

# 肠道菌群对早期结直肠癌筛查的研究进展

陈星<sup>1</sup>, 姜泊<sup>2</sup>, 迪吉<sup>1\*</sup>

1. 青海大学附属医院 肿瘤内科三病区, 青海 西宁 810001

2. 清华大学北京清华长庚医院 消化内科, 北京 100000

**【摘要】** 肿瘤的早发现、早诊断、早治疗是提高患者生活质量,降低死亡率、提高生存率的有效措施。筛查结直肠癌(CRC)需要准确的生物标志物,肠道菌群被认为是诊断早期CRC的可靠指标。肠道菌群检测是以粪便为样本,通过定量聚合酶链式反应对粪便细菌丰度进行定量。该方法具有标本采集简便,检查无侵入性风险、依从性高、特异度高等特点。通过肠道菌群对CRC的早期筛查,延长患者的生存时间、改变患者预后差的局面、提升我国对CRC的防控效果。

**【关键词】** 肠道菌群; 早期结直肠癌; 筛查

## Research progress of intestinal flora in early colorectal cancer screening

Chen Xing<sup>1</sup>, Jiang Bo<sup>2</sup>, Di Ji<sup>1\*</sup>

1. Department of Oncology, Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining 810001, Qinghai, China

2. Department of Gastroenterology, Beijing Changgeng Hospital, Tsinghua University, Beijing 100000, China

\*Corresponding author: Di Ji, E-mail: luosangdj@126.com

**【Abstract】** Early detection, diagnosis and treatment of tumors are effective measures to improve the quality of life, reduce mortality and improve survival rate of patients. Accurate biomarkers are needed to screen colorectal cancer. Intestinal flora is considered to be a reliable indicator for the diagnosis of early colorectal cancer. The detection of intestinal flora takes feces as samples and quantifies the abundance of bacterial feces by quantitative PCR. This method has the characteristics of simple sample collection, no invasive risk, high compliance and specificity. Early screening of colorectal cancer by intestinal flora can improve the survival time of patients, change the poor prognosis of patients, and improve the prevention and control effect of colorectal cancer in China.

**【Key words】** Intestinal flora; Early colorectal cancer; Screening

2022年最新全球癌症流行病学显示结直肠癌(colorectal cancer, CRC)已经超过胃癌,成为中国第二大高发癌症,仅次于肺癌<sup>[1]</sup>。因此,早期筛查变得更加重要。随着中国人口老龄化、饮食结构变化、生活方式的改变等原因,我国CRC的发病结构逐渐呈现出年轻化的趋势<sup>[2-3]</sup>,是威胁居民生命健康的主要癌症之一。目前研究及实践表明,CRC通常是正常黏膜在致癌因素作用下,逐渐发展至癌前病变,最终发展为恶性肿瘤。从癌前病变发展到癌一般需要经历5~10年的时间,因此CRC的早期筛查为该病的早期干预和早期诊断提供了大量的时间<sup>[4]</sup>。目前有效的CRC诊断策略有结肠镜、影像学、肿瘤标志物等,其中结肠镜检出率高,但高侵入性难以被大众所接受<sup>[5]</sup>。影像学检查可发现病变位置,但计算机断层扫描(computed tomography, CT)具有高辐射性,对人体有损害<sup>[5]</sup>。除此之外,血清癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)检测和粪

便隐血试验(fecal occult blood test, FOBT)也是诊断CRC的方法,便于采集,但是缺乏特异性<sup>[6]</sup>。因此,寻找特异度高、易于耐受、依从性更好的检测手段是实现CRC早期诊断的有效途径。肠道菌群促进了CRC的发生发展,肠道菌群筛查CRC具有标本采集简单、方便、无侵入性风险、敏感度高、依从性高等特点。肠道菌群在CRC中可以作为生物标志物,有助于早期筛查及诊断,因此本文对此进行总结和阐述。

## 1 肠道菌群

近年来,随着人们对肠道菌群的进一步探索发现肠道菌群与CRC的发生发展密切相关。健康的肠道微生物群促进肠道内环境稳定,并能发挥抗癌作用。然而健康的微生物群也会产生多种代谢物,这些代谢物具有遗传毒性<sup>[7]</sup>,可能会导致炎症和DNA损伤。健康成人肠道菌群以革兰氏阴性拟杆菌和革兰氏阳性厚壁菌为主<sup>[8]</sup>。人类结肠中共有数万亿共生细菌,包括类杆菌、梭杆菌、大肠埃希菌、梭状

\*通信作者:迪吉, E-mail: luosangdj@126.com

芽孢杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌、真杆菌、消化球菌和维洛内拉菌等。升结肠和降结肠在微生物组成方面几乎没有差异<sup>[9]</sup>。肠道菌群在年龄、性别、遗传学、饮食和疾病的影响下,在组成上变得不稳定,多样性降低,表型相似的患者和健康个体之间存在相当大的个体间差异<sup>[10]</sup>。一般来说,肠道内细菌相互依存相互制约,保持动态平衡的关系。当机会致病菌异常富集时或致病菌入侵可导致菌群失衡,其中致病菌如产肠毒素的类杆菌、大肠埃希菌和艰难梭菌数量增加,同时益生菌如双歧杆菌、乳酸杆菌和类杆菌等会减少<sup>[11]</sup>。

