

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.11.051

胃肠道菌群与肿瘤发生的关系

董开芯¹ 王正强² 于新娟¹ 王莉莉¹ 董全江^{1△}

(1 青岛大学医学院附属青岛市立医院消化科及中心实验室 山东 青岛 266071; 2 青岛市立医院检验科 山东 青岛 266071)

摘要:人体的胃肠道菌群构成一个庞大、复杂的微生态系统,并且随着年龄的增长而发生动态变化,成年后菌群的结构达到动态平衡。胃肠道菌群具有参与物质代谢、促进机体免疫系统的发育和抑制病原菌定植等生理作用。菌群失调会导致各种疾病的发生,如肠易激综合征、炎症性肠病、肥胖症、1 型糖尿病、肠道恶性肿瘤等。本文就胃肠道菌群与肿瘤发生发展关系的最新研究作一综述,并根据最新提出的 Alpha-Bug 学说和 driver-passenger 学说,论述了肠道菌群促进大肠癌发生的机制。为阐明胃肠道肿瘤的发生机制提供新的思路。

关键词: 胃肠道菌群; 肿瘤; 致病机制

中图分类号: Q939.9, R730.231 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)11-2196-05

The Association Between Gastrointestinal Microbiota and the Development of Cancer

DONG Kai-xin¹, WANG Zheng-qiang², YU Xin-juan¹, WANG Li-li¹, DONG Quan-jiang^{1△}

(1 Department of Gastroenterology & Department of Central Laboratory, Qingdao Municipal Hospital, Medical College of Qingdao University, Shan dong, Qingdao, 266071; 2 Clinical Laboratory, Qingdao Municipal Hospital, Shan dong, Qing dao, 266071, China)

ABSTRACT: The human gastrointestinal microbiota constitutes a huge and complex ecosystem. It changes with the age, achieving the homeostasis until adulthood. Gut microbiota participates in the metabolism, promotes the development of the immune system and inhibits the colonization of pathogens. Alterations of microbiota may result in various diseases, such as irritable bowel syndrome, inflammatory bowel disease, obesity, type 1 diabetes, and intestinal malignant tumor. This paper reviews the association between gastrointestinal microbiota and the development of cancer, and discusses mechanisms by which the gut microbiota promotes the development of colorectal cancer according to the latest proposed Alpha-Bug and driver-passenger models. This would benefit for the understanding of pathogenesis of gastrointestinal tumor.

Key words: Gastrointestinal microbiota; Tumor; Pathogenesis

Chinese Library Classification: Q939.9, R730.231 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)11-2196-05

前言

人体的胃肠道菌群构成一个复杂的微生态系统,大约有 10^{14} 个细菌组成,是人体内所有细胞总数的 10 倍^[1]。肠道菌群大约有 400-500 种细菌组成^[2]。胃肠道菌群中的所有细菌的基因总数是人体基因总数的 150 倍,因此胃肠道菌群又被称作“被遗忘的器官”^[3-5]。胃肠道菌群由 7 个门组成,分别为厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门、梭杆菌门、疣微菌门、蓝藻菌门和放线菌门。其中厚壁菌门和拟杆菌门是肠道菌群的优势菌群,数量占胃肠道菌群的 90% 左右^[6-8]。然而菌群构成比例并不是一成不变的,它是随着人体的成长改变而变化的,从婴儿到老年,体内的胃肠道菌群会出现相应的演变。新生婴儿的肠道是无菌的,出生后婴儿暴露于存在大量细菌的环境中。婴儿最先遇到的细菌会迅速定植于肠道中,这些细菌可能是来自母亲的阴道菌群或是来自皮肤菌群,这取决于婴儿的分娩方式^[9,10]。经阴道分娩的婴儿肠道内定植的菌群与母亲阴道内菌群构成相似;经

