

益生菌抑制 *N*-亚硝基化合物诱发结肠癌的研究进展

王淑梅^{1,2}, 张兰威¹, 薛朝辉³, 李洪波⁴, 孙宇², 迟治平²

(1. 东北农业大学食品学院, 黑龙江哈尔滨 150030) (2. 哈尔滨学院工学院, 黑龙江哈尔滨 150080)

(3. 南阳理工学院生化学院, 河南南阳 473004) (4. 天津科技大学食品学院, 天津 300457)

摘要: 结肠癌是威胁人类健康和生命的高发性恶性肿瘤。结肠癌的发病是多因素相互协同作用的结果, 因此, 结肠癌的预防和治疗都面临诸多困境。目前, 临床上用于治疗人结肠癌的药物很多, 但均有不同程度的副作用。因此, 研究人员一直致力于研发新型、无毒副作用的结肠癌靶向治疗药物。目前研究已证实富含益生菌的发酵食品在人体内可降低癌症的发病率, 并对结肠的癌变有一定的保护作用。在体外实验研究中, 益生菌已显示出显著的抗结肠癌功效; 而在动物体内实验研究中, 益生菌也减弱了致癌物对结肠组织细胞的遗传毒性损伤。*N*-亚硝基化合物是一类已被证实可致癌的物质, 普遍存在于加工肉类食物中, 过多地摄入会增加人患结肠癌的几率。因此, 本文就此探讨了益生菌抑制由食源性致癌物 (*N*-亚硝基化合物) 诱发结肠癌的作用。

关键词: 益生菌; 结肠癌; 致癌物; *N*-亚硝基化合物

文章编号: 1673-9078(2017)4-306-314

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.4.047

Research Progress on the Inhibitory Effects of Probiotics on *N*-nitroso Compound-induced Colon Carcinoma

WANG Shu-mei^{1,2}, ZHANG Lan-wei¹, XUE Chao-hui³, LI Hong-bo⁴, SUN Yu², CHI Zhi-ping²

(1.School of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China) (2.School of Technology, Harbin University, Harbin 150080, China) (3.Nanyang Institute of Technology, Nanyang 473004, China) (4.Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: Colon carcinoma, one of the most prevalent malignant tumors, is a serious threat to human health and life. The incidence of colon cancer is a result of the interaction of multiple factors, so there are many difficulties in the prevention and control of colon carcinoma. Currently, numerous drugs are used in the treatment of colon carcinoma, but they all have varying degrees of adverse effects. Therefore, researchers have been working on the development of new, targeted drugs for colon carcinoma without toxic effects. Previous studies have confirmed that fermented foods enriched with probiotic bacteria can decrease the incidence of cancer and have a certain protective effect against colon carcinoma development. Probiotic bacteria exhibited significant anticancer effects in *in vitro* experiments and also reduced the genotoxicity of carcinogens to colon tissue cells in *in vivo* animal experiments. *N*-nitroso compounds have been confirmed as carcinogenic substances that exist widely in processed meat products, and their excessive intake can increase the risk of colon carcinoma. Therefore, this article discusses the effect of probiotic bacteria on the suppression of colon carcinoma development induced by foodborne carcinogens (*N*-nitroso compounds).

Key words: probiotic; colon carcinoma; carcinogen; *N*-nitroso compounds

结肠癌是威胁人类健康和生命的一类恶性疾病, 其发病率和死亡率均很高。结肠癌在男性癌症发病率中仅次于肺癌和前列腺癌位居第三位, 而在女性癌症

收稿日期: 2016-04-13

基金项目: 国家“十二五”科技 863 资助项目(2011AA100902); 国家自然科学基金资助项目(31271906/G200204); 黑龙江省博士后基金资助项目(LBH-Z15018); 哈尔滨学院青年基金资助项目(HUDF2015-001)

作者简介: 王淑梅(1979-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 食品科学与工程
通讯作者: 张兰威(1961-), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 食品科学与工程

发病率中仅次于肺癌和乳腺癌^[1]。近年来, 随着人们生活水平逐步提高, 高脂肪、高蛋白和低纤维的饮食构成导致人结肠癌的发病率呈上升趋势; 而与此相反, 若人体多摄入蔬菜、水果、谷物类或发酵食品等则可降低结肠癌的发病率。在我国, 结肠癌每年的新增病例高达 40 万, 而全球每年的新增病例约 1000 多万, 如何预防和控制结肠癌的发病已成为今后科研的一项重点。

人结肠癌多数发生在大肠的底部, 在直肠内或者其附近的地方。导致人结肠癌发病的原因很多, 如遗

传、环境和饮食等因素,这些因素通常是协同作用而引发结肠癌。人体结肠微生态系统复杂,是重要代谢器官。肠道内每克内容物中活菌体的数量远大于 10^{11} 个^[2],甚至可达 10^{14} 个,占人体总微生物量的 78%。一般来说,肠道菌群可起到保护结肠的作用,但是当菌群数量减少 50% 以上时,就丧失了保护结肠免受致癌物损伤的能力^[3]。因此,若人体经常摄入一定量益生菌制剂势必对肠道起到保护作用,也抑制了结肠癌的发生。

益生菌是一群生活在机体内并且有益于宿主健康的一类活的微生物,通常是指具有高选择性的乳酸菌 *Lactic acid bacteria* (LAB),定植于人体肠道并起到一定的益生作用。其中乳酸杆菌和双歧杆菌是益生菌的最重要成员,两者不仅是人体生理性细菌^[3],对宿主无致病性^[4],而且摄入一定量时还可维持宿主肠道健康^[5],预防或抑制宿主肠道癌症的发生^[6,7]。早在 20 世纪初,就有研究发现保加利亚人长寿与其长期食用发酵乳制品有关。1978 年首次报道了 *B. infantis* 在小鼠体内具有抗肿瘤功能,此后,大量研究显示人体摄入发酵乳制品或发酵食品对健康有益^[2]。因此,益生菌及其制品得到人们广泛应用,并在提高人体免疫能力和抑制肿瘤发生和生长等方面受到人们高度关注^[8],并为此进行了大量体外研究^[1]和动物体内研究^[9]。

