel C, Repa A, Wild C, *et al.* Modulation of allergic immune responses by mucosal application of recombinant lactic acid bacteria producing the major birch pollen allergen Bet v 1 [J]. Allergy, 2006, 61(7): 812–819.
- [28] Frossard CP, Steidler L, Eigenmann PA, *et al.* Oral administration of an IL-10-secreting *Lactococcus lactis* strain prevents food-induced IgE sensitization [J]. J Allergy Clin Immunol, 2007, 119(4): 952–959.
- [29] Hou J, Lu Y, Liu HY, *et al.* Oral administration of *Lactococcus lactis* delivered heat shock protein 65 attenuates atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice [J]. Vaccine, 2011, 29(24): 4102–4109.
- [30] Lee MH, Roussel Y, Wilks M, *et al.* Expression of *Helicobacter pylori* urease subunit B gene in *Lactococcus lactis* MG1363 and its use as a vaccine delivery system against *H. pylori* infection in mice [J]. Vaccine, 2001, 19(28–29): 3927–3935.
- [31] Van der Vossen JM, Van der Lelie D, Venema G. Isolation and characterization of *Streptococcus cremoris* Wg2-specific promoters [J]. Appl Environ Microbiol, 1987, 53(10): 2452–2457.
- [32] Dieye Y, Usai S, Clier F, *et al.* Design of a protein-targeting system for lactic acid bacteria [J]. J Bacteriol, 2001, 183(14): 4157–4166.
- [33] Van de Guchte M, Van der Vossen JM, Kok J, *et al.* Construction of a lactococcal expression vector: expression of hen egg white lysozyme in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* [J]. Appl Environ Microbiol, 1989, 55(1): 224–228.
- [34] Que YA, Haefliger JA, Francioli P, *et al.* Expression of *Staphylococcus aureus* clumping factor A in *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* using a new shuttle vector [J]. Infect Immun, 2000, 68(6): 3516–3522.
- [35] 曾珠, 陈丽丽, 左芳雷, 等. 乳酸菌中糖诱导的基因表达研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2013, 33(10): 131–137.  
Zeng Z, Chen LL, Zuo FL, *et al.* Advance in lactic acid bacteria sugar-induced gene expression [J]. China Biotechnol, 2013, 33(10): 131–137.
- [36] Bermudez-Humaran LG, Cortes-Perez NG, Le Loir Y, *et al.* An inducible surface presentationsystem improves cellular immunity against human papillomavirus type 16 E7 antigen in mice after nasal administration with recombinant lactococci [J]. J Med Microbiol, 2004, 53(Pt 5): 427–433.
- [37] Costantino HR, Illum L, Brandt G, *et al.* Intranasal delivery: Physicochemical and therapeutic aspects [J]. Int J Pharm, 2007, 337(1–2): 1–24.
- [38] Dey S, Mahanti B, Mazumder B, *et al.* Nasal drug delivery: An approach of drug delivery through nasal route [J]. Der Pharmacia Sinica, 2011, 2(3): 94–106.
- [39] Pires A, Fortuna A, Alves G, *et al.* Intranasal drug delivery: How, why and what for [J]. J Pharm Pharm Sci, 2009, 12(3): 288–311.
- [40] Türker S, Onur E, Özer Y. Nasal route and drug delivery systems [J]. Pharm World Sci, 2004, 26(3): 137–142.
- [41] Daniel C, Sebbane F, Poiret S, *et al.* Protection against *Yersinia*

*pseudotuberculosis* infection conferred by a *Lactococcus lactis* mucosal delivery vector secreting LcrV [J]. *Vaccine*, 2009, 27(8): 1141–1144.

[42] Cortes-Perez NG, Lefèvre F, Corthier G, *et al.* Influence of the route of immunization and the nature of the bacterial vector on immunogenicity of mucosal vaccines based on lactic acid bacteria [J]. *Vaccine*, 2007, 25(36): 6581–6588.

[43] Ramasamy R, Yasawardena S, Zomer A, *et al.* Immunogenicity of a malaria parasite antigen displayed by *Lactococcus lactis* in oral immunisations [J]. *Vaccine*, 2006, 24(18): 3900–3908.

[44] Cheun HI, Kawamoto K, Hiramatsu M, *et al.* Protective immunity of SpaA-antigen producing *Lactococcus lactis* against *Erysipelothrix rhusiopathiae* infection [J]. *J Appl Microbiol*, 2004, 96(6): 1347–1353.

(责任编辑: 张宏梁)

### 作者简介



任晟诚, 博士研究生, 主要研究方向为食品生物技术。  
E-mail: ccren0508@gmail.com



陈卫, 博士, 教授, 主要研究方向为食品生物技术。  
E-mail: chenwei66@jiangnan.edu.cn

## “乳制品质量与安全”专题征稿

乳制品以其丰富的营养成分, 被认为是最理想、最接近于母乳的完美天然食品。随着人们生活水平的提高, 乳制品已经由原来个别群体的营养保健品转变为面向大众消费的食品, 乳品业得到了长足的发展, 取得了巨大的成就, 然而日益激烈的市场竞争使得国内外乳品企业屡现食品安全问题, 如三聚氰胺毒奶粉事件、安徽阜阳劣质奶粉事件, 金黄色葡萄球菌污染乳制品引起食物中毒事件以及困扰我国乳业发展的牛奶掺假现象等, 表明乳制品安全问题不容忽视, 如何解决我国乳制品安全问题, 成为科学工作者关注的热点。

鉴于此, 本刊特别策划了“**乳制品质量与安全**”专题, 由北京工商大学的**杨贞耐教授**担任专题主编, 围绕**乳制品产业发展现状、国内外乳制品质量检测标准、乳制品中有毒有害物质的检测方法、新型乳制品的开发研究、生物技术在乳制品中的应用等**或您认为本领域有意义的问题进行论述, 计划在 2014 年 5 月份出版。

《食品安全质量检测学报》编辑部