

黄鑫,古文鹏,黎晓慧,等. 基于 16S rRNA 测序对树鼩肠道菌群特征与高级别肉瘤的相关性分析[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(8): 11-16,49.

Huang X, Gu WP, Li XH, et al. Correlation analysis of intestinal tract microflora dysregulation and high-grade sarcoma based on 16S rRNA sequencing [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(8): 11-16,49.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.08.002

基于 16S rRNA 测序对树鼩肠道菌群特征与高级别肉瘤的相关性分析

黄鑫^{1,2},古文鹏²,黎晓慧²,李娜²,贾杰²,李明学²,代解杰^{1,2*}

(1.昆明医科大学,昆明 650500; 2.中国医学科学院/北京协和医学院医学生物学研究所树鼩种质资源中心, 云南省重大传染病疫苗研发重点实验室,中国医学科学院医学生物学研究所实验树鼩标准化与应用研究省创新团队,昆明 650118)

【摘要】 目的 检测高级别肉瘤的树鼩肠道微生物菌群结构,为探讨肠道微生物菌群结构的改变与肿瘤发生的相关性提供科学依据。**方法** 选取 3 例患有恶性高级别肉瘤树鼩粪便为 CA 组,6 例健康树鼩粪便为对照 NO 组。通过 16SV3+4 区引物进行细菌多样性的鉴定,通过对 Reads 剪切过滤,OTUs 聚类,并进行物种注释及丰度分析,得出两组树鼩肠道微生物结构、丰度以及多样性。**结果** 比较 CA 组和 NO 组树鼩肠道微生物结构,多样性指数 Chao1 指数值、ACE 指数值、Shannon 指数值差异无统计学意义($P>0.05$)。NO 组的树鼩肠道菌群 OTUs 为 640 种,而 CA 组为 494 种,健康树鼩肠道菌群结构呈多样性。在门水平上比较,其中 CA 组中螺旋体门(Spirochaetes)丰度为 0.03%,低于 NO 组(丰度为 0.12%),且差异有统计学意义($P<0.05$);CA 组厚壁菌门(Firmicutes)丰度为 77.79%高于 NO 组(47.65%),但差异无统计学意义;CA 组的拟杆菌门(Bacteroidetes)丰度为 0.75%低于 NO 组(8.31%),但差异无统计学意义。CA 组中的乳杆菌属(*Lactobacillus*)是具有统计学意义的生物标识。**结论** 患有高级别肉瘤树鼩的肠道菌群结构丰度和多样性低于健康树鼩,肠道菌群的结构改变及厚壁菌门含量增加可能增加恶性肿瘤的发生。

【关键词】 肠道菌群;高级别肉瘤;16srRNA 测序;树鼩

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 08-0011-06

Correlation analysis of intestinal tract microflora dysregulation and high-grade sarcoma based on 16S rRNA sequencing

HUANG Xin^{1,2}, GU Wenpeng², LI Xiaohui², LI Na², JIA Jie², LI Mingxue², DAI Jiejie^{1,2*}

(1. Kunming Medical University, Kunming 650500, China. 2. Chinese Academy of Medical Sciences/Peking Union Medical College, Institute of Medical Biology, Center of Tree Shrews Germplasm Resource, Yunnan Key Laboratory of Major Infections Diseases Vaccine Development, Kunming 650118)

【Abstract】 Objective To investigate the distribution of intestinal microflora in tree shrews with high-grade sarcomas and healthy tree shrews and compare their intestinal microbial structure and diversity, and to explore the

[基金项目] 云南省科技人才和平台计划项目(2017HC019), 云南省联合支持国家计划项目(2015GA009), 云南省重大科技专项(2017ZF007)。

[作者简介] 黄鑫(1994—),女,在读硕士,研究方向:人类疾病动物模型的建立及疾病机理研究。E-mail: huangxin_1994@163.com

[通信作者] 代解杰(1961—),男,研究员,博士生导师。研究方向:人类疾病动物模型的建立及疾病机理研究。E-mail: dj@imbcams.com.cn

relationship of intestinal microflora between high-grade sarcoma and healthy one in tree shrews. **Methods** Feces from three tree shrews with malignant high-level sarcomas were selected as the CA group, and feces from 6 healthy tree shrews were used as the control group (NO). Bacterial diversity was identified using primers in the 16S V3+4 region. The intestinal microbial structure, abundance and diversity were obtained for both groups by cutting and filtering reads, clustering operational taxonomic units (OTUs), and analyzing the species annotation and abundance. **Results** The intestinal microbial structure of the tree shrews in the CA and NO groups were compared, and the Chao1 diversity, ACE and Shannon indices did not show significant differences ($P>0.05$). The NO group contained 640 OTUs, and 494 OTUs were found in the CA group. At the phylum level, the abundance of Spirochaetes in the CA group was 0.03%, which was significantly lower than that in the NO group (0.12%; $P<0.05$). The abundance of Firmicutes in the CA group was 77.79%, which was higher than that in the NO group (47.65%), but the difference was not statistically significant. The Bacteroidetes abundance in the CA group was 0.75% lower than that in the NO group (8.31%), but this difference was also not statistically significant. *Lactobacillus* was a statistically significant biomarker in the CA group. **Conclusions** The structural abundance and diversity of the intestinal microflora in tree shrews with high-grade sarcomas are lower than those in healthy tree shrews.

