

李惠,赵菊梅,师长宏. 基于肠道菌群的免疫调节策略用于结直肠癌联合治疗研究的进展 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(3): 436-443.

Li H, Zhao JM, Shi CH. Research progress of intestinal flora immunomodulation combined therapy for colorectal cancer [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(3): 436-443.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2022.03.018

基于肠道菌群的免疫调节策略用于结直肠癌联合治疗研究的进展

李惠^{1,2}, 赵菊梅^{1*}, 师长宏^{2*}

(1. 延安大学基础医学院, 陕西 延安 716000; 2. 空军军医大学实验动物中心, 西安 710032)

【摘要】 肠道菌群可形成特殊的免疫微环境,通过免疫调节机制影响结直肠癌的发生、发展和治疗。本文综述了肠道菌群用于结直肠癌免疫调节治疗的研究进展,回顾了肠道菌群与宿主免疫、肿瘤免疫的关系,重点分析了相关动物实验和临床试验的结果,总结了基于肠道菌群免疫调节联合疗法用于结直肠癌治疗的机制和策略,期望为结直肠癌的治疗提供新的参考。

【关键词】 肠道菌群;结直肠癌;免疫调节;联合治疗;动物模型

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2022)03-0436-08

Research progress of intestinal flora immunomodulation combined therapy for colorectal cancer

LI Hui^{1,2}, ZHAO Jumei^{1*}, SHI Changhong^{2*}

(1. Medical College of Yanan University, Yan'an 716000, China. 2. Laboratory Animal Center, the Air Force Medical University, Xi'an 710032)

Corresponding author: SHI Changhong. E-mail: changhong@fmmu.edu.cn; ZHAO Jumei. E-mail: jzm2003.stu@163.com

【Abstract】 Intestinal flora form a specialized immune microenvironment that affects the occurrence and development of colorectal cancer through immunoregulation. Here, we review the research progress of intestinal flora in immune regulation therapy for colorectal cancer and summarize the relationship between intestinal flora and host or tumor immunity. Moreover, we analyzed the result of related animal experiments and clinical trials and introduce the mechanism and strategy of combination therapy based on intestinal flora immunomodulation for the treatment of colorectal cancer. Thus, this review may provide a reference for the treatment of colorectal cancer.

【Keywords】 intestinal flora; colorectal cancer; immunoregulation; combined treatment; animal models

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

人类肠道菌群由 $10^{13} \sim 10^{14}$ 种微生物组成,基因组包含的基因数约是人类自身基因组的 100 倍,被称为人类的“第二基因组”,它们与宿主细胞以多种方式相互作用,例如代谢、免疫调节等^[1]。肠道菌群通过诱导结肠组织的异常免疫反应削弱肠道上皮屏障,形成特殊的免疫微环境,在疾病的发生、

【基金项目】 陕西省科技资源开放共享平台项目(2021PT-037),实验动物专项课题(SYDW2017-02)。

Funded by Scientific and Technological Resources Open Sharing Platform Project of Shaan Xi Province (2021PT-037), Special Subject of Experimental Animals(SYDW2017-02).

【作者简介】 李惠(1994—),女,硕士,研究方向:人类疾病动物模型。Email:1228559790@qq.com

【通信作者】 师长宏,男,教授,博士生导师,研究方向:人类疾病动物模型研究。Email:changhong@fmmu.edu.cn;

赵菊梅,女,教授,硕士生导师,研究方向:肿瘤分子病理与药物研究。Email:jzm2003.stu@163.com。

* 共同通信作者

发展中发挥非常重要的作用。研究证明具核梭杆菌、产肠毒素脆弱拟杆菌和大肠杆菌等均与结直肠癌(colorectal cancer, CRC)的发生、发展有一定的相关性^[2]。Yang 等^[3]最新研究发现,肠道菌群以脂多糖(LPS)作为触发器,以趋化因子依赖的方式调节单核细胞样巨噬细胞的积累,产生癌前炎症环境,促进肿瘤发生。肠道菌群免疫调节联合免疫治疗、放化疗等手段在 CRC 的治疗中也获得了较好的效果。在免疫治疗中,生菌群通过激活 TLR4(Toll-like receptor 4),刺激肿瘤相关髓系细胞产生炎性细胞因子,从而改善患者的预后^[4]。除此之外,已证明含有链球菌、乳杆菌和双歧杆菌属的制剂具有抗辐射保护作用^[5]以及肠道菌群对化疗药物疗效和毒性具有调节作用^[6]。总之,这些研究阐明了肠道菌群可以影响结直肠癌的发生和治疗。

随着菌群测序和组学技术的发展,肠道菌群逐渐成为 CRC 筛查和预测的生物标志物。此外,肠道菌群联合疗法还可提高 CRC 治疗疗效和减少毒副作用。本文就肠道菌群的免疫调节作用进行综述和讨论,包括肠道菌群与宿主免疫;肠道菌群与肿瘤免疫;重点分析了相关动物实验和临床试验的结果;讨论了肠道菌群联合疗法在 CRC 治疗中的作用机制和策略,并提出了肠道菌群应用于临床前面临的挑战,期望为 CRC 联合肠道菌群免疫调节治疗提供良好的策略。