剖宫产出生的婴儿肠道内定植的菌群具有母亲皮肤表面的菌群特征,如葡萄球菌属和丙酸杆菌属等菌群^[10]。婴儿最初的肠道菌群种类极少^[11]。肠道内最先定植的菌群一般为需氧菌,因为婴儿肠道内包含有氧气,之后便被厌氧菌取代,表现出成年人肠道菌群的特征:以厌氧菌为主^[11]。婴儿肠道菌群结构向成年人肠道菌群结构转变是在 1 周岁后^[12],直到 2 岁半时婴幼儿肠道菌群构成与成年人肠道菌群构成完全相似^[11]。一旦人体肠道菌群结构达到成年期菌群结构,就会稳定于这一菌群结构直到老年期。有研究发现老年人肠道菌群组成与年轻成年人的肠道菌群结构不同,尤其是拟杆菌属和梭菌属在肠道菌群中的比例升高^[13]。

胃肠道菌群在人体的健康和疾病过程中发挥着重要的作用。胃肠道菌群与人体之间是互利共生的关系,胃肠道菌群通过多种途径对人体的健康有益,例如提高消化效率、辅助人体对食物的消化功能、影响营养素的生物利用度和吸收过程、促进机体免疫系统的发育、抑制病原菌定植等生理作用^[14]。最新的研究表明肠道菌群失调(菌群组分的改变)会导致各种疾病的发生发展,例如肠易激综合征、肠道恶性肿瘤、肥胖症、1 型糖尿病^[15-21]。此外研究还发现克罗恩病的发生与肠道菌群中厚

作者简介:董开芯(1985-),女,硕士研究生,主要从事胃肠道菌群研究

△通讯作者:董全江,电话:0532-88905289, Email:jiangacer@126.com

(收稿日期:2013-06-23 接受日期:2013-07-18)

壁菌门的比例减少有关^[2]。国内傅冷西等^[23]研究结果表明胃肠道肿瘤的发生与肠道菌群组分的变化密切相关,其中与拟杆菌和梭杆菌比例的增加关系密切。对整个肠道菌群多样性的研究,是研究肠道菌群与疾病之间相互关系的关键。目前用于研究肠道菌群多样性的技术有:16S rRNA 基因序列分析、变性梯度凝胶电泳(DGGE)和温度梯度凝胶电泳(TGGE)、末端限制性酶切片段长度多态性分析(T-RFLP)、荧光原位杂交法(FISH)等^[24]。本文就胃肠道菌群变化与肿瘤发生发展关系的最新研究作一综述。

1 肠道菌群的生理作用

1.1 物质代谢作用:产生 SCFAs

肠道菌群的重要物质代谢作用就是可以消化食物中的纤维素并且在结肠中将其发酵,代谢的终产物为短链脂肪酸(SCFAs),如丁酸、醋酸、丙酸。SCFAs 可被肠道内分泌细胞表达的 G 蛋白偶联受体(GPR41 和 GPR43)识别^[25]。在胃肠道中丁酸不仅可以作为结肠上皮细胞的局部营养源和肠道细菌(例如脱硫杆菌属)的次要营养源^[26],而且在细胞培养模型和小鼠模型的研究中发现丁酸具有调节能量动态平衡的作用,丁酸调节能量动态平衡的作用是通过刺激脂肪细胞合成瘦素以及诱导肠道内分泌 L 细胞分泌胰高血糖素样肽-1(GLP-1)的作用实现的^[25]。丁酸还可以被结肠上皮细胞直接用来合成酮体和二氧化碳作为能量来源。此外,丁酸还具有调节中性粒细胞的功能,抑制由炎症细胞因子诱导的血管细胞黏附分子-1 的表达,增加结肠上皮细胞内紧密连接蛋白的表达,通过减少免疫细胞释放细胞因子和趋化因子达到抗炎的作用。主要产生丁酸的菌群是梭杆菌属、真菌属和罗氏菌属。因此,丁酸或者是产生丁酸的特殊肠道菌群可能成为以后人们研究怎样重新修复人体的免疫功能、健全结肠粘膜的保护屏障和调节能量代谢的切入点。其它 SCFAs 如丙酸和醋酸随血液被携带到各种不同器官,被用作氧化、脂质合成和能量代谢的底物,尤其是丙酸在肝脏中被肝细胞摄取后作为糖异生的底物用于能量代谢^[25,27]。总之,SCFAs 影响宿主的一系列代谢过程诸如能量利用、宿主与菌群之间的信号传递和控制结肠内的 PH,结肠内 PH 将影响肠道菌群的结构、肠道的运动功能和结肠上皮细胞的增殖^[28]。