[Keywords] intestinal microflora; high-grade sarcoma; 16S rRNA; sequence; tree shrews

高级别肉瘤(high-grade sarcoma)多发生于骨和软骨组织的少见恶性间叶性肿瘤,其主要由成纤维细胞和多形性细胞组成。近年来许多研究发现,肠道微生物与肿瘤的发生、发展以及治疗预后有密切的相关,已经发展成为肿瘤领域的热点问题^[1-2]。目前已有研究者报道,肠道微生物在结肠癌和胃癌等肠道癌症的病程发展中起到了重要的作用,另外还参与乳腺癌、宫颈癌、肝癌等非肠道癌症的发病^[3-4]。有证据证明,树鼩在进化地位上更接近于人类,并且树鼩的新陈代谢远比小鼠、家兔更接近于人,大体解剖也接近于人,因此在生物医学以及医学研究领域有着更重要的应用价值^[5-6]。在本研究中,共选取了9例样本,其中3例为患有高级别肉瘤的树鼩和6例健康对照组的树鼩粪便样本作为研究对象。

本研究采用高通量测序平台,构建小片段文库进行单端测序,并进行物种注释及丰度分析,旨在研究患有高级别肉瘤的树鼩肠道菌群结构,并与健康树鼩肠道微生物结构与多样性进行比对,初步探讨肠道微生物与高级别肉瘤之间的关系。

1 材料和方法

1.1 实验动物及样本

本项研究共包括9只雌性树鼩。其中包括3例HE病理染色诊断为患有高级别肉瘤的树鼩(CA组)采集直肠新鲜粪便样本1~2 g,随机选择同期6例健康树鼩新鲜粪便样本为健康对照(NO组)。平均年龄(4 ± 1)岁,体重180~200 g。9只树鼩从未发生过消化系统疾病,也未使用过抗生素。普通级中

缅甸树鼩滇西亚种(tree shrew, *Tupaia belangeri chinensis*)由中国医学科学院医学生物学研究所树鼩种质资源中心提供[SCXK(滇)K2018-0002],并饲养于中国医学科学院医学生物学研究所树鼩种质资源中心普通环境中[SYXK(滇)K2018-0002],于中国医学科学院医学生物学研究所树鼩种质资源中心进行实验。并根据实验动物使用的3R原则给予实验树鼩人道主义关怀。

1.2 研究方法

CA组和NO组采集的新鲜粪便样品为1~2 g,于-80℃冰箱冻存。采用CTAB法提取样本基因组DNA。模板为稀释后的基因组DNA,PCR使用带Barcode的特异引物和高效保真酶,来鉴定细菌多样性^[7]。使用T Ion Plus Fragment Library Kit 48 rxns建库试剂盒构建文库,截去Barcode和引物序列初步质控得到原始数据(Raw reads)、Reads序列通过与物种注释数据库进行比对检测嵌合体序列,并最终去除其中的嵌合体序列,得到最终的有效数据(Clean Reads);利用Uparse软件对所有样品的全部Clean Reads进行聚类,默认以97%的一致性(Identity)将序列聚类成为OTUs,对OTUs代表序列进行物种注释,用Mothur方法与SILVA的SSUrRNA数据库进行物种注释分析^[8]。对OTUs进行Alpha多样性分析和Beta多样性分析。

1.3 统计学处理

本文采用SPSS 23.0统计分析软件,对分组样本的群落结构以及物种组成进行差异显著性检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 样本病理检查

将动物麻醉后解剖,取黄豆粒大小的肿瘤组织立即放入多聚甲醛中固定,并进行 HE 染色病理检测。肿瘤组织由增生的梭形及多形性细胞混合而成,且核异型性明显,核分裂像多见(见图 1 所示)。经病理检查该三例病例判断为高级肉瘤。