1 肠道菌群与宿主免疫

哺乳动物肠道内寄居的菌群大多数与宿主互利共生,宿主为肠道菌群提供了生长和繁殖所必须的场所和营养,并参与调节宿主正常发育^[7]。最新研究发现孕中期的胎儿组织器官中存在免疫细胞,通过组织培养分离出葡萄球菌和乳杆菌等菌属的细菌,这些细菌能在体外诱导胎儿肠系膜淋巴记忆 T 细胞活化,提示胎儿体内的细菌在早期免疫发育中的潜在作用^[8]。Bouskra 等^[9]研究发现,无菌小鼠的肠道相关淋巴组织(隐窝结节和孤立淋巴滤泡)发育不成熟,而肠道菌群可促进孤立淋巴滤泡发育,其中革兰氏阴性菌对孤立淋巴滤泡的发育起重要作用。

肠道菌群及其代谢物可影响免疫系统的功能。Schaupp 等^[10]研究发现肠道菌群在稳定状态下控制浆细胞样树突状细胞产生 I 型干扰素(interferon-I, IFN-I),而无菌动物的 pDCs 无法启动适应性免疫反

应。肠道菌群代谢物短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFA)可以调节固有免疫细胞和适应性免疫细胞的产生和功能,其中丁酸可直接作用于肠道粘膜免疫细胞,主要抑制巨噬细胞、中性粒细胞、树突细胞和效应 T 细胞的活性,增加调节性 T 细胞(regulatory T cells, Tregs)的数量及活性^[11]。肠道菌群代谢物丁酸盐可通过作用于短链脂肪酸受体 1(GPR41)及短链脂肪酸受体 3(GPR43)促进活化 CD8⁺ T 细胞的代谢,增强其记忆潜能。无菌小鼠中抗原活化后的 CD8⁺ T 细胞则无法分化成为记忆性 T 细胞^[12]。SCFA 还可减少巨噬细胞、中性粒细胞及树突细胞的募集和迁移,并抑制 T 细胞和 B 细胞的分化,以调节免疫应答和炎症^[13]。更多有关肠道菌群及其代谢物影响免疫系统的研究见表 1。

肠道菌群对宿主免疫系统发育及功能维持至关重要,然而有些细菌可导致免疫失衡,从而诱发 CRC。产肠毒素脆弱拟杆菌会增加上皮细胞的通透性、破坏黏膜屏障,产生炎症,诱发肿瘤^[24]。Kostic 等^[25]研究发现,具核梭杆菌(Fn)喂养 8 周后的 Apc^{Min/+}小鼠能够选择性的增加 CD11b⁺髓样细胞,包括骨髓抑制细胞(MDSCs)、肿瘤相关巨噬细胞(TAMs)和 DCs,这些细胞能够抑制 T 细胞功能,从而促进肿瘤发展。James 等^[26]第一个详细的人类结肠免疫细胞和肠道细菌图谱,显示了结肠中肠道菌群和免疫细胞的变化,该图谱可作为“人类细胞图谱”计划的其中一部分,将推进对结肠特定区域病变的研究,例如溃疡性结肠炎和结直肠癌。

2 肠道菌群与肿瘤免疫

肠道免疫环境中存在着大量淋巴细胞和髓系来源的免疫细胞,在肠道局部免疫平衡和系统免疫平衡的维持中具有重要作用^[27]。当肠道菌群失衡时,人体免疫稳态也会产生紊乱,这些免疫环境的改变可能与 CRC 发生有一定关系。科学家们试图将特定的菌群与 CRC 相联系,然而至今,肠道菌群影响 CRC 发生和发展的机制仍待继续研究。在此,本节将汇总分析与 CRC 发生和发展有关的菌群及相应的免疫机制。

2.1 产肠毒素脆弱拟杆菌

产肠毒素脆弱拟杆菌(*Enterotoxin-producing Bacteroides fragilis*, ETBF)可通过释放毒素,导致肠上皮脱落和 γ 依赖的 E-钙黏蛋白裂解^[28]。ETBF 除了作用于上皮屏障外,还可作用于免疫细胞和免