1.2 免疫作用:促进固有免疫系统和适应性免疫系统的发育

通过对无菌动物的研究分析表明肠道菌群对粘膜免疫和固有免疫的发育成熟有重要作用^[29]。在无菌小鼠中,肠粘膜表面的第一道屏障肠相关淋巴组织的发育是不完全的。与有菌群定植的小鼠相比,无菌小鼠小肠中的派氏集合淋巴结和肠系膜淋巴结大小相对较小、数量相对较少^[30-34]。在无菌小鼠中上皮内淋巴细胞(IELs)的数量是减少的,而且 IELs 的细胞毒性缺乏免疫力^[35,36]。

无菌动物同样证明共生的肠道菌群有推动适应性免疫成熟的作用。通过对无菌小鼠与有菌群定植的小鼠的比较证实肠道菌群在促进派氏集合淋巴结中 B 细胞的发育和增加粘膜免疫球蛋白 A(IgA)的分泌中发挥重要作用^[37]。与传统的有菌群定植的小鼠比较,无菌小鼠体内 IgA 抗体的数量减少,B 淋巴细胞和 T 淋巴细胞的数量也减少^[38]。肠道菌群的缺乏也可导致脾脏中 CD4⁺T 细胞数量减少、生发中心数量相对减少并且范围相对减小、系统抗体水平降低,这些结果表明肠道菌群有影

响系统免疫的作用^[39-41]。菌群除了影响免疫系统的发展外,还影响肠道和系统免疫的功能,包括病原菌的清除。虽然在系统免疫中菌群表现出影响 Th1/Th2 表达平衡的作用^[42],但是研究未发现共生菌群对肠粘膜表面的 Th1 或 Th2 细胞表达有影响。但是发现共生菌群对 Th17 细胞在肠道的发展有特别的影响。无菌小鼠小肠中的 CD4⁺T 细胞(Th17 细胞)产生的 IL-17 的量不足^[43]。肠道中 Th17 细胞的分化机制可能是共生菌代谢产生的 ATP 促使 Th17 诱导的相关细胞因子的产生^[44]。研究发现在无菌动物的排泄物中 ATP 的量降低,用未水解的 ATP 类似物处理无菌小鼠后发现其肠道中 Th17 细胞数量增多^[44]。因此肠道菌群对肠道中免疫细胞的发育和功能的成熟是必需的。

2 胃内菌群与胃癌的关系

在胃内,胃酸会杀死人们吞下的大部分细菌。人们普遍认为胃内环境不适合任何细菌定植,直到在胃内发现幽门螺杆菌(HP),而且 HP 与胃炎和消化性溃疡的发生发展有关^[45]。Monstein 等^[46]利用瞬时温度梯度凝胶电泳法(TTGE)和 16S rRNA 基因序列分析法研究发现胃内定植有其它菌群,如肠球菌、假单胞菌、链球菌、葡萄球菌和口腔球菌。Bruno Zilberstein 等^[47]在健康成年人的胃内检测到韦荣球菌、乳杆菌、梭杆菌、拟杆菌、变形杆菌和葡萄球菌;而且韦荣球菌、乳杆菌和梭杆菌是胃内定植的优势菌群。Bik EM 等^[48]为了研究胃内菌群的多样性,对 23 例北美洲成年人的胃粘膜活检标本中的菌群通过 16S rRNA 基因序列分析得出:胃内菌群共有 128 个种型,分属于 8 个门,其中优势菌群占 5 个门,分别是拟杆菌门、厚壁菌门、梭杆菌门、放线菌门和变形菌门。因此,胃内除有 HP 定植外还定植着多种不同的菌群。HP 的定植是否影响胃内菌群的结构?胃内不同解剖部位的菌群构成是否相同? Bik EM 等^[48]将病人分为 HP 阳性和 HP 阴性两组,通过 PCR 和 16S rRNA 基因序列分析对胃内菌群进行研究,结果显示 HP 在胃内的定植不影响胃内其它菌群的结构,胃内菌群构成与解剖部位无相关性。在小鼠模型中研究发现无论急性 HP 感染还是慢性 HP 感染都不影响小鼠胃内菌群的结构^[49]。其它影响胃内菌群结构的因素还有肠内营养(EN)和胃内 pH 值。Smith AR 等^[50]对 8 位肠内营养病人和 10 位正常成年人胃粘膜活检组织的研究分析表明肠内营养组病人的胃粘膜定植的双歧杆菌和葡萄球菌的量远远多于正常人胃粘膜组织中的定植量。Bik EM 等^[48]研究发现胃内 pH 值不影响或改变胃内菌群的结构。而 O'May GA 等^[51]对肠内营养患者的胃内菌群体外研究发现过多的胃酸对菌群数量的影响相对较小,但是会影响菌群的结构,大肠埃希氏菌和肺炎克雷伯杆菌的数量随着 pH 的降低而减少。pH 对胃内菌群的影响目前还有争议,有待于进一步研究。