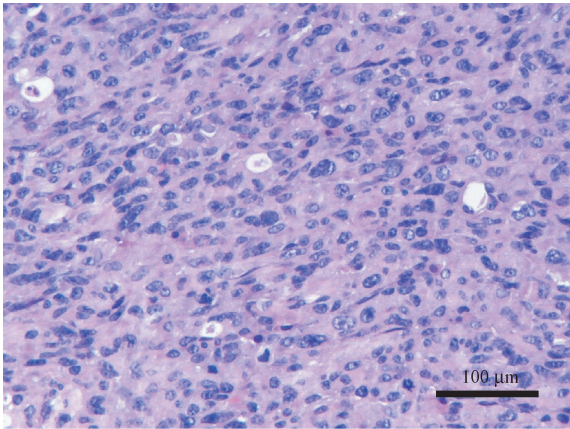


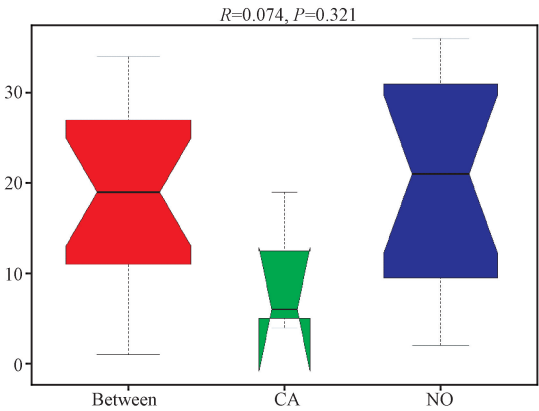
图 1 树鼯高级别肉瘤的病理学特征(HE 染色,×400)
Figure 1 Pathological features of the high-grade sarcoma in tree shrews (HE staining)

2.2 高通量测序序列分析

通过对 CA 组和 NO 组树鼯粪便 DNA 进行高通量测序后获得 1 122 429 条优化序列,样本的序列有效长度平均为 252.14 bp,总样本的平均序列为 80 173.5 条,以 97%的一致性将 OTUs 聚类,并对 OTUs 的代表序列进行物种注释。CA 组和 NO 组树鼯肠道微生物做组间群落结构 Anosim 组间差异分析差异无统计学意义(见图 2)($P>0.05$)。

2.3 肠道菌群的多样性分析

两组树鼯肠道菌群的多样性指数如表 1 所示,测序所得到的结果能够反映出所有树鼯粪便样本菌群结构,对所有样品的 Shannon 指数值、Chao1 指数值、ACE 指数值和 Simpsaon 指数进行 t 检验,将



注:纵坐标为样本间距离的秩。横坐标:Between 为两组之间的结果,其他两个为各自组内的结果。

图 2 Anosim 组间差异分析

Note. Ordinate, the rank of the distance between samples. Abscissa, Between is the result between two groups, and the other two are the results within their groups, respectively.

Figure 2 Anosim difference analysis between the tree shrew groups

高级别肉瘤组和健康对照组比较,Shannon 指数值、Chao1 指数值、ACE 指数值以及 Simpson 指数值差异均无统计学意义($P>0.05$)。结果表明,CA 组和 NO 组的树鼯肠道菌群 Alpha 多样性没有明显差异。

2.4 肠道菌群结构分析

2.4.1 高级别肉瘤组与健康对照组在门水平上比较

研究共包含 9 个样本,树鼯肠道内菌群共包含 18 个门包括厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)、梭杆菌门(Fusobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、放线菌门(Actinobacteria)、软壁菌门(Tenericutes)、螺旋菌门(Spirochaetes)、脱铁杆菌门(Deferribacteres)、产氧光细菌门(Oxyphotobacteria)等;以及 189 个属。由图三可知,在门分类水平上将这两组进行两两对比发现,大部分样本属于 4 个门类:厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)、梭杆菌门(Fusobacteria)、拟杆

表 1 患有高级别肉瘤的树鼯和健康树鼯对照多样性指数比较($\bar{x}\pm s$)				
Table 1 Comparison of contrast diversity indexes of the healthy tree shrews and tree shrews with high-grade sarcoma				
指数 Indexes	高级别肉瘤组 CA (n = 3)	健康对照组 NO (n = 6)	t 值 t-value	P 值 P-value
Shannon	3.935±0.37	4.042±0.937	0.858	0.281
Chao1	330.618±18.555	353.524±57.082	0.532	0.197
ACE	340.437±19.838	357.404±56.958	0.641	0.223
Simpson	0.872±0.038	0.826±0.094	0.459	0.291

注:与高级别肉瘤组相比, $P>0.05$ 。
Note. compared with the high-grade sarcoma group, $P>0.05$.