表 1 肠道菌群及其代谢物对免疫系统的影响

Table 1 Role of intestinal microbiota and metabolites on immune system

免疫应答 Immune response	肠道菌群及其代谢物 Bacteria/bacterial metabolites	免疫系统 Immune system components	主要研究成果 Major findings
固有免疫 Innate immunity	共生菌群 Commensal microbiota	固有免疫系统 Innate immunity	分解吲哚衍生物促进芳烃受体(AhR)介导的屏障功能 ^[14] Decomposition of indole-derivatives by commensals promote barrier functions mediated by AhR ^[14]
	分节丝状菌 <i>Segmented filamentous bacteria</i>	先天淋巴细胞 Innate lymphoid cells	提高先天性淋巴细胞 3(ILC3)产生 IL-22 ^[15] Increased production of IL-22 by congenital lymphocyte 3 (ILC3) ^[15]
适应性免疫 Adaptive immunity	短链脂肪酸 SCFAs	肠上皮细胞 Intestinal epithelial cells	通过孕烷 X 受体(PXR)强化上皮屏障功能 ^[16] SCFAs intensify epithelial barrier function through PXR ^[16]
	艾克曼菌和海氏肠球菌 <i>Eckman and Enterococcus hirshii</i>	树突状细胞 Dendritic cells	诱导 DC 释放 IL-12 ^[18] Induced DC to release IL-12 ^[18]
	梭状芽孢杆菌 <i>Clostridia</i>	调节性 T 细胞 Tregs	诱导 Treg 分化及 IL-10 的表达 ^[19] <i>Clostridium</i> induces Treg differentiation and their expression of IL-10 ^[19]
适应性免疫 Adaptive immunity	脆弱拟杆菌 <i>Bacteroides fragilis</i>	调节性 T 细胞 Tregs	通过 TLR2 诱导 Foxp3 ⁺ Tregs, 并抑制 TH17 反应 ^[20] <i>B. fragilis</i> requires TLR2 to induce Foxp3 ⁺ Tregs and actively suppresses TH17 responses ^[20]
	双歧杆菌 <i>Bifidobacterium</i>	CD4 ⁺ T 细胞和 Th1 细胞 CD4 ⁺ T cells and Th1 cells	产生多聚糖 A 诱导 CD4 ⁺ T 和 Th1 细胞在体循环中积累 ^[21] Production of PSA by <i>B. fragilis</i> induces accumulation of CD4 ⁺ T and Th1 cells in circulation ^[21]
	双歧杆菌 <i>Bifidobacterium</i>	Th17 细胞 Th17 cells	诱导 Th17 细胞的积累 ^[22] <i>B. adolescentis</i> induces accumulation of Th17 cells ^[22]
		树突状细胞 Dendritic cells	改善肿瘤特异性 CD8 ⁺ T 细胞的效应功能 ^[23] <i>Bifidobacterium</i> can improved effector function of tumor-specific CD8 ⁺ T cells ^[23]

疫分子。ETBF 通过激活 TLR, 增加白介素-6 (interleukin-6, IL-6) 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α), 并进一步激活转录因子 3 (STAT3) 和核因子- κ B (NF- κ B), 抑制抗肿瘤免疫, 促使肿瘤发生^[29]。动物实验发现, ETBF 感染的 APC^{min/+} 小鼠在 2 周内发生肿瘤, 进一步研究发现, ETBF 是通过激活小鼠体内 STAT3 诱导促癌 Th17 细胞产生 IL-17, 进而诱导黏膜应答, 抑制抗肿瘤免疫, 导致肿瘤发生^[30]。

2.2 具核梭杆菌

具核梭杆菌 (*Fusobacterium nucleatum*, Fn) 在 CRC 高度富集, 其能诱导局部炎症, 增加 IL-6、IL-8、IL-12、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、TNF- α 等炎性细胞因子, 导致结直肠癌的发生。Fn 及其组分允许肿瘤浸润骨髓细胞上的 TLRs 参与和激活 myd88 介导的炎症细胞因子的

产生, 最明显的是 IL-23 的产生。IL-23 通过诱导 IL-17A、IL-6 和 IL-22 的产生促进 CRC 的发展^[31]。Fn 通过促进肿瘤免疫逃逸、抑制自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK) 或 T 细胞抗肿瘤防御, 调节 E-cadherin/ β -catenin 来支持 CRC 的发展和转移^[32], 也有报道大肠癌组织中 Fn 会随着癌细胞转移而转移^[33]。

2.3 粪肠球菌

粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis*, EF) 激活黏膜巨噬细胞产生旁观者效应, 当未转化的原代上皮细胞暴露于粪肠球菌极化的巨噬细胞时, 肠上皮细胞发生染色体不稳定 (chromosome instability, CIN), 然后转化为癌细胞^[34]。TNF- α 作为巨噬细胞诱导的旁观者效应的扩散介质, 这种炎性细胞因子由粪肠杆菌触发, 并通过神经突起导向因子 Netrin-1 的抗凋亡作用导致结肠上皮细胞增殖^[34]。粪肠球菌可诱

导肠上皮细胞内超氧化物的形成可增强巨噬细胞中 COX-2 的表达,促进肠上皮细胞中 CIN 的形成导致结肠上皮细胞损伤。动物实验研究发现,产超氧化物粪肠球菌感染的无菌 IL-10^{-/-}小鼠产生结肠炎和结肠癌;不产生超氧化物的粪肠球菌感染的无菌 IL-10^{-/-}小鼠仅产生结肠炎^[35]。

肠道菌群通过调节免疫微环境促进肿瘤发生、发展。将肠道菌群作为一种生物学指标,可用于健康状态的评估和 CRC 的发病风险及其预后的预测。同时以肠道菌群为靶点,选择性的清除致癌菌群,深入研究其致癌机制可为 CRC 治疗提供参考依据。此外,破译更多具有特异性的致癌肠道菌群并表征其潜在机制也十分必要。

3 肠道菌群免疫调节联合疗法治疗结肠直肠癌的机制

癌症治疗会干扰宿主的免疫反应,并导致免疫系统功能异常,进而影响治疗效率。动物实验表明,肠道菌群及其代谢物可激活抗肿瘤免疫反应,从而提高药物疗效、减轻毒副作用。双歧杆菌通过干扰素刺激基因(STING)和 T 细胞表面腺苷 2A 受体(A2AR)信号通路以及鼠李糖乳杆菌(LGG)通过 DC 中 cGAS/STING/TBK1/IRF7 轴均可增强免疫治疗疗效^[36-38];LGG 通过激活小肠隐窝周围巨噬细胞 TLR2 通路来减轻放疗造成的小肠损伤^[39];肠道菌群代谢物丁酸可通过提高 CD8⁺T 细胞中 ID2 的表达来增强 CD8⁺T 细胞的抗肿瘤免疫应答,从而改善化疗药物奥沙利铂的疗效^[40]。