胃内菌群改变与胃炎的发生发展是否存在一定相关性? Xiao-Ming Li^[52]等通过对 5 名正常成年人 and 5 名未使用过非甾体类抗炎药的胃炎患者(所有受试者均经快速尿素酶试验和 16S rRNA 基因序列分析法证明体内不含 HP)的胃窦部和胃体部的胃粘膜活检组织中的菌群的研究结果证实:厚壁菌门在胃窦炎患者的胃粘膜组织中定植的量多于正常胃粘膜组织(41%:22%),而正常胃粘膜组织中变形菌门的定植量多(37%:20%)。在胃炎患者的胃粘膜组织中,胃窦部和胃体部厚壁菌门的丰度没有显著差异。研究还发现链球菌属在胃窦炎患者胃粘

膜组织中的丰度高于正常胃粘膜组织,而且胃窦部和胃体部链球菌属的丰度没有显著差异。从这些胃粘膜组织中成功培养出 11 个链球菌属的种系型,这表明大多数链球菌属的种系型在胃粘膜组织中都是活菌。胃粘膜组织中链球菌属增多是否可以认为是引起胃炎的原因或者由于胃炎的发展导致胃内微环境的改变,仍需要进一步研究证实。Johan Dicksved 等^[53]选取 10 名胃癌患者的癌旁胃粘膜组织和 5 名消化不良患者的正常胃粘膜组织,通过 T-RFLP 和 16S rRNA 基因序列分析法研究胃粘膜菌群的多样性,结果显示共发现 102 个种系型,这些细菌被归为 5 个门:厚壁菌门、拟杆菌门、梭杆菌门、变形菌门和放线菌门,其中厚壁菌门最具代表性。胃癌组的胃粘膜组织中 HP 的丰度相对较低,主要菌群为链球菌、乳杆菌、韦荣球菌和普氏菌。统计学分析发现胃癌患者和消化不良患者的胃内菌群结构没有显著差异。Ziebarth 等^[54]研究发现有些从口腔定植到胃内的细菌,通过一系列化学反应可以将硝酸盐或者亚硝酸盐转化成致癌物 N-亚硝基化合物。由于样本量和研究方法的不足,胃内菌群在胃癌的发生发展过程中是否发挥作用尚需进一步研究证实。