菌门(Bacteroidetes),占肠道内全部细菌比例的90%以上。其中,厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)在CA组和NO组两组中的丰度均最高,厚壁菌门(Firmicutes)分别占77.79%和47.65%,变形菌门(Proteobacteria)在两组中分别占18.32%和27.33%,丰度较高的梭杆菌门(Fusobacteria),在两组中分别占0.115%和14.49%;拟杆菌门(Bacteroideres)在两组中分别占0.75%和8.31%。经分析得出,CA组与NO组存在统计学意义的菌门为螺旋体门(Spirochaetes),其在CA组中丰度为0.03%,在健康对照组中丰度为0.12%,NO组相对丰度明显高于CA组,且差异有统计学意义($P<0.05$)(图3和表2所示)。

2.4.2 高级别肉瘤组和健康对照组在属水平上比较

将CA组和NO组在属水平上进行比较,经分析得到192种不同的细菌,高级别肉瘤组有152种细菌,健康对照组有174种细菌。由图4可以看出,在属水平上将两组进行分析,其中不动杆菌属(*Acinetobacter*)、梭杆菌属(*Fusobacterium*)、库特氏菌属(*Kurthia*)、乳球菌属(*Lactococcus*)、链球菌属

(*Streptococcus*)相对丰度较高。链球菌属(*Streptococcus*)在CA组和NO组中丰度均较高,分别占16.59%和7.89%。不动杆菌属(*Acinetobacter*)在CA组和NO组中相对丰度分别为0.19%和17.24%;梭杆菌属(*Fusobacterium*)在CA组和NO组中的相对丰度分别为0.11%和14.24%;库特氏菌属(*Kurthia*)在CA组和NO组中相对丰度分别为0.07%和2.95%;乳球菌属(*Lactococcus*)在CA组和NO组中的相对丰度分别为6.46%和6.74%;耐盐咸海鲜球菌属(*Jeotgalicoccus*)在CA组和NO组中的相对丰度分别为8.64%和1.05%;拟杆菌属(*Bacteroides*)在CA组和NO组的相对丰度分别为0.64%和6.19%(图4和表3所示)。

2.4.3 基于高级别肉瘤组和健康对照组的OUT的Venn图结果分析

根据聚类得到的OTUs分析结果,分析两组之间共有、特有的OTUs,绘制成韦恩图(Venn Graph)^[9]。由图5可以看出,NO的树鼩肠道菌群OTUs为640种,而CA组树鼩肠道菌群OTUs为494种,NO组树鼩肠道菌群物种数量大于NO组。