1 N-亚硝基化合物诱导结肠癌的机制

结肠癌的发生是多种原癌基因和抑癌基因相互协同作用的结果^[2,10]。结肠组织发生癌变分子机理复杂,但主要有以下几类:①结肠上皮细胞 DNA 发生损伤,但与修复相关的基因已丧失修复功能,导致了基因错配修复等;②结肠癌变的基因被激活或者过度表达;③抑癌基因发生突变或丢失;④微卫星的不稳定;⑤端粒酶过度表达,细胞无限地进行繁殖;⑥细胞信号转导调控紊乱,细胞凋亡机制障碍等^[11]。结肠癌多发于西方发达国家,流行病学研究显示环境因素是诱发人结肠癌的最主要因素,而且普遍观点认为饮食习惯或者饮食方式是诱发人结肠癌的关键因素^[12]。

1.1 N-亚硝基化合物的分类

1956 年,二甲基亚硝胺被证实有致癌作用^[13]后,至今,已有 300 余种 N-亚硝基类化合物 (NOCs) 被证实可诱发人癌症。NOCs 在自然界中普遍存在,也可由食物中的硝酸盐类和亚硝酸盐类在体内合成。一般来说,NOCS 主要分为两大类,N-亚硝胺和 N-亚硝酰胺^[14]。N-亚硝胺不是直接的致癌物,多为挥发性,对机体器官或组织细胞没有直接的致突变作用;而 N-

亚硝酰胺是直接的致癌物,能直接损伤组织细胞 DNA,摄入后不需代谢活化即可在消化道接触部位水解为活性物质而诱发癌症。

1.2 N-亚硝基化合物诱发结肠癌的机制

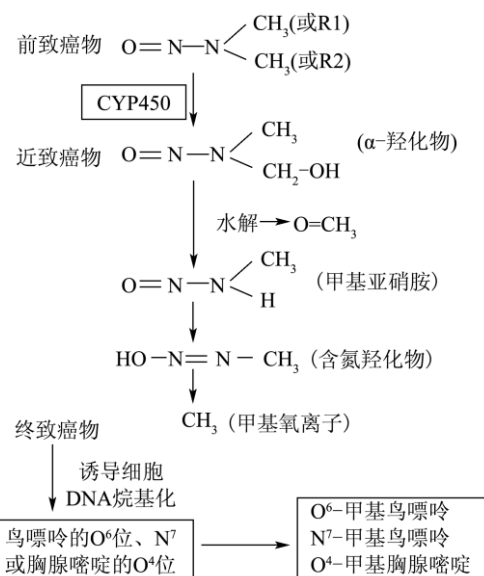


图1 N-亚硝胺化合物致癌作用机理

Figure. 1 Carcinogenic mechanism of N-nitrosamine compounds^[19]

NOCs 是一类烷化剂,具有较强的致癌作用。当其随着食物进入人体后,这些物质就会破坏消化道黏膜系统,对消化道上皮细胞造成损伤,人胃肠道癌症发病率就会明显上升。其诱发癌症机理是使细胞 DNA 发生烷基化损伤,并使已受损伤细胞失去修复 DNA 的能力^[15,16]。细胞 DNA 分子结构异常称为损伤,包括双螺旋链的断裂、DNA 交联、碱基异构化或烷基化等。高含量的 N-亚硝胺在结肠内就可诱发结肠细胞 DNA 损伤^[17],其诱发机制是在体内通过代谢分解产生活性亲电体而诱导结肠细胞 DNA 烷基化 (DNA 中引入烷基,如甲基、乙基等)^[18],见图 1^[19]所示 (R1 和 R2 可以是烷基或环烷基)。由于鸟嘌呤的 O⁶ 或 N⁷ 位、胸腺嘧啶的 O⁴ 位具有较强的亲电性,因此是 N-亚硝胺诱导 DNA 烷基化损伤的重要位点^[20],烷基化形成了 O⁶-甲基鸟嘌呤、N⁷-甲基鸟嘌呤或 O⁴-甲基胸腺嘧啶。Jürg (2013) 指出 N-亚硝胺诱导 DNA 烷基化的主要产物是 N⁷-甲基鸟嘌呤 (约 70%) 和 O⁶-甲基鸟嘌呤 (6~8%),而 O⁴-甲基胸腺嘧啶很少 (约 0.3%)^[18]。虽然烷基化生成的 O⁶-甲基鸟嘌呤不多,但 O⁶-甲基鸟嘌呤具有最强的致基因突变^[18,20]和致癌性^[18]。O⁶-甲基鸟嘌呤通过直接碱基错配而具有前诱变性^[19],而 N⁷-甲基鸟嘌呤会导致鸟嘌呤向胸腺嘧啶的转变 (G→T),继而导致基因的错配。

在食源性*N*-亚硝胺诱导细胞DNA烷基化损伤过程中,细胞色素P450酶系(CYP450)起着重要的活化作用^[18,21,22]。CYP450是一类分子量为46~60 ku的同工酶(存在于肝、肺和肠道等组织内,分布在线粒体内膜或内质网上),参与外源或内源性化合物体内氧化还原或水解等反应,但是一些CYP450酶可活化外源性致癌物^[21]。CYP450的合成受到基因的调控,当编码酶的基因突变就会影响外源致癌物的代谢活性,导致不同类型癌症的易感性^[21]。在人CYP450超基因家族中主要有CYP4501、CYP4502和CYP4503基因家族,其中CYP4502家族中的CYP450 2E1(CYP2E1)参与多种前致癌物*N*-亚硝胺的代谢活化^[18,22,23],而CYP4501家族中的CYP450 1A1(CYP1A1)基因也参与代谢活化多种*N*-亚硝胺。因此,CYP2E1和CYP1A1基因在食源性*N*-亚硝胺诱发人结肠癌变过程中起着重要作用^[21]。

细胞DNA烷基化损伤发生后,如果损伤不能被有效修复就可导致基因的突变。因此,当DNA被诱发损伤时细胞可启动DNA修复机制以抵抗烷化剂的毒性作用。研究表明, O^6 -烷基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶(MGMT)可通过去除鸟嘌呤 O^6 位烷基基团而修复DNA损伤;而3-甲基DNA烷基糖基化酶(AAG)可修复鸟嘌呤 N^7 位、鸟嘌呤 N^3 位、腺嘌呤 N^3 位等的DNA损伤^[18]。MGMT或AAG的含量和活性在基因水平上受多种因素控制,也与外源性作用物相关。因此,调节MGMT或AAG的活性,对降低由食源性*N*-亚硝胺造成的结肠细胞DNA烷基化损伤具有重要意义。