3 肠道菌群促进大肠癌发生的作用与机制

目前关于肠道菌群与大肠癌关系的研究主要有两种学说:Alpha-Bug 学说和 driver-passenger 学说。Alpha-Bug 学说^[55]认为肠毒素脆弱类杆菌(ETBF)是一种 Alpha-Bug,ETBF 在结肠粘膜表面的定植引发一系列改变,最终导致结肠肿瘤的形成。ETBF 通过分泌脆弱类杆菌毒素(BFT),改变结肠上皮细胞结构和粘膜免疫功能以促进粘膜肿瘤形成。对 BFT 作用机制的体外研究发现这种毒素会快速但是间接地刺激构成结肠上皮细胞的粘着小带的结构蛋白—钙粘蛋白-E 的分解,钙粘蛋白-E 有抑制结肠肿瘤形成的作用^[56,57]。由 BFT 引起的钙粘蛋白-E 的分解增加了结肠粘膜通透性,从而增加结肠粘膜下层暴露于肠道其它菌群的危险性。BFT 引起钙粘蛋白-E 分解的同时也激活 β -连环蛋白核信号通路,该通路的激活将进一步引起肿瘤细胞的增殖生长^[58]。 β -连环蛋白是 Wnt 信号通路的催化剂,Wnt 信号通路是一种细胞途径,这种细胞途径在几乎整个结肠肿瘤形成的过程中对细胞的生长和活性有重要意义^[59]。此外,BFT 还可通过激活核因子-kB(nuclear factor-kB,NF-kB)信号通路刺激结肠上皮细胞合成和分泌炎症细胞因子,如 IL-8、TNF- α 等^[60]。ETBF 还将导致结肠粘膜免疫的改变,尤其是 Th17 细胞致癌的免疫反应,这可能与 ETBF 定植于结肠,尤其是结肠末端引起的一系列结肠上皮细胞的变异有协同作用。研究发现 ETBF 能快速诱导信号转导子和转录刺激子 Stat3(signal transducer and activator of transcription 3)信号通路的激活,Stat3 属于转录因子家族,具有调节 T 淋巴细胞不同谱系生长发育的作用,而且在肿瘤的形成过程中具有关键的调节作用^[61]。在 ETBF 定植的小鼠模型中,研究发现 Stat3 信号通路激活后,诱发两种 T 淋巴细胞 CD3⁺CD4⁺(TCR $\alpha\beta$ +)和 CD3⁺CD4⁺(TCR $\gamma\delta$ +) 在结肠粘膜释放 IL-17,但是在对照组没有 ETBF 定植的小鼠模型中未发现此现象。单独将 IL-17 受体或者同时将 IL-17 受体和 IL-23 受体(IL-23 可以促进 Th17 细胞增殖)封闭,使其不能与相应白细胞介素结合,或者耗减 CD4⁺T 淋巴细胞的数量,可以显著抑制由 ETBF 诱导的结肠肿瘤形成,但是

抑制 γ -干扰素(γ -interferon)的释放或者是耗减 $\gamma\delta$ -T 淋巴细胞的数量都不能抑制 ETBF 诱导的结肠肿瘤的发生。研究人员发现在 ETBF 定植的小鼠模型中,给予抗生素治疗,抗生素对除了 ETBF 之外的其它肠道菌群有效,结果发现抗生素治疗可以改变结肠肿瘤形成的速度。说明其他肠道菌群也参与了结肠肿瘤的形成。Alpha-Bug 学说认为 ETBF 直接导致结肠粘膜的癌前病变,改变粘膜免疫功能和其它肠道菌群的结构可以进一步促进结肠癌的发生。