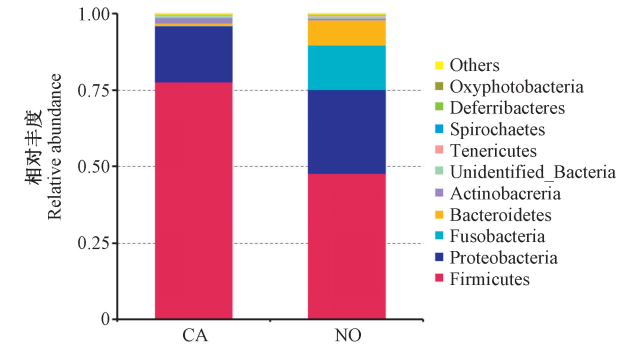


图3 Phylum水平各样品相对丰度分布图

Figure 3 Relative abundance distribution of all samples at phylum level

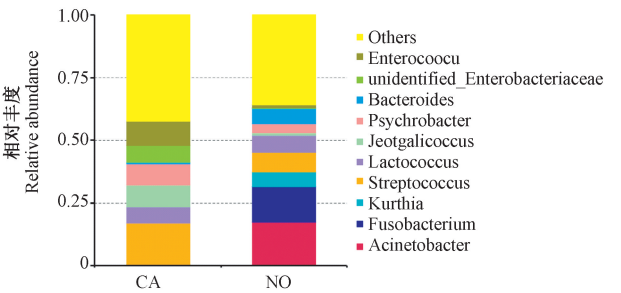


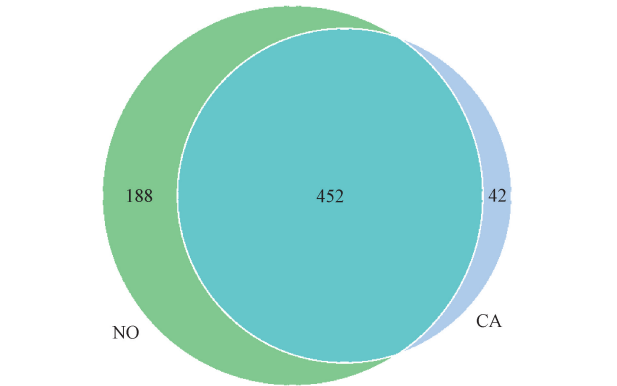
图4 Genus水平各样本相丰度分布图

Figure 4 Abundance distribution of the specimen at genus level

菌名 Bacterial names	中位数[P25,P75]		P 值 P-value
	高级别肉瘤组 CA 组 (n=3)	健康对照组 NO 组 (n=6)	
厚壁菌门 Firmicutes	0.7297[0.6799,0.9239]	0.4326[0.1565,0.9411]	0.262
变形菌门 Proteobacteria	0.2372[0.0698,0.2412]	0.1114[0.0113,0.8314]	1.000
梭杆菌门 Fusobacteria	0.0010[0.0007,0.0018]	0.2782[0.0005,0.5539]	0.262
拟杆菌门 Bacteroidetes	0.0019[0.0016,0.0191]	0.0432[0.0010,0.3258]	0.714
放线菌门 Actinobacteria	0.0122[0.0009,0.0442]	0.0027[0.0006,0.0323]	0.439
软壁菌门 Tenericutes	0.0014[0.0009,0.0139]	0.0039[0.0006,0.0114]	0.796
螺旋体门 Spirochaetes	0.0003[0.0003,0.0004]	0.0007[0.0003,0.0033]	0.050
脱铁杆菌门 Deferribacteres	0.0001[0.0000,0.0001]	0.0003[0.0000,0.001]	0.197
产氧光细菌门 Oxyphotobacteria	0.0002[0.0001,0.00002]	0.0001[0.0001,0.0004]	0.437

表 3 高级别肉瘤组和健康对照组属水平上含量的差异性分析(部分)

菌名 Bacterial names	中位数 [P25, P75]		P 值 P-value
	高级别肉瘤组 CA 组 (n=4)	健康对照组 NO 组 (n=6)	
不动杆菌属 <i>Acinetobacter</i>	0.0021 [0.0010, 0.0025]	0.0034 [0.0007, 0.7808]	1
梭杆菌属 <i>Fusobacterium</i>	0.0010 [0.0006, 0.0016]	0.2764 [0.0005, 0.1848]	0.197
库特氏菌属 <i>Kurthia</i>	0.0006 [0.0005, 0.0009]	0.0002 [0.0002, 0.3558]	0.118
链球菌属 <i>Streptococcus</i>	0.1924 [0.698, 0.2354]	0.0352 [0.0037, 0.3307]	0.121
乳球菌属 <i>Lactococcus</i>	0.0282 [0.0008, 0.1647]	0.0009 [0.0002, 0.3185]	0.439
耐盐咸海鲜球菌属 <i>Jeotgalicoccus</i>	0.0220 [0.0000, 0.2671]	0.0002 [0.00001, 0.0618]	0.606
嗜冷杆菌属 <i>Psychrobacter</i>	0.0181 [0.0005, 0.2364]	0.0008 [0.0002, 0.2063]	0.302
拟杆菌属 <i>Bacteroides</i>	0.0011 [0.0048, 0.0177]	0.0361 [0.0002, 0.2210]	0.517
肠杆菌科 <i>Unidentified_Enterobacteriaceae</i>	0.0024 [0.0005, 0.1979]	0.0014 [0.0002, 0.0046]	0.302
肠球菌属 <i>Enterococcus</i>	0.1291 [0.0108, 0.1540]	0.0060 [0.0002, 0.0413]	0.071
艰难梭菌 <i>Peptoclostridium</i>	0.0019 [0.0004, 0.0100]	0.3534 [0.0003, 0.1378]	0.302
厌氧螺菌属 <i>Anaerobiospirillum</i>	0.0002 [0.0001, 0.0004]	0.2967 [0.0001, 0.1138]	0.243
微小杆菌属 <i>Exiguobacterium</i>	0.0001 [0.0000, 0.0002]	0.0001 [0.0000, 0.0136]	1



注:图中绿色代表 NO 组,蓝色代表 CA 组,没有重叠部分的数字代表各组的特有 OTUs 个数,圆圈和圆圈重叠部分的数字代表 CA 组和 NO 组之间共有的 OTUs 个数。

图 5 基于高级别肉瘤组和健康对照组的 OUT 的 Venn 图

Note. In the figure, green represents NO group, blue represents CA group, the number of unique OTUs of each group with NO overlap, and the number of overlapping circles represents the number of OTUs shared between the CA and NO groups.