另一方面,当细胞受烷化剂刺激发生DNA损伤时,细胞周期检查点将被激活而引发细胞周期停滞,使细胞有充分时间进行损伤修复,待修复完细胞周期恢复运转。若损伤的DNA不能被有效修复,则细胞自动启动凋亡模式,即已受损细胞诱导凋亡。因此,当烷化剂诱导细胞DNA损伤时,对细胞周期进行阻滞调控可利于进行DNA的有效修复,可达到降低由*N*-亚硝胺造成DNA烷基化损伤的目的。

另外,*N*-亚硝胺所诱发的肿瘤多有明显的器官亲和性。当食源性*N*-亚硝胺随食物进入体内,绝大部分会被肠道下半部所吸收^[19],因此结肠黏膜就成为*N*-亚硝胺发挥毒性作用的靶向组织^[24]。而体内亚硝化反应生成内源*N*-亚硝胺也多发生在小肠腔内,就导致了结肠内的*N*-亚硝胺含量最高。因此,*N*-亚硝胺就成为结肠癌的诱变剂,导致人结肠癌的发病率明显增高^[25,18,26]。

2 *N*-亚硝基化合物的食物来源

人类接触的多种物质中都含有NOCs,如工业产

品(燃料、润滑油、除草剂、杀虫剂或橡胶制品)^[19]、食品、烟草、化妆品或空气中均含有一定量的NOCs^[27],而食物中的NOCs是诱发结肠癌最重要的环境因素。Stuff的报道^[20]就显示,食物如烟熏肉类、加工肉类、啤酒和香肠等NOCs含量较高,过多地摄入这些食物就可诱发人结肠肿瘤。人的饮食习惯确是诱发结肠癌的关键因素,Jenkins等人^[28]早在1986年就已指出高蛋白、高脂肪和低纤维的不均衡饮食结构可诱发人的结肠癌。流行病学研究也显示高能量、高动物脂肪、肉类和低膳食纤维的饮食结构与人结肠癌发病率直接相关^[12]。近年来,随着人们生活水平的提高,相应膳食结构也发生了改变,导致人结肠癌发病率呈上升趋势^[29,30],尤其在美国和英国,加工过的肉类摄入量与人结肠癌发病率有直接关系^[31]。而常吃烧烤、烟熏和腌制类食品也提高了消化道癌症的发病率;与此相反,若多摄入蔬菜、水果和谷物类食物则可降低消化道癌症的发病率^[32]。这均归因于此类食物中NOCs含量极高^[12,15],而NOCs又具有较强的致癌作用,是食源性诱发结肠癌的重要致癌物之一。当人体摄入NOCs后,这些物质就会破坏消化道黏膜系统,对消化道上皮细胞造成损伤,直接引发肠道癌症。

人体肠道黏膜接触的NOCs有来自外源性的NOCs,也有来自肠道内源生成的NOCs^[24]。外源性NOCs主要来源于食物,多见红肉类产品如烟熏肉类、香肠或火腿等^[20]和腌制食品,是在食品生产加工或储存过程中形成的^[33]。研究显示高蛋白食品、熏肉和风干肉等在高温环境下烘烤,潮湿条件下储藏,在饱和氮气条件下烟熏,并用硝酸盐或亚硝酸盐进行处理,就会使其所含NOCs含量增高^[16]。这些在加工过程中产生的亚硝酸盐在体内就转化成NOCs,因此当人接触这些食源性的NOCs时不仅提高粪便NOCs的含量^[34],也在体内诱发结肠癌。而内源性NOCs是由食物(主要是红肉类产品)中的胺、硝酸盐或亚硝酸盐类在肠道内经催化合成^[18]。加工肉类食品制作过程一方面导致外源性*N*-亚硝胺含量增高^[15],另一方面也使内源性*N*-亚硝胺前体物(胺、酰胺和硝酸盐类)含量显著增高^[35],而且也使杂环胺、多环芳烃和血红素铁等物质含量增高,胺、酰胺和硝酸盐等物质是结肠癌的诱变剂^[35],而血红素铁、亚硝酰血红素等是助癌物,当这些物质随食物进入肠道就有助于*N*-亚硝胺的生成^[18]。高含量的*N*-亚硝胺在结肠内即可诱导结肠黏膜细胞DNA的损伤^[17],还可生成NOC-DNA加合物^[36],NOC-DNA加合物可使已受损伤细胞失去修复DNA的能力^[15],导致细胞增殖及分化发生紊乱,最终诱发癌变。因此,加工肉类摄入量与人结肠癌发病率之间

存在直接的关系^[18,26]。

在加工肉食品中存在的外源性 *N*-亚硝胺主要是 *N*-二甲基亚硝胺(NDMA)、*N*-二乙基亚硝胺(NDEA)、*N*-亚硝基吡咯烷 (NPYP) 或 *N*-亚硝基哌啶 (NPIP) 等^[20], 见下表 1^[15]所述。NDMA 和 NDEA 属于二级 A 类致癌物 (较强致癌性), NPYP 和 NPIP 属于二级 B 类致癌物 (一般致癌性)^[27]。*N*-亚硝胺随着食品产地、种类或加工处理方式的不同, 其含量也显著不同。一项调查显示 NDMA 在日本加工干鱿鱼中含量高达 300 μg/kg, 而在中国熏肉中含量仅为 0.3~6.5% μg/kg^[19]。

表 1 *N*-亚硝基化合物的食品来源

Table 1 Food sources of *N*-nitroso compounds^[15]

缩写	化学名称	食品来源
NDMA	<i>N</i> -nitrosodimethylamine	Beer, sausage, cured meats
NDEA	<i>N</i> -nitrosodiethylamine	Sausage, cheese
NPYP	<i>N</i> -nitrosopyrrolidine	Fried bacon, sausage, ham
NPIP	<i>N</i> -nitrosopiperidine	Bologna, sausages
NSAR	<i>N</i> -nitrosarcosine	Cured meats
NPRO	<i>N</i> -nitrosoproline	Fried bacon, cured meats
Nitrosating agents	Nitrate nitrite	Vegetables grains, additive to meats, other foods
Become nitrosated	Amines, amides	Protein foods