Alpha-Bug 学说认为 ETBF 细菌始终定植于发展中的肿瘤组织中,而 driver-passenger 学说则认为,首先,某些肠道固有细菌(被称为 driver 细菌)导致结肠上皮细胞 DNA 损伤,这是结肠肿瘤发生发展的起始阶段;其次,随着肿瘤的发展诱导肠道内的局部微环境发生改变,这将有利于条件致病菌(被称为 passenger 细菌)的增殖,也就是说 passenger 细菌在肿瘤组织这种微环境中具有生长优势从而会在数量上超过 driver 细菌,driver 细菌可能在肿瘤组织中消失。该学说具体内容如下^[62]:driver 细菌被认为是一类具有导致结肠粘膜癌前病变性质的肠道固有细菌,此为引发结肠肿瘤发生发展的起始阶段。这类细菌的特点之一是可以产生 DNA 损伤化合物^[63]。例如粪肠球菌产生细胞外的过氧化物^[64],当它被转换成过氧化氢时具有损害结肠上皮细胞内 DNA 的潜能^[65,66]。ETBF 菌属通过分泌 BFT 与结肠癌的发生发展密切相关,具体诱导结肠肿瘤发生机制如前所述。passenger 细菌被认为是一类很少定植于健康肠道、但是在肿瘤组织中具有竞争生长优势的肠道细菌,这使得它们具有排挤肿瘤组织中 driver 细菌的能力。最新的研究发现梭杆菌属是最常见的一类定植于结肠肿瘤组织的 passenger 细菌^[67-69]。这些革兰氏阴性条件致病菌只在肿瘤组织的微环境中具有生长优势还是对肿瘤组织的进展有促进作用目前还不能确定^[68,69]。driver-passenger 学说认为首先由于 driver 细菌在结肠粘膜的定植,导致粘膜的持续炎症反应,通过增加结肠上皮细胞的增殖和产生 DNA 损伤物质导致结肠粘膜的癌前病变。随着 DNA 损伤物质的积累导致结肠上皮细胞变异由腺瘤样变进展为腺癌样变。Fearon 和 Vogelstein^[70,71]认为这一过程开始于结肠多发性腺瘤息肉样基因(APC)突变,这一变异导致结肠腺瘤的发生,终止于抑癌基因 P53 突变,这一变异最终导致结肠腺癌的形成。由于结肠上皮细胞通透性和细胞新陈代谢作用的变化,使得结肠肿瘤组织微环境改变,在肿瘤组织中的 driver 细菌逐渐被具有生长优势的条件致病菌(如梭杆菌属)、共生菌或者益生菌或其他具有生长优势的 passenger 细菌替代。结肠肿瘤组织的进展或被益生菌抑制或被 passenger 细菌促进,需要进一步研究证实。总之,driver 细菌和 passenger 细菌与结肠肿瘤组织有不同的联系,在结肠肿瘤的发生发展中有各自不同的作用。

4 结论

胃肠道肿瘤是一种严重危害人类健康的疾病,对其致病机制的研究发现菌群与胃肠道肿瘤的发生发展存在密切联系。通过对 Alpha-Bug 学说和 driver-passenger 学说的研究分析表明肠道菌群具有促进结直肠癌发生发展的作用,但是,具体是某一种细菌或某几种细菌促进结直肠癌的发生发展还是某一种细菌与肠道菌群共同促进结直肠癌的发生发展需要进

一步研究证实,对 driver 细菌和 passenger 细菌在肿瘤组织发生发展过程中的具体作用的深入研究能更好地解释肠道菌群与结直肠癌的发生是否存在因果关系。由于样本量和研究方法的限制,研究未发现胃内菌群与胃癌的发生发展有相关性,但是有些胃内细菌可以将硝酸盐或者亚硝酸盐转化成致癌物 N-亚硝基化合物从而促进胃癌的发展,所以胃内菌群与胃癌的关系有待于进一步的研究。由于肠道菌群具有促进结直肠癌发生发展的作用,所以对结直肠癌的治疗可以起到一定的指导作用,可以通过改变饮食结构从而改变肠道菌群的结构,使用调节菌群结构的药物从而预防结直肠癌的发生,从而为临床治疗提供新的思路。

参考文献(References)