在过去10年中,动物实验和人体大肠癌研究表明,与CRC具有直接因果关系的微生物感染的病原体包括有梭杆菌、共生梭菌、脆弱类杆菌、大肠埃希菌和粪肠球菌<sup>[12]</sup>,上述细菌大多是机会致病菌的异常富集导致CRC的患病率增高,也是CRC发生发展过程中较为明确的致病菌。本文主要介绍以上几种潜在致病菌的特点、致癌机制和诊断CRC的敏感度及特异度,明确肠道菌群可作为早期CRC的筛查工具。

## 2 肠道菌群与结直肠癌

在环境因素中,肠道微生物在癌症生物学中的作用越来越受到重视,肠道微生物群与宿主上皮细胞之间相互作用,对CRC的发生起着重要作用<sup>[7]</sup>。肠道菌群位于大肠上皮附近,由大量微生物组成,这些微生物与宿主细胞相互作用,调节许多生理过程,如合成必需维生素、去除有毒化合物、加强肠道屏障、刺激和调节免疫系统。这些功能大多与人体生理学相互关联、紧密交织<sup>[13]</sup>。

研究表明,正常肠道菌群的失衡可以通过产生致癌的次生代谢物而促进炎症发生,还可以调节氧化、细胞毒性应激或通过影响黏液屏障来诱导上皮过度增殖<sup>[14]</sup>。代谢物分析的结果还表明,肠道代谢物如短链脂肪酸(short-chain fatty acid, SCFA),如丁酸、丙酸,以及胆汁酸与肠道癌变有关<sup>[15]</sup>。Wang等<sup>[16]</sup>报道,与非CRC患者相比,CRC患者粪便中产生丁酸的细菌数量较少。而正常情况下丁酸盐可抑制结肠细胞和免疫细胞中的组蛋白脱乙酰酶,从而下调促炎性细胞因子<sup>[17]</sup>,并诱导CRC细胞系凋亡<sup>[18]</sup>,丁酸还可以通过上调紧密连接蛋白和增加黏蛋白的产生来增强肠屏障功能,可以减少肿瘤的发生。因此,由于肠道细菌的变化导致丁酸盐减少,可能会增加肠上皮的渗漏,并允许细菌进入组织导致肿瘤的发生<sup>[16]</sup>。胆汁酸是另一类与饮食和肠道微生物群密切相关的代谢物。Cao等<sup>[19]</sup>研究表明,当用胆汁酸治疗C57BL/6J-APC<sup>min/+</sup>小鼠时,会导致微生物群改变和肿瘤形成风险增加。另一项研究发现,小鼠通过分馏手术将结肠暴露于更多的胆汁酸中,可诱导肠道菌群失调,伴随肠道屏障受损和低度炎症,进而观察到结肠肿瘤的数量增加<sup>[20]</sup>。这些数据支持了代谢物胆汁酸可能促进CRC形成。

新一代基因测序研究揭示了CRC患者的微生物组成和生态变化,而动物模型中的功能研究则明确了几种细菌

在CRC发生中的作用。在大肠癌患者中可检测到特定细菌丰度的实质性变化,并可作为疾病筛查、预测和预测治疗反应的生物标志物。

## 3 潜在致病菌

3.1 具核梭形杆菌 具核梭形杆菌属于梭杆菌属,是革兰氏阴性专性厌氧杆菌,生物学形态细长,呈梭形,主要定植于肠道和口腔<sup>[21]</sup>。口腔微生物组的组成可能与结肠癌有关,口腔中发现的许多细菌物种参与生物膜的形成、促炎刺激和CRC的发生<sup>[22]</sup>。有报道了CRC与口腔微生物群(如具核梭形杆菌和链球菌)之间的关联,并提出了采用口腔黏膜样本或唾液样本,分析口腔细菌预测CRC的可能性,这将为CRC的筛查提供一种新的方法<sup>[23-25]</sup>。