3 益生菌对 *N*-亚硝基化合物诱导结肠癌抑制的相关实验研究

表 2 具有抗癌功能的益生菌

Table 2 Probiotics with anticancer effects^[42]

菌名	菌名	菌名
嗜酸乳杆菌	詹森乳杆菌	莱希曼氏乳杆菌
短乳杆菌	草绿色乳杆菌	肠膜明串珠菌肠膜亚种
植物乳杆菌	唾液乳杆菌	干酪乳杆菌乳油亚种
发酵乳杆菌	婴儿双歧杆菌	乳酸链球菌乳酸亚种
格氏乳杆菌	长双歧杆菌	乳酸链球菌乳脂亚种
瑞士乳杆菌	两歧双歧杆菌	德氏乳杆菌保加利亚亚种
纤维二糖乳杆菌	青春双歧杆菌	唾液链球菌嗜热亚种

研究资料证实富含益生菌的发酵食品在人体内可降低结肠癌的发病率, 并对结肠的癌变有一定保护作用^[39]。至今, 人们对益生菌抑制癌症的相关研究很多, 但是真正具有抗癌功能的益生菌菌株却并不多^[38], 而且主要是乳杆菌和双歧杆菌。本课题组前期研究成果显示具有抗癌功能的益生菌涉及到干酪乳杆菌 (分离自新疆传统发酵乳酪的 *L. casei* X11, 分离自西藏传统酸乳酒的 *L. casei* K14)^[39]、副干酪乳杆菌 (分离自新疆传统马奶酒的 *L. paracasei* subsp. *paracasei* M5^[39-41], 分离自新疆传统发酵乳酪的 *L. paracasei*

除加工肉类之外, Stuff 等人^[15,16]的研究显示多种食物中都含有一定量 NOCs (见上表 1^[15]中所述), 如泡菜等腌渍类食品中亚硝酸盐类物质含量均很高。2007 年, 世界癌症研究基金会 (WCRF) 和美国癌症研究协会 (AICR) 均强调加工肉产品的摄入提高了人结肠癌的发病率^[36], 其主要原因就是红肉或腌制食品的高摄入量^[26,18], 而 NOCs 就是存在于红肉和腌制类食品中最重要致癌物之一, 因此, 表 1 中食物的摄入量与人结肠癌发病率密切相关。

subsp. *paracasei* X12^[39], 分离自甘肃传统发酵食品的 *L. paracasei* subsp. *paracasei* J23 与 *L. paracasei* subsp. *paracasei* G15)^[41]、鼠李糖乳杆菌 (分离自甘肃牦牛乳的 *L. rhamnosus* SB5 与 *L. rhamnosus* SB31, 分离自甘肃传统发酵食品的 *L. rhamnosus* J5)^[41]、棒状乳杆菌 (分离自西藏传统牦牛乳酪的 *L. coryniformis* subsp. *torquens* T3)^[41]等。表 2^[42]中所列出的就是目前已证实的, 具有抗肿瘤功能的益生菌菌株。

目前的研究显示益生菌主要是通过其菌体细胞、菌体成分或菌体发酵液中代谢产物等来发挥其重要益生功能的。作者所在课题组关于益生菌的研究就显示 *L. paracasei* subsp. *paracasei* M5^[43,39,40,41]、*L. paracasei* subsp. *paracasei* J23、*L. paracasei* subsp. *paracasei* G15, *L. coryniformis* subsp. *torquens* T3 和 *L. rhamnosus* J5、*L. rhamnosus* SB5、*L. rhamnosus* SB31 的菌体细胞及细胞壁均有抑制人结肠癌 HT-29 细胞增殖的能力^[43,39,40,41]。此结果与 Franceschi 报道的 *Bifidobacteria*、*Lactobacilli*、*Saccharomyces boulardii*、*Bacillus clausii* 发挥抗癌作用结论一致^[44]。另外, 本课题组研究也显示 *L. paracasei* subsp. *paracasei* M5、*L. paracasei* subsp. *paracasei* X12 和 *L. casei* K14 的细胞壁可诱导 HT-29 细胞发生凋亡^[39,45], 而 *L. paracasei* subsp. *paracasei* M5 的活菌体细胞及热致死菌体还可通过对 HT-29 细胞周期阻滞来诱导癌细胞凋亡, 诱导

了钙网蛋白(CRT)从内质网易位到细胞膜表面,同时伴有胞内活性氧的堆积^[40]。*L. paracasei* subsp. *paracasei* M5 和 *L. paracasei* subsp. *paracasei* X12 的肽聚糖也具有抗癌功能,抑制了 HT-29 细胞增殖,并通过激活凋亡线粒体途径诱导 HT-29 细胞凋亡^[46]。这些结果均说明在体外细胞实验研究中益生菌具有一定抗癌功效,但目前尚不明确益生菌抗癌的详细机制,而且也缺乏体内及临床研究的支撑与验证。

综合益生菌抗癌作用相关研究,得出益生菌培养液成分^[47]、菌体细胞^[43,48]、热致死细胞^[40,41,49,50]、细胞壁成分^[7,39,40,41,51]、细胞质成分^[7,39,50,51]、菌体 DNA^[41]、菌体发酵产物^[8]和其他菌体成分^[7,48,50],抑制了结肠癌细胞系 Caco-2^[48]、HT-29^[40,41,49]和 SNU-C2A^[50]的生长,并且使癌细胞进入分化阶段,从而起到抑制结肠癌的功效。

NOCs 是在油炸、烧烤、烤肉或烤鱼等过程中形成,流行病学研究早已证实红肉或加工肉类与结肠癌发病有一定相关性。Faghfoori 报道就显示,每日摄入红肉达 50 g 以上的人群易于引发结肠癌,而益生菌对 NOCs 诱发结肠的癌变有一定抑制作用^[52]。研究显示人在接触致癌物之前摄入一定量益生菌对人体起到一定的保护作用^[53]。实验小鼠在接触致癌物之前摄入 *Lactobacillus* GG 和保加利亚酸乳^[54]就减少了结肠癌发病率。而对已用 NOCs (1,2-二甲基胍)诱发肠道癌的小鼠喂食乳酸杆菌制品,也有明显的抑癌作用。相似的研究如双歧杆菌可以抑制由亚硝基化合物诱发的大鼠结肠癌^[55];乳杆菌可抑制 *N*-methylnitrosurea (NMU) 诱导的 C57/BL6 小鼠结肠癌^[44]; *L. casei shirota* 可抑制由 *N*-亚硝基胍诱导的小鼠结肠 DNA 损伤^[37]; *L. acidophilus* 的活菌体细胞可抑制致癌物对组织细胞的毒性损伤^[56];产过氧化氢酶乳酸菌^[57]、*Enterococcus faecium* CRL 183^[58]、双歧杆菌肽聚糖、嗜酸乳杆菌^[59]、*Lactobacillus acidophilus* 的发酵液和 *Lactobacillus bulgaricus* 191R 菌株均能抑制由 1,2-二甲胍诱发的小鼠结肠癌和引发的细胞遗传毒性^[56]。