3.1 肠道菌群免疫调节联合免疫治疗的机制

肿瘤免疫治疗是通过激活机体自身免疫机能对肿瘤细胞或组织进行识别并杀伤,已证实肠道菌群通过改变肿瘤免疫微环境从而改善肿瘤免疫治疗效果^[41]。2015 年发表的 2 篇意义重大的文章,首次将肠道菌群与免疫检查点抑制剂(immun checkpoint inhibitors, ICIs)疗效联系起来^[23,32]。其中来自法国团队的研究表明抗细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4(cytotoxic T-lymphocyte associated antigen 4, CTLA-4)不能抑制无菌小鼠的肿瘤生长,而多形拟杆菌(*B. thetaiotaomicron*)和脆弱类杆菌(*B. fragilis*)可增加辅助性 T 细胞 1(T helper cells1, Th1)免疫应答,促进瘤内 DC 的成熟,增强小鼠对抗 CTLA-4 的抗癌反应^[23]。来自美国团队以类似的方法证明了双歧杆菌增强 DC 的活化,提高抗 PD-L1 的治疗效果^[32]。2019 年,首次表征了中国人

群肠道菌群与免疫治疗响应之间的关联,发现肠道菌群的多样性与患者外周 CD8⁺T 细胞和 NK 细胞以及颗粒酶 B 的水平呈正相关^[42]。

研究表明在大肠癌模型小鼠中,LGG 与抗 PD-1 联合治疗后小鼠肠道疣微菌门减少、拟杆菌门增加,并使鼠乳杆菌和单形拟杆菌富集,这两种细菌分别与肠道 DC 的活化和 CD8⁺T 细胞的肿瘤浸润相关;口服 LGG 活菌能通过增加肿瘤内 DC 和 T 细胞来增强抗 PD-1 免疫治疗的抗肿瘤效果,其机制是 LGG 通过 DC 中 cGAS/STING/TBK1/IRF7 轴诱导其产生 IFN- β ,从而增强抗肿瘤 CD8⁺T 细胞活化以及肿瘤浸润^[38]。有研究表明,肠道菌群还可以促进 CD47 单抗的抗肿瘤疗效。不同肠道菌群背景的 Jax 小鼠与 Tac 小鼠对 CD47 单抗的反应有明显差别。两种小鼠共饲养后,对 CD47 单抗均可产生应答;静脉或瘤内注射双歧杆菌属可在原来无应答的 Tac 小鼠的肿瘤内富集,并对 CD47 单抗产生应答。分析机制发现瘤内的双歧杆菌可通过激活 STING 信号以增强 IFN-I,从而促进 DC 的交叉呈递,增强了肿瘤组织内抗 CD47 免疫治疗的抗肿瘤效果^[36]。Mager 等^[37]发现了 1 种新的微生物代谢物相关免疫通路。在 CRC 小鼠模型中,假长双歧杆菌(*B. pseudolongum*)代谢产物肌苷在特定环境下(CpG 和树突状细胞分泌的 IL-12 的协同刺激)通过 T 细胞特异性腺苷 2A 受体(A2AR)信号刺激 cAMP-PKA-pCREB 通路,在肿瘤抗原激活 T 细胞受体(TCR)的协同作用下,IL-12 受体(IL-12R)表达上调。随后,DC 衍生的 IL-12 刺激促进了肌苷诱导 CD4⁺T 细胞中 TH1 基因的表达,加入免疫检查点抑制剂可促进 IFN- γ 的产生,从而提高了 ICI 疗效。研究人员还揭示艾克曼菌(*Akkermansia muciniphila*)同样也可产生肌苷,具有相似的抗肿瘤效果。在 MC38 结肠癌小鼠模型中,屎肠球菌(*Enterococcus faecium*)表达并分泌肽聚糖水解酶分泌抗原 A(SagA),能降解细菌的胞壁肽聚糖成分,生成有免疫活性的胞壁肽(如胞壁酰二肽 MDP),从而通过激活 NOD2 信号来增强免疫治疗效果。此外,通过转基因技术使乳酸菌(*Lactococcus lactis*)表达 SagA,也能增强 ICI 抗肿瘤疗效^[43]。

3.2 肠道菌群介导免疫调节联合放化疗治疗结肠直肠癌的机制

放射疗法(RT)是通过破坏肿瘤细胞 DNA 来杀伤肿瘤细胞的有效方法^[44],超过 50%的实体瘤患者

在治疗期间的某个时间点接受了放疗,通常与化疗联合使用^[45],然而,放化疗引起的某些毒副作用通常限制了其广泛应用^[46-47]。最近的研究发现肠道菌群免疫调节可以降低毒副作用,提高放化疗的治疗效果。