Tahara等<sup>[26]</sup>的研究发现CRC癌旁组织正常黏膜检测出具核梭形杆菌,而无癌对照组黏膜也检测出该菌,但CRC癌旁组织正常黏膜的具核梭形杆菌数量远远超过无癌对照组正常黏膜的具核梭形杆菌数量,其比例高达250倍。进一步有研究表明,具核梭形杆菌在结肠癌中机制是通过其表面的黏附素(FadA)进入宿主细胞,进入宿主细胞后再与上皮细胞表面的E-钙黏蛋白(E-cadherin)进行结合,E-钙黏蛋白是FadA是关键性细胞结合受体,从而活化 $\beta$ -catenin信号通路来上调原癌基因的表达<sup>[27]</sup>。同时,具核梭形杆菌能够在宿主细胞内释放RNA激活核因子 $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)通路,上调促炎因子肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白细胞介素(interleukin, IL)-6和IL-8,炎症微环境促进CRC的进展。具核梭形杆菌通过激活Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)和NF- $\kappa$ B信号通路导致细胞内miR-21的升高,抑制RASA1的表达从而激活RAS信号通路,提高肿瘤细胞的增殖能力<sup>[28]</sup>。具核梭形杆菌还通过逃避抗癌免疫反应来塑造肿瘤微环境。表面糖蛋白2(Fap2)是介导细菌与CRC组织的识别和结合的共同黏附素,可以结合称为T细胞免疫球蛋白和ITIM结构域蛋白(T-cell immunoreceptor with immunoglobulin and ITIM domains, TIGIT)的人体受体,该受体在自然杀伤(NK)细胞和其他肿瘤浸润淋巴细胞上表达。TIGIT抑制这些细胞的细胞毒性功能,从而保护具核梭形杆菌和附近的肿瘤细胞不被免疫细胞杀死<sup>[29]</sup>。最新研究表明,具核梭形杆菌丰度与CRC患者的高葡萄糖代谢相关。具核梭形杆菌通过增加CRC细胞葡萄糖代谢来支持癌变<sup>[30]</sup>。机制上,具核梭形杆菌通过上调转录因子SP1与长链非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA)烯醇化酶1-内膜转录本1(enolase 1 intronic transcript 1, ENO1-IT1)的启动子区的结合效率来激活lncRNA ENO1-IT1转录。升高的ENO1-IT1作为KAT7组蛋白乙酰转移酶的指导模块,指定包括ENO1在内的目标基因上的组蛋白修饰模式,从而改变CRC的生物学功能。Shen等<sup>[31]</sup>研究表明,具核梭形杆菌通过转录调节因子(transcriptional regulator, YAP)/叉头盒D3(forkhead box D3, FOXD3)/甲基转移酶样3(methyltransferase-like 3, METTL3)

轴诱导 N6-甲基腺苷(N6-methyladenosine, m6A)修饰减少,导致驱动蛋白家族成员 26B(kinesin family member 26B, KIF26B)上调,增强 CRC 细胞的侵袭性。由此可见,具核梭形杆菌对 CRC 的促癌机制主要包括:诱导慢性炎症的发生、提高肿瘤细胞的增殖能力、抑制机体的免疫应答、增加 CRC 细胞葡萄糖代谢等。

Liang 等<sup>[32]</sup>研究包括来自 2 个独立亚洲组的 1012 例受试者(274 例大肠癌、353 例腺瘤和 385 例对照),结果表明具核梭形杆菌诊断结直肠腺瘤的敏感度为 35.9%,特异度为 83.5%,AUC 为 0.61,准确度为 55%;诊断 CRC 的敏感度为 59.2%,特异度为 83.5%,AUC 为 0.78,精确度为 73.2%。Wong 等<sup>[33]</sup>研究表明,具核梭形杆菌诊断结直肠腺瘤的敏感度为 32.7%,特异度为 87.0%,AUC 值为 0.59;诊断 CRC 的敏感度为 72.1%,特异度为 91.0%,AUC 为 0.83。以上两项研究都显示,与腺瘤相比,具核梭形杆菌识别 CRC 的敏感度更高。因此,具核梭形杆菌可作为 CRC 早期筛查的微生物标志物。

**3.2 共生梭菌** 共生梭菌是肠道正常定植的一种厌氧菌,是非产毒型革兰氏阴性菌,其微观形态与具核梭形杆菌类似,曾经归属于梭形杆菌一类,随着测序技术的发展将二者区分开来<sup>[34]</sup>。以往的研究发现,共生梭菌鲜有报道,但有研究表明共生梭菌对早期 CRC 的预测效能高于具核梭形杆菌。

Blanton 等<sup>[35]</sup>研究表明,在无菌营养缺乏的小鼠体内专门移植入共生梭菌,发现改善了此类小鼠营养缺乏的状况。经过分析模型粪便和肝脏的物质变化后,研究人员在模型小鼠肝脏中观察到共生梭菌的植入明显减少氨基酸氧化,增加蛋白质的合成;肠道酰基肉碱相关代谢增加,促进蛋白质的合成和吸收。由此可见,共生梭菌可促进局部肠道上皮的蛋白质合成代谢,促进局部具有潜在癌变能力的肠道上皮细胞的蛋白质合成代谢,从而促进肿瘤的发生。