益生菌也会使动物尿液中对结肠细胞有害的遗传毒性成分减少^[2],如摄入益生菌 *Lactobacillus reuteri* DDL 19、*Lactobacillus alimentarius* DDL 48、*Enterococcus faecium* DDE 39 和 *Bifidobacterium bifidum* DDBA 也可减少实验动物致癌细菌酶的含量,抑制致癌物的致突变作用,并降低了肠道癌发病率。这种抗诱变作用与益生菌作用浓度呈正相关,而且混合作用的益生菌抗诱变能力好于单独作用的益生菌^[60]。益生菌还能结合、吸附或降解 *N*-亚硝胺,降低其在肠道内的遗传毒性作用,如鼠李糖乳杆菌、干酪乳

杆菌可耐受高浓度 *N*-亚硝胺的毒性损伤,在浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 NDMA 条件下仍能生长存活达 168 h,这延长了益生菌在结肠内与 *N*-亚硝胺的作用时间,利于益生菌发挥保护结肠黏膜的作用,减小了人患结肠癌的风险^[61]。但也有研究显示这种对致癌物结合或降解是可逆的,结合稳定性随菌株种类、环境温度和条件的变化而变化,在适当条件下可发生逆转^[62]。Pool-Zobel 在 1993 和 1996 年分别指出热致死菌株 *L. acidophilus* 就丧失了保护结肠免受亚硝基致癌物 MNNG 和 DMH 损伤的能力^[63,64]。Tanabe 等人在 1994 年的研究也显示随着模拟肠液中胰酶和胆盐浓度的增加,乳酸菌结合杂环胺能力则呈线性下降;当胆盐浓度升高到一定程度时,乳酸菌则不再结合杂环胺类物质^[65]。由于人体结肠环境复杂,微生物菌群数量繁多,这些体外研究结果也不能完全代表人结肠真正的代谢环境^[2]。因此,保持人体肠道微生物生态系统的稳定是益生菌发挥抑癌功效的关键因素。

4 益生菌对 *N*-亚硝基化合物诱发结肠癌抑制作用机制

一般来说,益生菌是通过几个途径来实现抑制结肠癌功能的:①改变人体胃、肠道菌群的代谢活性;②改变宿主结肠的理化特性^[66];③在结肠内结合或降解潜在的致癌物质^[66];④可以与其他微生物或病原体直接发生作用,改变宿主肠道微生物菌群的种类或数量;⑤益生菌菌体或其代谢产生抗肿瘤或抗诱变的物质,如本课题组的研究成果就显示分离自中国西部传统食品的益生菌活菌体细胞^[41,42,43]、热致死菌体细胞^[40,41]、细胞壁^[39,41]、细胞质^[39]、菌体 DNA^[41]或其代谢产物等都能起到抑癌作用;⑥起到免疫屏障保护作用,调节机体免疫系统。作者所在实验室前期研究成果也显示,分离自中国西部传统发酵乳制品和婴儿粪便的益生菌活菌体、细胞壁和菌体 DNA 在体外可促进免疫因子的释放,具有调节机体免疫的功能^[67];⑦对宿主生理代谢产生影响^[9,37]。益生菌的这些功能最终体现在保护机体免受感染,预防癌症的发生和维持肠道内环境的稳定等方面^[68]。

由于 *N*-亚硝胺是一类烷化剂,高含量的 *N*-亚硝胺在结肠内就可诱发结肠细胞 DNA 损伤,其诱变机制是在体内通过代谢分解产生活性亲电体而诱导结肠细胞 DNA 烷基化;另一方面,当细胞受烷化剂刺激发生 DNA 损伤时,细胞周期检查点将被激活而引发细胞周期停滞,使细胞有充分时间进行损伤修复,待修复完细胞周期恢复运转。因此,当烷化剂诱导细胞 DNA 损

伤时,促进受损细胞的DNA修复或对细胞周期进行阻滞调控均可达到降低由N-亚硝胺造成DNA烷基化损伤的目的。

在N-亚硝胺诱发结肠癌变过程中,益生菌起到减小其对结肠黏膜DNA损伤和致突变的作用^[36],如益生菌可在体外诱导细胞色素P450家族CYP1A1基因的表达,并通过激活肠道AhR信号途径而减弱炎症反应来减小N-亚硝胺对肠道的毒性作用^[69];益生菌也显著提高小鼠结肠CYP3A基因的表达而间接参与对肠道黏膜的保护作用^[70]。益生菌可吸附、结合或降解食源性致癌物质N-亚硝胺,降低其在肠道内的遗传毒性作用^[52,68,61],Oelschlaeger等^[69]就指出乳酸菌可结合NOCs,减少这些物质引发的细胞DNA损伤,并且降低这些物质在肠道内的遗传毒性作用^[52],这种抗诱变作用与益生菌的作用浓度呈正相关,而且混合作用的益生菌株抗诱变能力好于单独作用的益生菌株^[60]。