Figure 5 Venn diagram based on OUT in the high-grade sarcoma group and the healthy control group

2.4.4 肠道菌群 LEfSe 分析

LEfSe (LDA effect size) 分析,是一种用于发现和解释高维度数据生物标识的分析工具,该算法强调的是统计意义和生物相关性。能够在组与组之间寻找具有统计学差异的生物标识 (Biomarker)^[9]。在高级别肉瘤组,乳杆菌属 (*Lactobacillus*) 是具有统计学差异的生物标记物 (图 6)。

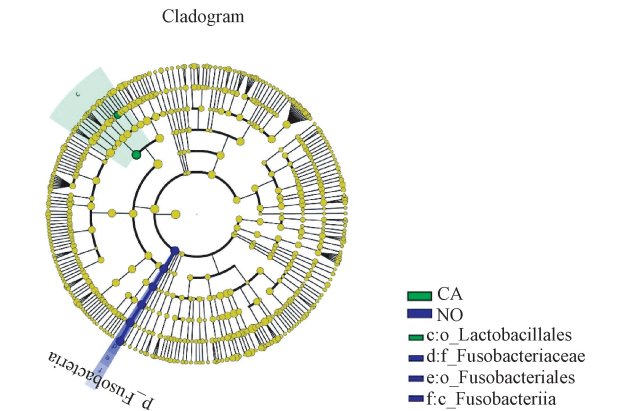


图 6 高级别肉瘤组和健康对照组树鼩 LDA 值分布图

Figure 6 Distribution of LDA values in tree shrews in the high-level sarcoma group and the healthy control group

3 讨论

在宿主体内,肠道内所含有的微生物数量以及种类是最多的,正常情况下肠道微生物可以保护肠道上皮,减少疾病的发生^[10]。已有研究表明,肠道菌群参与多种疾病的发生、发展,包括肿瘤、肥胖、脂肪肝、炎症、糖尿病、心血管疾病等^[11]。当肠道微生物因饮食改变或者疾病状态下而发生紊乱时,肠道微生物的种类和数量都会发生改变,从而降低肠道微生物的保护作用^[12]。随着人类生活质量的不断提高,肿瘤对人类健康的威胁日渐突出。肿瘤会因其发生的器官、部位以及发展程度不同从而产生不同的临床表现。肿瘤作为一种与免疫、代谢等与

机体活动密切相关的复杂疾病,其发生发展通常伴随肠道菌群的紊乱^[13]。确定和肿瘤相关的微生物可以将其研发为筛选肿瘤风险的重要方法,从而可以通过对肠道菌群的干预和改变来治疗和预防肿瘤^[1]。

受宿主和外部环境的影响,非人类灵长类动物肠道菌群在种间和种内都存在结构和丰度的差异^[14],本研究的实验对象均为树鼩,统一喂养市售颗粒饲料,生活在同样的饲养环境下,排除了种属、饮食、环境等因素的影响,主要探讨患有高级别肉瘤对宿主肠道菌群的影响。

本实验通过对 3 例患有高级别肉瘤的树鼩和 6 例健康树鼩进行 16S rRNA 测序分析,两组样本检测覆盖深度都在 97% 以上(即测序深度合理),从菌群的 Alpha 多样性上分析,多样性指数 Chao1 指数值、ACE 指数值、Shannon 指数值和 Simpson 指数差异无统计学意义($P>0.05$)。说明高级别肉瘤组和健康对照组样本之间物种 Alpha 多样性无显著性差异。从菌群结构组成方面来说,CA 组和 NO 组样本肠道微生物的结构差别主要为螺旋体门(Spirochaetes)的丰度上。其在 CA 组中丰度为 0.03%,在 NO 组中丰度为 0.12%,健康对照组的丰度明显高于高级别肉瘤组,且差异有统计学意义($P<0.05$)。

肠道微生物与人类机体健康和疾病有着极为密切的关系。本项研究显示,患有高级别肉瘤树鼩肠道菌群中,维持肠道正常功能的菌群丰度略低于健康树鼩。这可能提示肠道微生物的结构改变与高级别肉瘤的发生、发展有关。拟杆菌门(Bacteroidetes)在 CA 组和 NO 组中相对丰度分别占 0.75% 和 8.31%,NO 组拟杆菌门相对含量高于 CA 组,厚壁菌门(Firmicutes)在 CA 组和 NO 组分别占 77.79% 和 47.65%,NO 组厚壁菌门相对含量高于 CA 组,这与孜白旦·阿不来提等人进行的关于乳腺癌患者肠道菌群高通量测序初步探索中报道的结果相符^[15]。已有学者报导厚壁菌会增加 CXCL1 基因的表达,而 CXCL1 可增加结直肠癌细胞的存活,并可促进肿瘤血管的生成^[16]。这可能提示拟杆菌门在肠道微生物中相对丰度的降低以及厚壁菌门相对丰度的升高可能与恶性肿瘤之间存在关联。在患有高级别肉瘤的树鼩和健康对照组样本肠道微生物的结构差别主要为螺旋体门(Spirochaetes),NO 组丰度明显高于 CA 组,且差异有统计学意义