Xie 等<sup>[36]</sup>研究发现,在早期结直肠腺瘤患者中共生梭菌单菌相对丰度较正常人群和非进展性腺瘤患者均明显升高 5.54 倍和 3.10 倍,但各组间差异无统计学意义;进展期腺瘤共生梭菌的敏感度为 54.36%,特异度为 69.28%,AUC 值为 0.656;早期 CRC 诊断敏感度为 49.18%,特异度为 76.63%,AUC 值为 0.669;晚期 CRC 诊断的敏感度分别为 61.29%,特异度为 69.07%,AUC 值为 0.707。该研究发现,随着疾病的进展,共生梭菌的丰度也出现逐步增加的趋势,共生梭菌与疾病的严重程度呈现正相关。由此证明了共生梭菌是高效的早期大肠癌诊断的生物标志物。共生梭菌在预测晚期腺瘤和早期 CRC 的 AUC 高于具核梭形杆菌预测晚期腺瘤和早期 CRC 的 AUC。表明共生梭菌在大肠癌的早期检测中比具核梭形杆菌更适合,是个更有优势的生物标志物。在未来应行多中心的临床队列研究,从中探索并验证共生梭菌在早期 CRC 无创筛查中的作用。

**3.3 脆弱拟杆菌** 脆弱拟杆菌是人体胃肠道中数量最少但感染检出率较高的厌氧菌,该菌主要存在于结肠,是革

兰氏阴性菌,无芽孢,有荚膜,部分有菌毛,是人体肠道共生菌的组成部分;该菌可分为非产肠毒素脆弱拟杆菌和产肠毒素脆弱拟杆菌两类<sup>[37]</sup>。研究证明 CRC 的发生发展与脆弱拟杆菌毒素有着密不可分的关系<sup>[38-39]</sup>。

Chung 等<sup>[40]</sup>使 APC<sup>min/+</sup>小鼠感染 ETBF,将感染的 APC<sup>min/+</sup>小鼠作为微生物诱导的结肠肿瘤发生模型,而后发现 BFT 在结肠上皮细胞中触发了 NF- $\kappa$ B、IL-17 受体和 STAT3 信号介导的多步致癌的炎症级联反应,且均与人类 CRC 密切相关。Wu 等<sup>[41]</sup>发现 Min 小鼠(APC 基因突变)中 ETBF 诱导激活 Stat3 信号通路,Stat3 磷酸化,上调 IL-17 的表达,促发 TH17 的黏膜免疫反应,小鼠远端结肠发生炎症反应、肠上皮增生,以及上皮内瘤变。Bao 等研究表明<sup>[42]</sup>,通过诱导 BFT 相关的长非编码 RNA 1 (bacteroides fragilis-associated lncRNA1, BFALI),其激活哺乳动物雷帕霉素靶点(mammalian target of rapamycin, mTOR)途径中的 Ras 同源物,会增加 CRC 肿瘤生长。BFT 诱导凋亡抑制蛋白-2 (inhibitor of apoptosis protein-2, IAP2)表达,导致肿瘤生长增加和凋亡抑制<sup>[43-44]</sup>。BFT 还通过在 E-钙黏蛋白裂解和 $\beta$ -连环蛋白核定位后诱导 c-myc 表达来增加肠细胞增殖和通透性,最近发现这一过程涉及 G 蛋白偶联受体 35 (G protein-coupled receptor 35, GPR35)<sup>[45]</sup>。研究表明 ETBF 通过诱导 DNA 甲基转移酶 1 (DNA methyltransferase 1, DNMT1) 招募和诱导 CRC 细胞中含有 JmjC 结构域的组蛋白脱甲基酶 2B(JmjC-domain containing histone demethylase 2B, JMJD2B),促进表观遗传改变,可能导致 DNA 损伤<sup>[46-47]</sup>。

Toprak 等<sup>[48]</sup>分别比较 59 例正常对照组与 73 例大肠癌组粪便中 ETBF 的阳性率,结果显示大肠癌患者的检出率为 38%,明显高于正常对照组的 12%,后者明显高于前者。Bolej 等<sup>[49]</sup>通过用 PCR 检测非 CRC49 例患者样本中 BFT 基因的表达情况,也检测 26 例 CRC 患者术后黏膜样本中 BFT 基因的表达情况,发现对照组的阳性率 67.3%,而 CRC 组阳性率高达 88.5%,CRC 组阳性率明显高于对照组阳性率。早期 CRC 样本阳性率为 72.7%、晚期 CRC 样本阳性率为 100%,说明 BFT 阳性率是随着 CRC 的进展而出现逐渐增高的趋势。ETBF 的长期定植可以增加 CRC 发生的风险。因此,ETBF 也可作为 CRC 的早期筛查及诊断的一种生物指标。

**3.4 大肠埃希菌** 大肠埃希菌是一组革兰氏阴性兼性厌氧菌,是短杆菌,周生鞭毛,能运动,无芽孢,两端呈钝圆形。大肠埃希菌可从每个个体的多个身体部位中分离出来,与肠道内环境平衡和各种病理学相关<sup>[50]</sup>。

大肠埃希菌至少可分成 A、B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、D 4 个亚型,其中 B<sub>2</sub> 亚型携带一种保守的基因岛——“聚酮合成酶(polyketide synthases, pks)岛”,大肠埃希菌素(一种基因毒性化合物)是由 pks 基因岛编码的次级代谢产物,是一种基因毒素。大肠埃希菌素含有 2 个亲电弹头,它们与宿主 DNA 中富含腺嘌呤的基序结合,形成链间交联,阻止细胞周期进展并激活 DNA 损伤反应途径<sup>[51-52]</sup>。诱导真核细胞中的 DNA 损伤、细