最新研究揭示了肠道菌群代谢产物在辐射防护中的关键作用,为减轻辐射暴露的副作用提供了有前景的治疗靶点^[48]。接受高剂量电离辐射后幸存的小鼠拥有特殊的肠道菌群及其代谢物,其中毛螺菌科 (*Lachnospiraceae*) 和肠球菌科 (*Enterococcaceae*) 成员的丰度以及下游以丙酸和色氨酸途径为代表的代谢物能够保护造血系统和胃肠道系统免受辐射伤害^[49]。腹部放疗治疗结肠癌时,主要的毒副作用是小肠损伤。LGG 通过释放脂磷壁酸(LTA)激活小肠隐窝周围巨噬细胞 TLR2 通路,从而诱导趋化因子 CXCL12 表达;小肠固有层中 COX-2⁺ 间充质干细胞 (MSC) 表达的 CXCR4 与 CXCL12 结合,激活 MSC 向肠隐窝上皮干细胞附近迁移,使辐射损伤得以迅速修复。此外, MSC 释放前列腺素 E2 保护上皮干细胞免受辐射诱导的凋亡,减轻腹部放疗造成的小肠损伤^[39]。在肿瘤小鼠模型中,肠道菌群衍生的吡啶 3-丙酸 (IPA) 处理可以抑制辐照诱导的小鼠死亡、体重减轻、造血系统损伤及胃肠道毒性。其中孕烷 X 受体/酰基辅酶 A 结合蛋白 (PXR/ACBP) 信号在 IPA 介导的辐射保护中发挥关键作用^[48]。最新研究发现肠道菌群代谢产物丁酸盐可通过抑制其组蛋白去乙酰化酶活性诱导 ID2 的表达,促进 IL-12 信号通路,从而在体内及体外直接增强小鼠 CD8⁺T 细胞的增殖和功能,促进化疗药物奥沙利铂的抗癌疗效;同时分离自健康人的 CD8⁺T 细胞体外培养中,丁酸盐也可增加 CD8⁺T 细胞的 ID2 及 IFN- γ 表达^[40]。

4 肠道菌群免疫调节联合疗法治疗结肠癌的策略

肠道菌群通过免疫调节影响 CRC 免疫治疗、放疗和化疗的分子机制逐渐被阐明,为利用肠道菌群联合治疗策略提供参考。部分动物实验和临床研究已证明肠道菌群干预策略能一定程度上能提高免疫检查点抑制剂治疗、放化疗的敏感性或减轻不良反应。

4.1 肠道菌群免疫调节联合免疫治疗的策略

基础研究方面,在小鼠模型中,调节肠道菌群可提高肿瘤免疫疗法的疗效以及缓解毒副作用^[50]。

CD8⁺T 细胞介导抗肿瘤免疫反应,增强免疫治疗疗效。正常小鼠灌胃 LGG 两周后,小肠 CD8⁺T 和 CD4⁺T 细胞数量扩增,结肠 CD8⁺T 细胞特异性反应升高。转基因肿瘤模型小鼠和 DSS-AOM 诱导的结肠癌模型小鼠灌胃 LGG 后,CD8⁺T 细胞数量增加,肿瘤被显著抑制^[51]。肠道菌群还可以有效增强过继转移的自身/肿瘤特异性 CD8⁺T 细胞的抗肿瘤功能,抑制肿瘤生长;用抗生素处理宿主肠道菌群,会显著降低肿瘤抑制作用;实验小鼠输注含微生物配体血浆或者超纯脂多糖可增强 CD8⁺细胞活化,抑制肿瘤生长^[52]。双歧杆菌以 CD4⁺Treg 依赖性方式改变肠道菌群组成,缓解 CTLA-4 单抗诱导的小鼠结肠炎,并鉴定出短双歧杆菌及 LGG 在结肠炎的缓解中发挥了关键作用^[53]。

临床研究方面,法国 Gustave Roussy 癌症中心对接受过 ICI 治疗的 249 例患者进行分析,发现艾克曼菌 (*Akkermansia muciniphila*) 普遍存在于对 ICI 治疗反应良好的患者体内,而使用抗生素 (氨苄青霉素+黏菌素+链霉素) 的患者肠道菌群紊乱,在接受 ICI 治疗后,癌症很快复发,无进展生存期和中位总生存期皆短于前者^[18]。有研究表明,对 74 名接受 PD-1/PD-L1 单抗治疗的晚期胃肠道癌症 (包括 CRC、胃癌、食管癌等) 患者在治疗前及治疗期间的粪便菌群进行分析,发现普氏菌属与拟杆菌属的比值升高与更好的临床应答相关^[54]。基于特定细菌分类构建模型可较准确地预测患者的应答。

4.2 肠道菌群介导免疫调节影响结直肠癌放化疗的策略

基础研究方面,辐射会导致造血和胃肠道等多组织器官损伤,肠道菌群与抗辐射损伤存在关联。一项关于富氢水 (hydrogen-water) 改善放射治疗副作用的研究表明,小鼠中口服富氢水可提高小鼠小肠组织中靶向 MyD88 的 miR-1968-5p 水平,有利于保护肠道菌群,进而缓解放射治疗引起的胃肠道毒性^[55]。粪菌移植 (fecal microbiota transplantation, FMT) 也可缓解急性辐射综合征, FMT 增加外周白细胞计数并改善胃肠道功能和保护肠上皮完整性,增加了辐照小鼠的生存率,是减轻放射毒性的有效方法^[56]。通过高通量测序技术发现不同性别小鼠的胃肠道细菌群落组成不同,并与对辐射 (放射性) 毒性的敏感度有关。口服辛伐他汀仅能在雄性小鼠中改善造血系统损伤、胃肠道功能和上皮完整性,而喂食高脂饮食仅对雌性小鼠有效,明显减