- [1] Savage DC. Microbial ecology of the gastrointestinal tract [J]. Annu Rev Microbiol, 1977, 31: 107-133
- [2] Steinhoff U. Who controls the crowd New findings and old questions about the intestinal microflora [J]. Immunol. Lett, 2005, 99(1): 12-16
- [3] Qin J, Lin R, Raes J, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing [J]. Nature, 2010, 464 (7285): 59-65
- [4] O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ [J]. EMBO Rep, 2006, 7(7): 688-693
- [5] Gill SR, Pop M, Deboy RT, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome [J]. Science, 2006, 312(5778): 1355-1359
- [6] Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, et al. Host-bacterial mutualism in the human intestine [J]. Science, 2005, 307(5717): 1915-1920
- [7] Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora [J]. Science, 2005, 308(5728): 1635-1638
- [8] Tap J, Mondot S, Levenez F, et al. Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core [J]. Environ Microbiol, 2009, 11(10): 2574-2584
- [9] Adlerberth I, Wold AE. Establishment of the gut microbiota in Western infants [J]. Acta Paediatr, 2009, 98(2): 229-238
- [10] Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(26): 11971-11975
- [11] Koenig JE, Spor A, Scalfone N, et al. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108 (Suppl 1): 4578-4585
- [12] Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, et al. Development of the human infant intestinal microbiota [J]. PLoS Biol, 2007, 5(7): e177
- [13] Claesson MJ, Cusack S, O'Sullivan O, et al. Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108 (Suppl 1): 4586-4591
- [14] Hooper LV, Macpherson AJ. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota [J]. Nature Reviews Immunology, 2010, 10(3): 159-169
- [15] Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, et al. Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(43): 16731-16736
- [16] Dear KL, Elia M, Hunter JO. Do interventions which reduce colonic bacterial fermentation improve symptoms of irritable bowel syndrome [J]. Dig Dis Sci, 2005, 50(4): 758-766
- [17] Huycke MM, Gaskins HR. Commensal bacteria, redox stress, and colorectal cancer: mechanisms and models [J]. Exp Biol Med (Maywood), 2004, 229(7): 586-597
- [18] Brady LJ, Gallaher DD, Busta FF. The role of probiotic cultures in the prevention of colon cancer [J]. J Nutr, 2000, 130 (2S Suppl): 410S-414S
- [19] Ley RE, Backhed F, Turnbaugh P, et al. Obesity alters gut microbial ecology [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102(31): 11070-11075
- [20] Scott FW. Food-induced type 1 diabetes in the BB rat [J]. Diabetes Metab Rev, 1996, 12(4): 341-359
- [21] Vrieze A, Holleman F, Zoetendal EG, et al. The environment within: how gut microbiota may influence metabolism and body composition [J]. Diabetologia, 2010, 53(4): 606-613
- [22] Manichanh C, Rigottier-gois L, Bonnaud E, et al. Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach [J]. Gut, 2006, 55(2): 205-211
- [23] 傅冷西,戴起宝.大肠癌肠粘膜菌群分析 [J]. 中华消化杂志, 1996, 2(16): 114-115
Fu Leng-xi, Dai Qi-bao. The analysis of gut microbiota in colorectal cancer [J]. Chin J Dig, 1996, 2(16): 114-115
- [24] Fraher MH, O'Toole P W, Quigley E M. Techniques used to characterize the gut microbiota: a guide for the clinician [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2012, 9(6): 312-322
- [25] Samuel BS, Shaito A, Motoike T, et al. Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41 [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(43): 16767-16772
- [26] Gibson GR, Macfarlane S, Macfarlane GT. Metabolic interactions involving sulphate-reducing and methanogenic bacteria in the human large intestine [J]. FEMS Microbiol Ecol, 1993, 12(2): 117-125
- [27] Wong JM, de Souza R, Kendall CW, et al. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids [J]. J Clin Gastroenterol, 2006, 40(3): 235-243
- [28] Musso G, Gambino R, Cassader M. Interactions between gut microbiota and host metabolism predisposing to obesity and diabetes [J]. Annu Rev Med, 2011, 62: 361-380
- [29] Cash HL, Hooper LV. Commensal bacteria shape intestinal immune system development [J]. ASM News, 2005, 71: 77-83
- [30] Falk PG, Hooper LV, Midtvedt T, et al. Creating and maintaining the gastrointestinal ecosystem: what we know and need to know from gnotobiology [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 1998, 62(4): 1157-1170
- [31] Macpherson AJ, Harris NL. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system [J]. Nat Rev Immunol, 2004, 4(6): 478-485
- [32] Pollard M, Sharon N. Responses of the Peyer's Patches in Germ-Free Mice to Antigenic Stimulation [J]. Infect Immun, 1970, 2(1): 96-100
- [33] Hoshi H, Aijima H, Horie K, et al. Lymph follicles and germinal centers in popliteal lymph nodes and other lymphoid tissues of germ-free and conventional rats [J]. Tohoku J Exp Med, 1992, 166 (3): 297-307
- [34] Glaister JR. Factors affecting the lymphoid cells in the small intestinal epithelium of the mouse [J]. Int Arch Allergy Appl Immunol, 1973, 45(5): 719-730
- [35] Imaoka A, Matsumoto S, Setoyama H, et al. Proliferative recruitment