通过文献分析整理,益生菌对N-亚硝基化合物诱发结肠癌的抑制机制有以下类:①在接触致癌物前摄入益生菌,起到保护肠道免受外源性NOCs的毒性损伤;阻断NOCs的生成;②与NOCs同时摄入或在NOCs之后摄入益生菌,降低了NOCs的致突变性,通过激活或促进修复由NOCs造成的肠道黏膜细胞DNA的损伤;③在肠道环境内结合、吸附或降解NOCs,降低其对肠道的毒性损伤作用;抑制了NOCs的致突变性,通过激活或修复由NOCs造成的肠道黏膜细胞DNA的损伤^[71]。④维持肠道内环境的稳定及菌群平衡,降低肠道有害细菌产生细菌酶的能力,减少了肠道内源N-亚硝胺及肠道细菌酶(β -葡糖苷酸酶、硝基还原酶和偶氮还原酶等)的产生。肠道细菌酶是肠道助癌物,益生菌可通过减少细菌酶的产生而实现在肠道内结合致癌物,并抑制致癌物的毒性损伤^[52]。Goldin等人的研究结果就显示,人体摄入嗜酸乳杆菌NCFM和N-2对细菌酶 β -葡糖苷酸酶、硝基还原酶和偶氮还原酶的活性有显著的抑制作用^[53]。Kumar1等人于2015年报道也显示双歧杆菌抑制肠道致病菌群的繁殖,减少肠道细菌酶如硝基还原酶或脱羧酶的产生,从而抑制了致癌物N-亚硝基化合物在肠道内的毒性损伤作用^[66]。这说明人体连续摄入益生菌可维持肠道的健康,并一定程度上抑制肠道癌症的发生。

5 结语

结肠癌的发病与饮食因素密切相关,常吃烧烤、烟熏和腌制类食品易引发结肠癌,这归因于此类食物中有含量极高的NOCs^[16]。NOCs是食物中诱发人结肠癌的致癌物之一,当其随食物进入体内,人结肠癌

的发病率就显著升高^[72]。益生菌是人体有益菌,具有较好的安全性能。在食源性NOCs诱发人结肠癌变过程中,益生菌起到阻止NOCs对肠黏膜细胞DNA损伤和致突变的作用^[36],并且通过减弱炎症反应来抑制NOCs对结肠的癌变作用。但截至目前,益生菌的研究仅停留在可提高机体免疫力,改变肠道微生物菌群的数量、种类或代谢活性等方面,而对益生菌降低肠道致癌物或助癌物毒性的研究很少,且仅局限于体外实验。现已确定部分益生菌在体外显示出显著抗结肠癌功效,在动物体内可降低致癌物的毒性作用。

因此,研究益生菌降低致癌物(食物如加工肉类、烟熏、腌制或烧烤类食品中含量极高的NOCs)对人肠道黏膜细胞的毒性损伤更具有现实意义,通过研究揭示益生菌与结肠癌发病率之间的关系,并获得具有抗结肠癌功能优良菌种将成为今后研究的重点,为开发抑制结肠肿瘤的高效益生菌制剂提供科学依据。

参考文献

- [1] Fotiadis C I, Stoidis C N, Spyropoulos B G, et al. Role of probiotics, prebiotics and synbiotics in chemoprevention for colorectal cancer [J]. World Journal of Gastroenterology, 2008, 14(42): 6453-6457
- [2] Wollowski I, Rechkemmer G, Pool-Zobel B L. Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer [J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2001, 73(2): 451s-455s
- [3] Hoarau C, Lagaraine C, Martin L, et al. Supernatant of *Bifidobacterium Breve* induces dendritic cell maturation, activation, and survival through a toll-like receptor 2 pathway [J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2006, 117(3): 696-702
- [4] Guzy C, Paclik D, Schirbel A, et al. The probiotic *Escherichia Coli* strain nissle 1917 induces T cell apoptosis via caspase-and fasl-dependent pathways [J]. International Immunology, 2008, 20(7): 829-840
- [5] Bertazzoni Minelli E, Benini A, Marzotto M, et al. Assessment of novel probiotic *Lactobacillus Casei* strains for the production of functional dairy foods [J]. International Dairy Journal, 2004, 14(8): 723-736
- [6] De Le Blanc A D M, Matar C, Perdígón G. The application of probiotics in cancer [J]. British Journal of Nutrition, 2007, 98(S1): S105-S110
- [7] Russo F, Orlando A, Linsalata M, et al. Effects of *Lactobacillus Rhamnosus GG* on the cell growth and polyamine metabolism in HGC-27 human gastric cancer cells [J]. Nutrition and Cancer, 2007, 59(1): 106-114