轻骨髓和胃肠道毒性。使用抗生素或移植另一性别的肠道菌群,会消除上述治疗效果。不同治疗方法(口服辛伐他汀或高脂饮食)对辐射损伤的治疗效果具有性别差异性,这种差异为治疗策略提供新的思路^[57]。

临床研究方面,有研究分析了 45 例结肠癌患者同步放化疗(concurrent chemoradiation, CCRT)前的粪便样品,发现完全缓解(complete response, CR)和非 CR 患者之间的 α -多样性无显著差异,而 β -多样性差异显著,非 CR 患者粪菌中的拟杆菌目(拟杆菌科、理研菌科和拟杆菌属)多于 CR 患者^[58]。在大肠癌患者化疗后复发的癌组织中,发现 Fn 的丰度占优势,并与病人的临床病理特征相关,通过生物信息学和功能分析发现 Fn 可促进大肠癌化疗耐药^[59]。未来通过靶向 Fn 及相关信号通路,对大肠癌患者的预后进行准确评价。在一些临床研究中,已证明益生菌有助于预防与辐射有关的肠病,含有双歧杆菌、嗜酸乳杆菌、酪乳杆菌和链球菌等的制剂可减少放化疗引起的肠道毒性,例如腹泻^[5,60]。

越来越多的研究证明肠道菌群在 CRC 精准治疗策略中发挥着关键作用。因此,有针对性地干预患者肠道菌群,制定具有患者个性化的治疗方案,对提高免疫治疗、放疗以及化疗疗效,减少不良反应有很大参考意义。

5 结论与展望

综上所述,大量研究证实了肠道菌群以免疫调节的方式影响 CRC 的治疗。如果在 CRC 治疗之前或者治疗初期对肠道菌群进行靶向调控,可以增加抗肿瘤作用,并且降低毒副作用。随着新一代测序技术和代谢组学的发展,将会发现更多与肿瘤特异性相关的肠道菌群,并逐渐阐明其确切分子机制。利用这些研究成果,可以直接或间接调节肠道菌群及其代谢产物来达到精准治疗目标。尽管肠道菌群为 CRC 的治疗开辟了一个新的途径,但要实现临床应用仍存在诸多挑战。

(1) 肠道菌群是否可以作为结直肠癌的生物标志物需要进一步明确

在 CRC 患者中检测到特异性菌群的变化可作为疾病筛查和预后预测的生物标志物,例如,具核梭杆菌与 CRC 患者的发病和不良预后相关。此外,检测粪便微生物标记物具有补充现有检测方法或提供非侵入性诊断 CRC 的替代方案的潜力。然而

其难以检测到与 CRC 相关的息肉、腺瘤等早期病变,且也难以应用于炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)、II 型糖尿病等肠道菌群已经发生异常的人群。

(2) 肠道菌群样本采集及测序和分析的方法亟需标准化

标准化的菌群取样方法不仅局限于粪便样本,还应包括组织样本、肠道内黏液等,不同类型的标本取样方式不同,影响因素不同,亟需规范操作流程。此外,癌症患者之间的菌群差异也可能源于各自研究小组应用的检测和分析技术的差异,需要建立一个测序和生物信息学分析的统一标准。

(3) 基础研究如何与临床研究协同发展促进临床前转化

目前尚不清楚在 CRC 患者治疗中到底哪些微生物对哪一类免疫检查点抑制剂、放疗和化疗药物起关键作用,以及个体间菌群组成及功能的不同是否导致的药物应答的差异,动物试验结果需要与临床研究数据进行系统比对,协同推进,从而可以有效地将肠道菌群靶向治疗临床前模型转化为临床应用。

总而言之,基于肠道菌群免疫调节联合免疫治疗和放疗已经在 CRC 的治疗中取得了初步成效。但需要克服上述挑战,从广度和深度上来探索肠道菌群的功能,从而为 CRC 患者制定个性化的干预措施,提高抗癌疗效,减少不良反应。

参 考 文 献 (References)

- [1] Gill SR, Pop M, Deboy RT, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome [J]. *Science*, 2006, 312(5778): 1355-1359.
- [2] Si H, Yang Q, Hu H, et al. Colorectal cancer occurrence and treatment based on changes in intestinal flora [J]. *Semin Cancer Biol*, 2021, 70: 3-10.
- [3] Yang YB, Li LL, Xu CJ, et al. Cross-talk between the gut microbiota and monocyte-like macrophages mediates an inflammatory response to promote colitis-associated tumorigenesis [J]. *Gut*, 2020, 70(8): 1495-1506.
- [4] Iida N, Dzutsev A, Stewart CA, et al. Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment [J]. *Science*, 2013, 342(6161): 967-970.
- [5] Toucheffeu Y, Montassier E, Nieman K, et al. Systematic review: the role of the gut microbiota in chemotherapy- or radiation-induced gastrointestinal mucositis-current evidence and potential clinical applications [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2014, 40: 409-421.
- [6] Cheng WY, Wu CY, Yu J. The role of gut microbiota in cancer