胞周期停滞、突变和染色体不稳定性等。Arthur等<sup>[53]</sup>用氧化偶氮甲烷(azoxy methane, AOM)处理的无菌IL-10<sup>-/-</sup>小鼠,然后分别定植大肠埃希菌Nc101和删除pks岛的大肠埃希菌Nc101,发现定植前者的多数小鼠出现高度异型增生或癌症,而定植后者的小鼠中只有少数出现高度异型增生,这说明pks岛所分泌的遗传毒性物质可加速CRC的进展。大肠埃希菌素促进癌症的手段不仅仅是引发DNA损伤或炎症。大肠埃希菌素诱导DNA损伤后,细胞可能发生凋亡、转化或衰老。有研究进一步探讨了衰老在pks+大肠埃希菌致癌中的作用。衰老状态可诱导衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP),其特征在于各种生长因子的分泌增加,促进附近细胞增殖<sup>[54-55]</sup>。

来自欧洲的两项研究表明,pks+大肠埃希菌在CRC患者结肠组织标本中比在非CRC对照组结肠组织标本中更为普遍。Arthur等<sup>[56]</sup>对21例大肠癌患者和24例对照者的组织标本进行了研究,分别在67%和21%的患者组织中检出pks+大肠埃希菌。同样,Buc等<sup>[57]</sup>研究了38例大肠癌患者和31例憩室病患者的组织标本,发现pks+大肠埃希菌分别占55%和19%。因此,大肠埃希菌的pks岛可能作为CRC的肿瘤启动子,pks+大肠埃希菌可作为CRC发展的预测性生物标志物。

**3.5 粪肠球菌** 粪肠球菌是一种兼性厌氧型革兰氏阳性乳酸菌,菌体形态为链状或球状,无芽孢,无荚膜<sup>[58]</sup>。粪肠球菌普遍存在于自然界,如健康人体的上呼吸道、口腔、消化道、生殖道,对环境适应力和免疫力强。粪肠球菌在人类粪便中的数量仅次于大肠埃希菌。

Wang等<sup>[59]</sup>研究表明,粪肠球菌是一种人类肠道共生菌,可使巨噬细胞极化,产生旁观者效应,导致靶细胞中的双链DNA断裂、四倍体和染色体不稳定性(chromosomal instability, CIN),进而诱导肿瘤的发生。将无菌IL-10<sup>-/-</sup>小鼠接种粪肠球菌菌株,结果发现粪肠球菌在长期定植期间可引起肠道炎症反应和结肠癌。在肿瘤形成及进展过程中,巨噬细胞作为关键效应物而发挥作用,环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)在粪肠球菌感染的巨噬细胞中产生内源性诱变剂反式-4-羟基-2-壬烯醛(trans-4-hydroxy-2-nonenal, 4-HNE),并破坏靶细胞中的DNA,影响CRC的发展<sup>[60]</sup>。粪肠球菌可以通过葡萄糖醛酸磷酸转移酶系统加快结肠炎的发展<sup>[61]</sup>,还能够促进结直肠肿瘤细胞系的增殖<sup>[62]</sup>。最新研究表明粪肠球菌和CRC之间可能通过MED13激活结直肠肿瘤中的细胞周期蛋白依赖性激酶8(cyclin-dependent kinases 8, CDK8)而建立联系<sup>[63]</sup>。MED13L和MED13编码与RNA聚合酶II结合的介体转录共激活剂复合物模块<sup>[64]</sup>,因此与CDK8模块特异性相互作用,这些模块描述了它们在结肠肿瘤发生过程中的致癌转录激活<sup>[65]</sup>。由此可见,粪肠球菌在肿瘤的发生和发展过程中发挥重要的作用。

目前,Wang等<sup>[66]</sup>报道,用PCR检测法检查CRC患者、结直肠息肉患者和正常对照组的粪便,发现粪肠球菌丰度

在CRC中显著高于结直肠息肉患者和健康人群。有Meta分析显示<sup>[67]</sup>,粪肠球菌、大肠埃希菌和屎肠球菌合并的均数差(mean difference, MD)都大于0,说明CRC患者粪便中的粪肠球菌、大肠埃希菌和屎肠球菌的数量明显大于健康人群粪便中的数量。因此,粪肠球菌也可作为CRC的早期筛查及诊断的一种生物指标。

CRC的早期症状多不明显,易被患者所忽视,以至于错过最佳预防及治疗时间。现在常用的筛查方法因其各自的局限性导致CRC的早期筛查不能得到普及,粪便微生物检测作为一种无创非侵入性的肿瘤筛查方式,其发展前景极大。具核梭形杆菌、ETBF、pks+大肠埃希菌、粪肠球菌四种细菌均有文献报道与CRC发生发展的关系,而对于共生梭菌的研究较为缺乏,共生梭菌作为更高效的早期CRC筛查的生物标志物,具有更大的发展前景和空间。