($P<0.05$)。已有文献报道,螺旋体吸附在肠粘膜可导致微绒毛损害,严重时螺旋体还会侵入肠上皮细胞,肠道螺旋体可能与肠出血和慢性腹泻有关^[17]。但本研究结果与以往报道的螺旋体门的升高可导致肠粘膜损害结果不一致。由于动物个体差异、行为特点、独立个体间肠道微生物差异也很大,因此,为了更进一步证实结论,还需要进一步加大样本含量研究。在高级别肉瘤组中,乳杆菌属为优势菌群。另有研究发现,乳酸杆菌可以改善糖尿病患者胰岛素抵抗,但又会导致患者体内炎症反应;乳酸杆菌在糖尿病患者肠道菌群中较健康人群丰度明显升高,提示机体健康与乳酸杆菌之间存在某种联系^[18]。

目前为止,研究者仅仅研究了小部分与人类健康和疾病相关的微生物。肠道菌群的紊乱和失衡都会诱导肠道炎症,并释放相应的代谢产物,从而影响着肿瘤细胞的发生发展^[19]。所以,深入研究促癌菌群是如何抑制肠上皮修复、肠道菌群如何产生促癌抑癌分子、菌群与机体之间的信息通路调控关系,是将来对肿瘤研究的重点^[16]。随着高通量测序深度的增加、测序平台技术的改进、生物信息学的发展、测序成本的降低,在不久的将来或许高通量测序技术在肿瘤疾病诊断的过程中将成为一个重要的环节,通过对机体的特定部位微生物组检测来有效评估个体的健康和患病情况,从而研发更有效的肿瘤治疗策略,提高人类的生存质量^[20]。

参考文献:

- [1] Mima K, Nishihara R, Qian ZR, et al. Fusobacterium nucleatum in colorectal carcinoma tissue and patient prognosis [J]. Gut, 2016, 65(12): 1973–1980.
- [2] 张秋菊. 结直肠癌组织中 EpCAM/CD44 癌干细胞的分布、数量及形态特征的初步研究 [D]. 兰州:兰州大学, 2009.
- [3] 梁倩,洪洁,房静远. 肠道菌群在结直肠癌发生和发展中的作用及其机制 [J]. 肿瘤, 2015, 35(03): 351–355.
- [4] 刘龙,苏文. 胃肠道微生态与肿瘤关系的研究进展 [J]. 中国微生态学杂志, 2016, 28(11): 1349–1352.
- [5] 何保丽,夏厚军,角建林,等. 人工诱导树鼩乳腺肿瘤的病理分析 [J]. 中国比较医学杂志, 2016, 26(3): 6–10.
- [6] Shanahan F. The colonic microflora and probiotic therapy in health and disease [J]. Curr Opin Gastroenterol, 2011, 27(1): 61–65.
- [7] Edgar RC, Haas BJ, Clemente JC, et al. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection [J]. Bioinformatics, 2011, 27(16): 2194–2200.