- [8] Hirayama K, Rafter J. The role of probiotic bacteria in cancer prevention [J]. *Microbes and Infection*, 2000, 2(6): 681-686
- [9] Rafter J. Probiotics and colon cancer [J]. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 2003, 17(5): 849-859
- [10] Hosoda M, Hashimoto H, Morita H, et al. Studies on antimutagenic effect of milk cultured with *Lactic Acid Bacteria* on the Trp-P2-induced mutagenicity to TA98 strain of salmonella typhimurium [J]. *Journal of Dairy Research*, 1992, 59(4): 543-54
- [11] 吕强,邢沈阳,赵志辉,等. 结肠癌的研究现状及展望[J]. *中国实验诊断学*, 2009, 13(8): 1134-1137
LV Qiang, XING Shen-yang, ZHAO Zhi-hui, et al. Present situation and prospect of research on colon cancer [J]. *Chinese Journal of Laboratory Diagnosis*, 2009, 13(8): 1134-1137
- [12] Theo M, Jan M. Evaluation of fecal mutagenicity and colorectal cancer risk [J]. *Mutation Research*, 2000, 463: 53-101
- [13] Magee P, Barnes J. The production of malignant primary hepatic tumours in the rat by feeding dimethylnitrosamine [J]. *British Journal of Cancer*, 1956, 10(1): 114-122
- [14] Chelsea E, Catsburg, Manuela G D, et al. Dietary sources of N-nitroso compounds and bladder cancer risk: Findings from the Los Angeles bladder cancer study [J]. *International Journal of Cancer*, 2014, 134: 125-135
- [15] Stuff J E, Goh E T, Barrera S L, et al. Construction of an N-nitroso database for assessing dietary intake [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2009, 22S: S42-S47
- [16] Stuff J E, Eugenia T G, Stephanie L B, et al. N-Nitroso compounds: assessing agreement between food frequency questionnaires and 7-day food records [J]. *Journal of the American Dietetic Association*, 2009, 109(7): 1179-1183
- [17] You C, Wang J, Dai X, et al. Transcriptional inhibition and mutagenesis induced by N-nitroso compound-derived carboxymethylated thymidine adducts in DNA [J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(2): 1012-1018
- [18] Jürg F, Bernd K. O6-methylguanine-DNA methyltransferase in the defense against N-nitroso compounds and colorectal cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(11): 2435-2442
- [19] 古楠. N-亚硝基二甲胺的环境过程和毒理效应[D]. 北京: 北京工业大学, 硕士学位论文, 2013
GU Nan. Environment process and toxicological effects of the N-nitrosodimethylamine (NDMA) [D]. Beijing: Beijing University of Technology, Dissertation for the Master Degree in Engineering, 2013
- [20] Hebels D G, Jennen D G, Kleinjans J C, et al. Molecular signatures of N-Nitroso compounds in Caco-2 cells: implications for colon carcinogenesis [J]. *Toxicological Sciences*, 2009, 108(2): 290-300
- [21] Saeed H M, Alanazi M S, Nounou H A, et al. Cytochrome P450 1A1, 2E1 and GSTM1 gene polymorphisms and susceptibility to colorectal cancer in the Saudi population [J]. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2013, 14(6): 3761-3768
- [22] Kiss I, Orsós Z, Gombos K, et al. Association between allelic polymorphisms of metabolizing enzymes (CYP 1A1, CYP 1A2, CYP 2E1, mEH) and occurrence of colorectal cancer in hungary [J]. *Anticancer Research*, 2007, 27(4c): 2931-2938
- [23] Peng H, Xie S K, Huang M J, et al. Associations of CYP2E1 rs2031920 and rs3813867 polymorphisms with colorectal cancer risk: a systemic review and meta-analysis [J]. *Tumor Biol.*, 2013, 34(4): 2389-2395
- [24] Hebels D J, Sveje K M, Kok M C, et al. N-nitroso compound exposure-associated transcriptomic profiles are indicative of an increased risk for colorectal cancer [J]. *Cancer Letters*, 2011, 309(1): 1-10
- [25] Chelsea E, Catsburg, Manuela G D, et al. Dietary sources of N-nitroso compounds and bladder cancer risk: Findings from the Los Angeles bladder cancer study [J]. *International Journal of Cancer*, 2014, 134(1): 125-135
- [26] Zhou L, Muhammad M A, Muhammad Z, et al. Urinary excretion of N-nitroso compounds in rats fed sodium nitrite and/or hot dogs [J]. *Chem. Res. Toxicol.*, 2014, 27(10): 1669-1674
- [27] Park I J, Seo I J, Lee J, et al. Distribution of seven N-nitrosamines in food [J]. *Toxicological Research*, 2015, 31(3): 279-288
- [28] Jenkins D J, Jenkins A L, Rao A, et al. Cancer risk: possible protective role of high carbohydrate high fiber diets [J]. *American Journal of Gastroenterology*, 1986, 81(10): 931-935
- [29] Irigaray P, Newby J, Clapp R, et al. Lifestyle-related factors and environmental agents causing cancer: an overview [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2007, 61(10): 640-658
- [30] De Preter V, Raemen H, Cloetens L, et al. Effect of dietary intervention with different pre-and probiotics on intestinal bacterial enzyme activities [J]. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2008, 62(2): 225-231
- [31] Demeyer D, Honikel K, De Smet S. The world cancer research fund report 2007: a challenge for the meat

- processing industry [J]. Meat Science, 2008, 80(4): 953-959
- [32] Bingham SA. High-meat diets and cancer risk [J]. Proceedings of the Nutrition Society, 1999, 58(2): 243-248
- [33] Herrmann S S, Granby K, Duedahl O L. Formation and mitigation of N-nitrosamines in nitrite preserved cooked sausages [J]. Food Chemistry, 2015, 174: 516-526
- [34] Bingham S. Meat, starch and non-starch polysaccharides, are epidemiological and experimental findings consistent with acquired genetic alterations in sporadic colorectal cancer [J]. Cancer Letters, 1997, 114(1): 25-34
- [35] Ngoc M P, Tetsuya M, Keitaro T, et al. Meat consumption and colorectal cancer risk: an evaluation based on a systematic review of epidemiologic evidence among the Japanese population [J]. Jpn. J. Clin. Oncol., 2014, 44(7): 641-650
- [36] Molly M D, Komal R, Chapla A, et al. Identifying molecular targets of lifestyle modifications in colon cancer prevention [J]. Frontiers in Oncology, 2013, 3(119): 1-20
- [37] Commane D, Hughes R, Shortt C, et al. The potential mechanisms involved in the anti-carcinogenic action of probiotics [J]. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 2005, 591(1): 276-289
- [38] Zhao M, Yang M, Li X M, et al. Tumor-targeting bacterial therapy with amino acid auxotrophs of gfp-expressing salmonella typhimurium [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102(3): 755-760
- [39] Wang S, Zhang L, Fan R, et al. Induction of HT-29 cells apoptosis by *lactobacilli* isolated from fermented products [J]. Research in Microbiology, 2014, 165(3): 202-214
- [40] Hu P, Song W, Shan Y, et al. *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* M5L induces cell cycle arrest and calreticulin translocation via the generation of reactive oxygen species in HT-29 cell apoptosis [J]. Food Funct., 2015, 6: 2257-2265
- [41] Tuo Y, Zhang L, Yi H, et al. Short Communication: antiproliferative effect of wild *Lactobacillus* strains isolated from fermented foods on HT-29 cells [J]. Journal of Dairy Science, 2010, 93(6): 2362-2366
- [42] 郑坚, 罗冬英. 乳酸菌的抗肿瘤作用及其机理 [J]. 黄冈师范学院学报, 2004, 24(3): 63-64
ZHENG Jian, LUO Dong-ying. Antitumor function and its mechanism of lactic acid bacteria [J]. Journal of Huanggang Normal University, 2004, 24(3): 63-64
- [43] Wang S M, Zhang L W, Xue C H, et al. Screening for antiproliferative effect of *lactobacillus* strains against colon cancer HT-29 cells [J]. Advanced Materials Research, 2012, 573: 1039-1043
- [44] Franceschi F, Marini M, Piscaglia A, et al. Effect of *Bacillus Clausii* administration in the rectal mucosa of mice treated with intrarectal instillation of the carcinogen *N*-Methylnitrosourea [J]. Digestive and Liver Disease, 2010, 42(3): S140-S141
- [45] Wang S, Zhang L. Effects of lactobacillus strains on colon cancer cell proliferation and cell cycle blockage [J]. International Conference on Biomedical Engineering and Biotechnology, 2012: 1015-1018
- [46] 王淑梅. 抗结肠癌功能益生菌筛选及其诱导 HT-29 细胞凋亡机制研究 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2014
WANG Shu-mei. Screening for anticancer effect of probiotics and the mechanism of induce apoptosis in HT-29 cells [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2014
- [47] Park H D, Rhee C H. Antimutagenic activity of *Lactobacillus Plantarum* KLAB21 isolated from *Kimchi* Korean fermented vegetables [J]. Biotechnology Letters, 2001, 23(19): 1583-1589
- [48] Thirabunyanon M, Boonprasom P, Niamsup P. Probiotic potential of *Lactic Acid Bacteria* isolated from fermented dairy milks on antiproliferation of colon cancer cells [J]. Biotechnology Letters, 2009, 31(4): 571-576
- [49] Choi S, Kim Y, Han K, et al. Effects of *Lactobacillus* strains on cancer cell proliferation and oxidative stress *in vitro* [J]. Letters in Applied Microbiology, 2006, 42(5): 452-458
- [50] Kim J Y, Woo H J, Kim Y S, et al. Screening for antiproliferative effects of cellular components from *Lactic Acid Bacteria* against human cancer cell lines [J]. Biotechnology Letters, 2002, 24(17): 1431-1436
- [51] Amrouche T, Boutin Y, Prioult G, et al. Effects of bifidobacterial cytoplasm, cell wall and exopolysaccharide on mouse lymphocyte proliferation and cytokine production [J]. International Dairy Journal, 2006, 16(1): 70-80
- [52] Faghfoori Z, Gargari B P, Gharamaleki A S, et al. Cellular and molecular mechanisms of probiotics effects on colorectal cancer [J]. Journal of Functional Foods, 2015, 18: 463-472
- [53] Goldin B R, Gorbach S L. The effect of milk and *Lactobacillus* feeding on human intestinal bacterial enzyme activity [J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 1984, 39(5): 756-761
- [54] Gabriele C. Probiotics and the incidence of colorectal cancer: when evidence is not evident [J]. Digestive and Liver Disease