在CRC的筛查中,肠道菌群可与肿瘤标志物检测、免疫组织化学等联合,相互联合检测能互补优势,提高其敏感度及特异度,从而提供更多有用的临床信息。然而,受限于检测技术、地域人群和肠道菌群结构差异的影响,暂未进入临床应用阶段,所以仍有待进一步研究完善。对肠道微生物的检测不应局限于细菌,还可开展更广泛的群体,如病毒、真菌等。因此,寻到具有高性价比及高准确度的无创筛查方法并应用到临床是我国未来相关领域的研究发展方向。希望在将来,肠道菌群潜在的预测能力可转化为真实的临床应用,提高我国CRC的防控效果。

## 参考文献

- [1] XIA C, DONG X, LI H, et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants [J]. Chin Med J (Engl), 2022, 135(5): 584-590.
- [2] 代珍, 郑荣寿, 邹小农, 等. 中国CRC发病趋势分析和预测[J]. 中华预防医学杂志, 2012, 46(7): 598-603.
- [3] GU M, HUANG Q, BAO C, et al. Attributable causes of colorectal cancer in China [J]. BMC Cancer, 2018, 18(1): 38.
- [4] DEKKER E, TANIS PJ, VLEUGELS JLA, et al. Colorectal cancer [J]. Lancet, 2019, 394(10207): 1467-1480.
- [5] 陈万青, 李霓, 兰平, 等. 中国CRC筛查与早诊早治指南(2020, 北京) [J]. 中国肿瘤, 2021, 30(1): 1-28.
- [6] WONG SH, KWONG T, CHOW TC, et al. Quantitation of faecal Fusobacterium improves faecal immunochemical test in detecting advanced colorectal neoplasia [J]. Gut, 2017, 66(8): 1441-1448.
- [7] WONG SH, YU J. Gut microbiota in colorectal cancer: mechanisms of action and clinical applications [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019, 16(11): 690-704.
- [8] ECKBURG PB, BIK EM, BERNSTEIN CN, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora [J]. Science, 2005, 308(5728): 1635-1638.
- [9] ASAPOLLI R, SCHUTTE K, SCHULZ C, et al. Analysis of transcriptionally active bacteria throughout the gastrointestinal tract of healthy individuals [J]. Gastroenterology, 2019, 157(4):