- [J]. Am J Transl Res, 2017, 9(9): 4206-4216.
- [10] Li J, Yen C, Liaw D, et al. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer [J]. Science, 1997, 275(5308): 1943-1947.
- [11] Makker A, Goel MM, Mahdi AA. PI3K/PTEN/Akt and TSC/mTOR signaling pathways, ovarian dysfunction. and infertility: an update [J]. J Mol Endocrinol, 2014, 53(3): R103-118.
- [12] Qi Y, Liu J, Saadat S, et al. PTEN induces apoptosis and cavitation via HIF-2-dependent Bnip3 upregulation during epithelial lumen formation [J]. Cell Death Differ, 2015, 22(5): 875-884.
- [13] Li X, Wu Z, Sha H, et al. Protective effects of polyenylphosphatidylcholine in rats with severe acute pancreatitis [J]. Pancreas, 2015, 44(4): 596-601.
- [14] Demirbilek S, Ersoy MO, Demirbilek S, et al. Effects of polyenylphosphatidylcholine on cytokines, nitrite/nitrate levels, antioxidant activity and lipid peroxidation in rats with sepsis [J]. Intensive Care Med, 2004, 30(10): 1974-1978.
- [15] Stenvinkel P, Ketteler M, Johnson RJ, et al. IL-10, IL-6, and TNF- α : central factors in the altered cytokine network of uremia-the good, the bad, and the ugly [J]. Kidney Int, 2005, 67(4): 1216-1233.
- [16] Nishimoto N, Sasai M, Shima Y, et al. Improvement in Castleman's disease by humanized anti-interleukin-6 receptor antibody therapy [J]. Blood, 2000, 95(1): 56-61.
- [17] Maini RN, Taylor PC. Anti-cytokine therapy for rheumatoid arthritis [J]. Annu Rev Med, 2000, 51: 207-229.
- [18] Palladino MA, Bahjat FR, Theodorakis EA, et al. Anti-TNF- α therapies: the next generation [J]. Nat Rev Drug Discov, 2003, 2(9): 736-746.
- [19] Moore MN. Do airborne biogenic chemicals interact with the PI3K/Akt/mTOR cell signalling pathway to benefit human health and wellbeing in rural and coastal environments? [J]. Environ Res, 2015, 140: 65-75.
- [20] Cantley LC, Neel BG. New insights into tumor suppression: PTEN suppresses tumor formation by restraining the phosphoinositide 3-kinase/AKT pathway [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999, 96(8): 4240-4245.
- [21] Chen L, Guo D. The functions of tumor suppressor PTEN in innate and adaptive immunity [J]. Cell Mol Immunol, 2017, 14(7): 581-589.
- [22] Fresno Vara JA, Casado E, de Castro J, et al. PI3K/Akt signalling pathway and cancer [J]. Cancer Treat Rev, 2004, 30(2): 193-204.
- [23] Blume-Jensen P, Hunter T. Oncogenic kinase signalling [J]. Nature, 2001, 411(6835): 355-365.
- [24] Li J, Li J, Yue Y, et al. Genistein suppresses tumor necrosis factor α -induced inflammation via modulating reactive oxygen species/Akt/nuclear factor κ B and adenosine monophosphate-activated protein kinase signal pathways in human synoviocyte MH7A cells [J]. Drug Des Devel Ther, 2014, 8: 315-323.
- [25] Hyam SR, Lee IA, Gu W, et al. Arctigenin ameliorates inflammation in vitro and in vivo by inhibiting the PI3K/AKT pathway and polarizing M1 macrophages to M2-like macrophages [J]. Eur J Pharmacol, 2013, 708(1-3): 21-29.
- [26] Cheng Y, Tian Y, Xia J, et al. The role of PTEN in regulation of hepatic macrophages activation and function in progression and reversal of liver fibrosis [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2017, 317: 51-62.

[收稿日期]2019-01-25

(上接第 16 页)

- [8] 吴可人. 高浓度 CO₂ 与内生菌互作对超积累东南景天生长、镉吸收积累及微生物群落结构的影响 [D]. 杭州: 浙江大学, 2018.
- [9] 赵笑枫. 肠道菌群结构变化与结直肠癌相关性的研究 [D]. 昆明: 昆明医科大学, 2017.
- [10] 薛越, 王青青. 肠道菌群与恶性肿瘤的研究进展 [J]. 实用肿瘤杂志, 2016, 31(1): 9-13.
- [11] Topping DL, Clifton PM. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides [J]. Physiol Rev, 2001, 81(3): 1031-1064.
- [12] 许芳, 赵阳, 武其文. 高通量测序技术在检测循环肿瘤细胞中的应用 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2018, 10(1): 56-60, 72.
- [13] Zackular JP, Baxter NT, Chen GY, et al. Manipulation of the gut microbiota reveals role in colon tumorigenesis [J]. mSphere, 2016, 1(1): e00001-15.
- [14] 朱华, 肖冲, 尚海泉, 等. 基于高通量测序的不同年龄恒河猴肠道菌群结构差异分析 [J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(1): 72-78.
- [15] 孜白旦·阿不来提, 阿孜尔古丽·阿布都克日木, 德力夏提·依米提. 乳腺癌患者肠道菌群高通量测序初步探索 [J]. 新疆医科大学学报, 2017, 40(6): 839-843.
- [16] 杨立娜, 朱力杰, 王勃, 等. 肠道微生物调控肠道肿瘤的相关性研究进展 [J]. 食品工业科技, 2017, 38(7): 371-375.
- [17] Duhamel GE. Comparative pathology and pathogenesis of naturally acquired and experimentally induced colonic spirochetosis [J]. Anim Health Res Rev, 2001, 2(1): 3-17.
- [18] 杨婧, 朱金芬, 孟灵, 等. 糖尿病患者糖脂代谢、炎症反应与乳酸杆菌水平的相关性研究 [J]. 内科, 2018, 13(4): 581-583, 595.
- [19] 姜洋, 赵秋枫, 王实, 等. 基于 16S rRNA 序列分析肠道菌群失调与溃疡性结肠炎的相关性 [J]. 世界华人消化杂志, 2017, 25(36): 3191-3202.
- [20] 廖秦平, 牛小溪. 人体微生态研究现状与展望 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2017, 33(8): 777-778.

[收稿日期]2019-06-03