- Suppl, 2006, 2: S277-S282
- [55] De Moreno de LeBlanc A, Matar C, Farnworth E, et al. Study of cytokines involved in the prevention of a murine experimental breast cancer by kefir [J]. *Cytokine*, 2006, 34(1): 1-8
- [56] Bian Q, Xu L, Wang S, et al. Study on the relation between occupational fenvalerate exposure and spermatozoa dna damage of pesticide factory workers [J]. *Occupational and Environmental Medicine*, 2004, 61(12): 999-1005
- [57] Femia A P, Luceri C, Dolara P, et al. Antitumorigenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus Rhamnosus* and *Bifidobacterium Lactis* on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats [J]. *Carcinogenesis*, 2002, 23(11): 1953-1960
- [58] Sivieri K. Probiotic *Enterococcus faecium* CRL 183 inhibit chemically induced colon cancer in male Wistar rats [J]. *Eur Food Res Technol*, 2008, 228(2): 231-237
- [59] Fukui M, Fujino T, Tsutsui K, et al. The tumor-preventing effect of a mixture of several *Lactic Acid Bacteria* on 1,2-Dimethylhydrazine-Induced colon carcinogenesis in mice [J]. *Oncology Reports*, 2001, 8(5): 1073-1078
- [60] Apa A L, Gonzalez S N, Arena M E. Potential of goat probiotic to bind mutagens [J]. *Anaerobe*, 2014, 28: 8-12
- [61] Nowak A, Kuberski S, Libudzisz Z. Probiotic lactic acid bacteria detoxify Nnitrosodimethylamine [J]. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 2014, 31(10): 1678-1687
- [62] Haskard C A, El-Nezami H S, Kankaanpa P E, et al. Surface binding of aflatoxin B₁ by *Lactic Acid Bacteria* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(7): 3086-3091
- [63] Pool-Zobel B, Neudecker C, Domizlaff I, et al. *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*-mediated antigenotoxicity in the colon of rats [J]. *Nutrition and Cancer*, 1996, 26(3): 365-380
- [64] Pool-Zobel B, Bertram B, Knoll M, et al. Antigenotoxic properties of *Lactic Acid Bacteria in vivo* in the gastrointestinal tract of rats [J]. *Nutrition and Cancer*, 1993, 20(3): 271-281
- [65] Tanabe T, Suyama K, Hosono A. Effect of pepsin, trypsin or bile acid on the binding of tryptophan pyrolysates by *lactococcus lactis* subsp. *lactis* T-80 [J]. *Milchwissenschaft (Germany)*, 1994, 49(8): 438-441
- [66] Kumarl K S, Sastry N, Polakil H, et al. Colon Cancer Prevention through probiotics: An overview [J]. *J. Cancer Sci. Ther.*, 2015, 7(2): 81-92
- [67] Tuo Y, Zhang L, Han X, et al. *In vitro* assessment of Immunomodulating activity of the two *lactobacillus* strains isolated from traditional fermented milk [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2011, 27(3): 505-511
- [68] Oelschlaeger T A. Mechanisms of Probiotic actions-a Review [J]. *International Journal of Medical Microbiology*, 2010, 300(1): 57-62
- [69] Takamura T, Harama D, Fukumoto S, et al. *Lactobacillus bulgaricus* OLL1181 activates the aryl hydrocarbon receptor pathway and inhibits colitis [J]. *Immunology and Cell Biology*, 2011, 89: 817-822
- [70] Matuřkova Z, Tunkova A, Anzenbacherova E, et al. Effects of probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 on expression of cytochromes P450 along the gastrointestinal tract of male rats [J]. *Neuroendocrinology Letters*, 2010, 31(2): 46-50
- [71] Sona R. Effects of vitamins C and E on cytotoxicity induced by *N*-nitroso compounds, *N*-nitrosomorpholine and *N*-methyl-*N*-nitro-Nnitrosoguanidine in Caco-2 and V79 cell lines [J]. *Cancer Letters*, 2002, 182: 11-18
- [72] Zhu Y, Wang P P, Zhao J, et al. Dietary N-nitroso compounds and risk of colorectal cancer: a case-control study in Newfoundland and Labrador and Ontario [J]. *British Journal of Nutrition*, 2014, 111(6): 1109-1117