- 1081-1092.
- [10] TUDDENHAM S, SEARS CL. The Intestinal Microbiome and Health [J]. *Curr Opin Infect Dis*, 2015, 28(5): 464-470.
- [11] 王赫, 史新龙, 李晶晶, 等. 肠道菌群与结直肠肿瘤关系的研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2020, 29(10): 1261-1269.
- [12] COLLINS D, HOGAN AM, WINTER DC. Microbial and viral pathogens in colorectal cancer [J]. *Lancet Oncol*, 2011, 12(5): 504-512.
- [13] HUANG P, JIANG A, WANG X, et al. NMN Maintains Intestinal Homeostasis by Regulating the Gut Microbiota [J]. *Front Nutr*, 2021, 8(8): 714-604.
- [14] IJSSENNAGGER N, BELZER C, HOOIVELD GJ, et al. Gut microbiota facilitates dietary heme -induced epithelial hyperproliferation by opening the mucus barrier in colon [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(32): 10038-10043.
- [15] LOUIS P, HOLD GL, FLINT HJ. The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer [J]. *Nat. Rev. Microbiol*, 2014, 12(10): 661-672.
- [16] WANG HB, WANG PY, WANG X, et al. Butyrate enhances intestinal epithelial barrier function via upregulation of tight junction protein Claudin-1 transcription [J]. *Dig Dis Sci*, 2012, 57(12): 3126-3135.
- [17] CHANG PV, HAO L, OFFERMANN S, et al. The microbial metabolite butyrate regulates intestinal macrophage function via histone deacetylase inhibition [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(6): 2247-2252.
- [18] BUDA A, QUALTROUGH D, JEPSON MA, et al. Butyrate downregulates alpha2beta1 integrin: a possible role in the induction of apoptosis in colorectal cancer cell lines [J]. *Gut*, 2003, 52(5): 729-734.
- [19] CAO H, XU M, DONG W, et al. Secondary bile acid -induced dysbiosis promotes intestinal carcinogenesis [J]. *Int J Can*, 2017, 140(11): 2545-2556.
- [20] CHOMCHAI C, BHADRACHARI N, NIGRO ND. The effect of bile on the induction of experimental intestinal tumors in rats [J]. *Dis Colon Rectum*, 1974, 17(3): 310-312.
- [21] GHOLIZADEH P, ESLAMI H, KAFIL HS. Carcinogenesis mechanisms of *Fusobacterium nucleatum* [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 89(89): 918-925.
- [22] KLIMESOVA K, JIRASKOV A, ZAKOSTELSKA Z, TLASKALOVA -HOGENOVA H, et al. Oral bacterial and fungal microbiome impacts colorectal carcinogenesis [J]. *Front. Microbiol*, 2018, 9(9): 774.
- [23] KOMIYA Y, SHIMOMURA Y, HIGURASHI T, et al. Patients with colorectal cancer have identical strains of *Fusobacterium nucleatum* in their colorectal cancer and oral cavity [J]. *Gut*, 2019, 68(7): 1335-1337.
- [24] RUSSO E, BACCI G, CHIELLINI C, et al. Preliminary comparison of oral and intestinal human microbiota in patients with colorectal cancer: a pilot study [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8(8): 2699.
- [25] FLEMER B, WARREN R D, BARRETT MP, et al. The oral microbiota in colorectal cancer is distinctive and predictive [J]. *Gut*, 2018, 67(8): 1454-1463.
- [26] TAHARA T, YAMAMOTO E, SUZUK H, et al. *Fusobacterium* in colonic flora and molecular features of colorectal carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(5): 1311-1318.
- [27] ALLEN -VERCOE E, JOBIN C. *Fusobacterium* and Enterobacteriaceae: important players for CRC [J]. *Immunol Lett*, 2014, 162(2): 54-61.
- [28] KOSTIC AD, CHUN E, ROBERTSON L, et al. *Fusobacterium nucleatum* potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment [J]. *Cell Host Microbe*, 2013, 14(2): 207-215.
- [29] BRENNAN CA, GARRETT WS. *Fusobacterium nucleatum* - symbiont, opportunist and oncobacterium [J]. *Rev. Microbiol*, 2019, 17(3): 156-166.
- [30] HAGLAND HR, SOREIDE K. Cellular metabolism in colorectal carcinogenesis: Influence of lifestyle, gut microbiome and metabolic pathways [J]. *Cancer Letters*, 2015, 356(2): 273-280.
- [31] YIN XF, LIU XH, SHEN HL, et al. Nuclear subspecies proteome of *Clostridium nucleosus* and its differential proteome analysis in cancer environment [J]. *Chem*, 2015, 73(4): 337-342.
- [32] LIANG JQ, LI T, NAKATSU G, et al. A novel faecal *Lachnospirillum* marker for the non-invasive diagnosis of colorectal adenoma and cancer [J]. *Gut*, 2020, 69(7): 1248-1257.
- [33] WONG SH, KWONG TNY, CHOW TC, et al. Quantitation of faecal *Fusobacterium* improves faecal immunochemical test in detecting advanced colorectal neoplasia [J]. *Gut*, 2017, 66(8): 1441-1448.
- [34] ELSAYED S, ZHANG K. Bacteremia caused by *Clostridium symbiosum* [J]. *J Clin Microbiol*, 2004, 42(9): 4390-4392.
- [35] BLANTON LV, CHARBONNEAU MR, SALIH T, et al. Gut bacteria that prevent growth impairments transmitted by microbiota from malnourished children [J]. *Science*, 2016, 351: 6275.
- [36] XIE YH, GAO QY, CAI GX, et al. Fecal *Clostridium symbiosum* for Noninvasive Detection of Early and Advanced Colorectal Cancer: Test and Validation Studies [J]. *E Bio Medicine*, 2017, 25(25): 32-40.
- [37] 赖雪莹. 肠毒素脆弱拟杆菌与 CRC 关系的研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2017.
- [38] BOLRJI A, HECHENBLEIKNER EM, GOODWIN A C, et al. The *Bacteroides fragilis* Toxin Gene Is Prevalent in the Colon Mucosa of Colorectal Cancer Patients [J]. *Clin Infect Dis*, 2014, 60(2): 208-215.
- [39] MYERS LL, FIREHAMMER BD, SHOOP DS, et al. *Bacteroides fragilis*: a possible cause of acute diarrheal disease in newborn lambs [J]. *Infect Immun*, 1984, 44(2): 241-244.
- [40] CHUNG L, THIELE ORBERG E, GEIS AL, et al. *Bacteroides fragilis* Toxin Coordinates a Pro -carcinogenic Inflammatory Cascade via Targeting of Colonic Epithelial Cells [J]. *Cell Host Microbe*, 2018, 23(2): 203-214.
- [41] WU S, RHEE K, ALBESIANO E, et al. A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T