- treatment: friend or foe? [J]. *Gut*, 2020, 69(10): 1867–1876.
- [7] Kamada N, Seo SU, Chen GY, et al. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(5): 321–335.
- [8] Mishra A, Lai GC, Yao LJ, et al. Microbial exposure during early human development primes fetal immune cells [J]. *Cell*, 2021, 184(13): 3394–3409.
- [9] Bouskra D, Brézillon C, Bérard M, et al. Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis [J]. *Nature*, 2008, 456(7221): 507–510.
- [10] Schaupp L, Muth S, Rogell L, et al. Microbiota-induced type I interferons instruct a poised basal state of dendritic cells [J]. *Cell*, 2020, 181(5): 1080–1096.
- [11] Gonçalves P, Araújo JR, Di Santo JP. A cross-talk between microbiota-derived short-chain fatty acids and the host mucosal immune system regulates intestinal homeostasis and inflammatory bowel disease [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2018, 24(3): 558–572.
- [12] Bachem A, Makhlof C, Binger KJ, et al. Microbiota-derived short-chain fatty acids promote the memory potential of antigen-activated CD8⁺ T Cells [J]. *Immunity*, 2019, 51(2): 285–297.
- [13] Yao Y, Cai X, Fei W, et al. The role of short-chain fatty acids in immunity, inflammation and metabolism [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2020, 62(1): 1–12.
- [14] Stockinger B, Di Meglio P, Gialitakis M, et al. The aryl hydrocarbon receptor: multitasking in the immune system [J]. *Annu Rev Immunol*, 2014, 32: 403–432.
- [15] Atarashi K, Tanoue T, Ando M, et al. Th17 cell induction by adhesion of microbes to intestinal epithelial cells [J]. *Cell*, 2015, 163(2): 367–380.
- [16] Venkatesh M, Mukherjee S, Wang H, et al. Symbiotic bacterial metabolites regulate gastrointestinal barrier function via the xenobiotic sensor PXR and toll-like receptor 4 [J]. *Immunity*, 2014, 41(2): 296–310.
- [17] Segain JP, Raingeard de la Blétière D, Bourreille A, et al. Butyrate inhibits inflammatory responses through NFκB inhibition: implications for Crohn's disease [J]. *Gut*, 2000, 47(3): 397–403.
- [18] Routy B, Le Chatelier E, Derosa L, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors [J]. *Science*, 2018, 359(6371): 91–97.
- [19] Atarashi K, Tanoue T, Oshima K, et al. Treg induction by a rationally selected mixture of clostridia strains from the human microbiota [J]. *Nature*, 2013, 500(7461): 232–236.
- [20] Round JL, Lee SM, Li J, et al. The toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a commensal of the human microbiota [J]. *Science*, 2011, 332(6032): 974–977.
- [21] Mazmanian SK, Liu CH, Tzianabos AO, et al. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system [J]. *Cell*, 2005, 122(1): 107–118.
- [22] Tan TG, Sefik E, Geva-Zatorsky N, et al. Identifying species of symbiont bacteria from the human gut that, alone, can induce intestinal Th17 cells in mice [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(50): E8141–E8150.
- [23] Vetizou M, Pitt JM, Daillere R, et al. Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota [J]. *Science*, 2015, 350(6264): 1079–1084.
- [24] Sears CL. Enterotoxigenic bacteroides fragilis: a rogue among symbiotes [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2009, 22(2): 349–369.
- [25] 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.
- [26] James KR, Gomes T, Elmentaite R, et al. Distinct microbial and immune niches of the human colon [J]. *Nat Immunol*, 2020, 21(3): 343–353.
- [27] Brown EM, Sadarangani M, Finlay BB. The role of the immune system in governing host-microbe interactions in the intestine [J]. *Nat Immunol*, 2013, 14(7): 660–667.
- [28] Yu YN, Fang JY. Gut microbiota and colorectal cancer [J]. *Gastrointest Tumors*, 2015, 2(1): 26–32.
- [29] Song XY, Gao HC, Lin YY, et al. Alterations in the microbiota drive interleukin-17C production from intestinal epithelial cells to promote tumorigenesis [J]. *Immunity*, 2014, 40(1): 140–152.
- [30] Tosolini M, Kirilovsky A, Mlecnik B, et al. Clinical impact of different classes of infiltrating T cytotoxic and helper cells (Th1, th2, treg, th17) in patients with colorectal cancer [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(4): 1263–1271.
- [31] Wang X, Huycke MM. Colorectal cancer: role of commensal bacteria and bystander effects [J]. *Gut Microbes*, 2015, 6(6): 370–376.
- [32] Sivan A, Corrales L, Hubert N, et al. Commensal *Bifidobacterium* promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy [J]. *Science*, 2015, 350(6264): 1084–1089.
- [33] Bullman S, Pedamallu CS, Sicinska E, et al. Analysis of *Fusobacterium* persistence and antibiotic response in colorectal cancer [J]. *Science*, 2017, 358(6369): 1443–1448.
- [34] Yang Y, Wang X, Moore DR, et al. TNF-α mediates macrophage-induced bystander effects through Netrin-1 [J]. *Cancer Res*, 2012, 72(20): 5219–5229.
- [35] Winters MD, Schlinke TL, Joyce WA, et al. Prospective case-cohort study of intestinal colonization with enterococci that produce extracellular superoxide and the risk for colorectal adenomas or cancer [J]. *Am J Gastroenterol*, 1998, 93(12): 2491–2500.
- [36] Shi Y, Zheng W, Yang K, et al. Intratumoral accumulation of gut microbiota facilitates CD47-based immunotherapy via STING signaling [J]. *J Exp Med*, 2020, 217(5): e20192282.
- [37] Mager LF, Burkhard R, Pett N, et al. Microbiome-derived inosine modulates response to checkpoint inhibitor immunotherapy