- helper type 17 T cell responses [J]. *Nature Med*, 2009, 15(9): 1016–1022.
- [42] BAO Y, TANG J, QIAN Y, et al. Long noncoding RNA BFAL1 mediates enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*-related carcinogenesis in colorectal cancer via the RHEB/mTOR pathway [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(9): 675.
- [43] GOODWIN AC, DESTEFANO SHIELDS CE, WU S, et al. Polyamine catabolism contributes to enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*-induced colon tumorigenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(37): 15354–15359.
- [44] KIM JM, LEE JY, KIM YJ, et al. Inhibition of apoptosis in *Bacteroides fragilis* enterotoxin-stimulated intestinal epithelial cells through the induction of c-IAP-2 [J]. *Eur J Immunol*, 2008, 38(8): 2190–2199.
- [45] BOLEIJ A, FATHI P, DALTON W, et al. G-protein coupled receptor 35 (GPR35) regulates the colonic epithelial cell response to enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* [J]. *Commun Biol*, 2021, 4(1):585.
- [46] ALLEN J, HAO S, SEARS CL, et al. Epigenetic changes induced by *Bacteroides fragilis* toxin [J]. *Infect Immun*, 2019, 87(6): e00447–18.
- [47] LIU QQ, LI CM, FU LN, et al. Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* induces the stemness in colorectal cancer via upregulating histone demethylase JMJD2B [J]. *Gut Microbes*, 2020, 12(1):1788900.
- [48] FAKHRI H, ELSHAN G, BAHMAN M, et al. The association between fecal enterotoxigenic *B. fragilis* with colorectal cancer [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 879–882.
- [49] BOLEIJ A, HECHENBLEIKNER EM, GOODWIN AC, et al. The *Bacteroides fragilis* toxin gene is prevalent in the colon mucosa of colorectal cancer patients [J]. *Clin Infect Dis*, 2014, 60(2):208–215.
- [50] TENAILLON O, SKURNIK D, PICARD B, et al. The population genetics of commensal *Escherichia coli* [J]. *Nat. Rev. Microbiol*, 2010, 8(3):207–217.
- [51] XUE M, KIM CS, HEALY AR, et al. Crawford, J.M. Structure elucidation of colibactin and its DNA cross-links [J]. *Science*, 2019, 365(6457): 2685.
- [52] BOSSUET-GREIF N, VIGNARD J, TAIEB F, et al. The Colibactin Genotoxin Generates DNA Interstrand Cross-Links in Infected Cells [J]. *mBio*, 2018, 9(2): e02393–17.
- [53] ARTHUR JC, GHARAIBEH RZ, MUHLBAUER M, et al. Microbial genomic analysis reveals the essential role of inflammation in bacteria-induced colorectal cancer [J]. *Nat Commun*, 2014, 5(1): 4724.
- [54] COUGNOUX A, DALMASSO G, MARTINEZ R, et al. Bacterial genotoxin colibactin promotes colon tumour growth by inducing a senescence-associated secretory phenotype [J]. *Gut*, 2014, 63(12): 1932–1942.
- [55] DALMASSO G, COUGNOUX A, DELMAS J, et al. The bacterial genotoxin colibactin promotes colon tumor growth by modifying the tumor microenvironment [J]. *Gut Microbes*, 2014, 5(5): 675–680.
- [56] ARTHUR JC, PEREZ-CHANONA E, MUHLBAUER M, et al. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota [J]. *Science*, 2012, 338(6103): 120–123.
- [57] BUC E, DUBOIS D, SAUVANET P, et al. High prevalence of mucosa-associated *E. coli* producing cyclomodulin and genotoxin in colon cancer [J]. *PLoS ONE*, 2013, 8(2):e56964.
- [58] CASTRO M S, MOLINA M A, AZPIROZ M B, et al. Probiotic activity of *Enterococcus faecalis* CECT7121: effects on mucosal immunity and intestinal epithelial cells [J]. *J Appl Microbiol*, 2016, 121(4): 1117–1129.
- [59] WANG X, YANG Y, HUYCKE MM. Commensal bacteria drive endogenous transformation and tumour stem cell marker expression through a bystander effect [J]. *Gut*, 2015, 64(3): 459–468.
- [60] YANG Y, WANG X, HUYCKE T, et al. Colon macrophages polarized by commensal bacteria cause colitis and cancer through the bystander effect [J]. *Transl Oncol*, 2013, 6(5):596.
- [61] FAN TJ, GOESER L, NAZIRIPOUR A, et al. *Enterococcus faecalis* gluconate phosphotransferase system accelerates experimental colitis and bacterial killing by macrophages [J]. *Infect Immune*, 2019, 87(7): 32–36.
- [62] DE ALMEIDA CV, LULLI M, DI PILATO V, et al. Differential responses of colorectal cancer cell lines to *enterococcus faecalis* strains isolated from healthy donors and colorectal cancer patients [J]. *J Clin Med*, 2019, 8(3): 36–48.
- [63] QIN Y, HAVULINNA AS, LIU Y, et al. Combined effects of host genetics and diet on human gut microbiota and incident disease in a single population cohort [J]. *Nat Genet*, 2022, 54(2):134–142.
- [64] ALLEN B L, TAATJES D J. The Mediator complex: a central integrator of transcription [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2015, 16(3):155–166.
- [65] FIRESTEIN R, BASS AJ, KIM SY, et al. CDK8 is a colorectal cancer oncogene that regulates  $\beta$ -catenin activity [J]. *Nature*, 2008, 455(7212): 547–551.
- [66] WANG T, CAI G, QIU Y, et al. Structural segregation of gut microbiota between colorectal cancer patients and healthy volunteers [J]. *ISME J*, 2012, 6(2): 320–329.
- [67] 宗丽滨, 王晶囡与孙加恒, 肠道菌群与CRC发病风险的Meta分析 [J]. *高师理科学刊*, 2018, 38(10): 22–26.