- [J]. Science, 2020, 369(6510): 1481–1489.
- [38] Si W, Liang H, Bugno J, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG induces cGAS/STING- dependent type I interferon and improves response to immune checkpoint blockade [J]. Gut, 2021, 71(3): 521–533.
- [39] Riehl TE, Alvarado D, Ee X, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG protects the intestinal epithelium from radiation injury through release of lipoteichoic acid, macrophage activation and the migration of mesenchymal stem cells [J]. Gut, 2019, 68(6): 1003–1013.
- [40] He Y, Fu L, Li Y, et al. Gut microbial metabolites facilitate anticancer therapy efficacy by modulating cytotoxic CD8⁺ T cell immunity [J]. Cell Metab, 2021, 33(5): 988–1000.
- [41] 郭文文, 乔天运, 张彩勤, 等. 免疫系统人源化小鼠模型的构建及其在肿瘤治疗研究中的应用 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(11): 98–104.
- Guo WW, Qiao TY, Zhang CQ, et al. Establishment of mouse models with a humanized immune system and applications for tumor immunotherapy [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(11): 98–104.
- [42] Jin Y, Dong H, Xia L, et al. The diversity of gut microbiome is associated with favorable responses to anti-programmed death 1 immunotherapy in Chinese patients with NSCLC [J]. J Thorac Oncol, 2019, 14(8): 1378–1389.
- [43] Griffin ME, Espinosa J, Becker JL, et al. Enterococcus peptidoglycan remodeling promotes checkpoint inhibitor cancer immunotherapy [J]. Science, 2021, 373(6558): 1040–1046.
- [44] Formenti SC, Demaria S. Radiation therapy to convert the tumor into an in situ vaccine [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2012, 84(4): 879–80.
- [45] Watts K, Wills C, Madi A, et al. Genome-wide association studies of toxicity to oxaliplatin and fluoropyrimidine chemotherapy with or without cetuximab in 1800 patients with advanced colorectal cancer [J]. Int J Cancer, 2021, 149(9): 1713–1722.
- [46] Hauer-Jensen M, Denham JW, Andreyev HJ. Radiation enteropathy-pathogenesis, treatment and prevention [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2014, 11(8): 470–479.
- [47] Uribe-Herranz M, Rafail S, Beghi S, et al. Gut microbiota modulate dendritic cell antigen presentation and radiotherapy-induced antitumor immune response [J]. J Clin Invest, 2020, 130(1): 466–479.
- [48] Xiao HW, Cui M, Li Y, et al. Gut microbiota-derived indole 3-propionic acid protects against radiation toxicity via retaining acyl-CoA-binding protein [J]. Microbiome, 2020, 8(1): 69.
- [49] Guo H, Chou WC, Lai Y, et al. Multi-omics analyses of radiation survivors identify radioprotective microbes and metabolites [J]. Science, 2020, 370(6516): eaay9097.
- [50] Snyder A, Pamer E, Wolchok J. Could microbial therapy boost cancer immunotherapy? [J]. Science, 2015, 350(6264): 1031–1032.
- [51] Owens JA, Saeedi BJ, Naudin CR, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG orchestrates an anti-tumor immune response [J]. Cell Mol Gastroenterol Hepatol, 2021, 12(4): 1311–1327.
- [52] Paulos CM, Wrzesinski C, Kaiser A, et al. Microbial translocation augments the function of adoptively transferred self/tumor-specific CD8⁺ T cells via TLR4 signaling [J]. J Clin Invest, 2007, 117(8): 2197–2204.
- [53] Sun S, Luo LJ, Liang WH, et al. *Bifidobacterium* alters the gut microbiota and modulates the functional metabolism of T regulatory cells in the context of immune checkpoint blockade [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2020, 117(44): 27509–27515.
- [54] Peng Z, Cheng S, Kou Y, et al. The gut microbiome is associated with clinical response to Anti-PD-1/PD-L1 immunotherapy in gastrointestinal cancer [J]. Cancer Immunol Res, 2020, 8(10): 1251–1261.
- [55] Xiao HW, Li Y, Luo D, et al. Hydrogen-water ameliorates radiation-induced gastrointestinal toxicity via MyD88's effects on the gut microbiota [J]. Exp Mol Med, 2018, 50(1): e433.
- [56] Cui M, Xiao HW, Li Y, et al. Faecal microbiota transplantation protects against radiation-induced toxicity [J]. EMBO Mol Med, 2017, 9(4): 448–461.
- [57] Cui M, Xiao HW, Li Y, et al. Sexual dimorphism of gut microbiota dictates therapeutics efficacy of radiation injuries [J]. Adv Sci (Weinh), 2019, 6(21): 1901048.
- [58] Jang BS, Chang JH, Chie EK, et al. Gut microbiome composition is associated with a pathologic response after preoperative chemoradiation in patients with rectal cancer [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2020, 107(4): 736–746.
- [59] Yu TC, Guo FF, Yu YA, et al. *Fusobacterium nucleatum* promotes chemoresistance to colorectal cancer by modulating autophagy [J]. Cell, 2017, 170(3): 548–563.
- [60] Blararova C, Galovicova A, Petrasova D. Use of probiotics for prevention of radiation-induced diarrhea [J]. Bratisl Lek Listy, 2009, 110(2): 98–104.

[收稿日期] 2021-09-07