- of intestinal intraepithelial lymphocytes after microbial colonization of germ-free mice [J]. *Eur J Immunol*, 1996, 26(4): 945-948
- [36] Umesaki Y, Setoyama H, Matsumoto S, et al. Expansion of alpha beta T-cell receptor-bearing intestinal intraepithelial lymphocytes after microbial colonization in germ-free mice and its independence from thymus [J]. *Immunology*, 1993, 79(1): 32-37
- [37] Shroff KE, Meslin K, Cebra JJ. Commensal enteric bacteria engender a self-limiting humoral mucosal immune response while permanently colonizing the gut [J]. *Infection and Immunity*, 1995, 63 (10): 3904-3913
- [38] Cebra JJ. Influences of microbiota on intestinal immune system development [J]. *Am J Clin Nutr*, 1999, 69(5): 1046S-1051S
- [39] Noverr MC, Huffnagle GB. Does the microbiota regulate immune responses outside the gut? [J]. *Trends Microbiol*, 2004, 12 (12): 562-568
- [40] 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
- [41] Bauer H, Horowitz RE, Levenson SM, et al. The response of the lymphatic tissue to the microbial flora. Studies on germfree mice [J]. *Am J Pathol*, 1963, 42: 471-483
- [42] Dobber R, Hertogh-Huibregts A, Rozing J, et al. The involvement of the intestinal microflora in the expansion of CD4+ T cells with a naive phenotype in the periphery [J]. *Dev Immunol*, 1992, 2 (2): 141-150
- [43] Ivanov II, Frutos Rde L, Manel N, et al. Specific microbiota direct the differentiation of IL-17-producing T-helper cells in the mucosa of the small intestine [J]. *Cell Host Microbe*, 2008, 4(4): 337-349
- [44] Atarashi K, Nishimura J, Shima T, et al. ATP drives lamina propria T (H)17 cell differentiation [J]. *Nature*, 2008, 455(7214): 808-812
- [45] Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration [J]. *Lancet*, 1984, 1 (8390): 1311-1315
- [46] Monstein HJ, Tiveljung A, Kraft CH, et al. Profiling of bacterial flora in gastric biopsies from patients with *Helicobacter pylori* associated gastritis and histologically normal control individuals by temperature gradient gel electrophoresis and 16S rDNA sequence analysis [J]. *J Med Microbiol*, 2000, 49: 817-822
- [47] Zilberstein B, Quintanilha AG, Santos MA, et al. Digestive tract microbiota in healthy volunteers [J]. *Clinics*, 2007, 62(1): 47-54
- [48] Bik EM, Eckburg PB, Gill SR, et al. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(3): 732-737
- [49] Tan MP, Kaparakis M, Galic M, et al. Chronic *Helicobacter pylori* infection does not significantly alter the microbiota of the murine stomach [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2007, 73(3): 1010-1013
- [50] Smith AR, Macfarlane S, Furrie E, et al. Microbiological and immunological effects of enteral feeding on the upper gastrointestinal tract [J]. *J Med Microbiol*, 2011, 60(pt 3): 359-365
- [51] O' May GA, Reynolds N, Macfarlane GT. Effect of pH on an In Vitro model of gastric microbiota in enteral nutrition patients [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71(8): 4777-4783
- [52] Li XX, Wong GL, To KF, et al. Bacterial microbiota profiling in gastritis without *Helicobacter pylori* infection or non-steroidal anti-inflammatory drug use [J]. *PLoS One*, 2009, 4(11): e7985
- [53] Dichsved J, Lindberg M, Rosenquist M, et al. Molecular characterization of the stomach microbiota in patients with gastric cancer and in controls [J]. *J Med Microbiol*, 2009, 58(Pt4): 509-516
- [54] Ziebarth D, Spiegelhalter B, Bartsch H. N-nitrosation of medicinal drugs catalysed by bacteria from human saliva and gastrointestinal tract, including *Helicobacter pylori* [J]. *Carcinogenesis*, 1997, 18(2): 383-389
- [55] Sears CL, Pardoll DM. Perspective: alpha-bugs, their microbial partners, and the link to colon cancer [J]. *J Infect Dis*, 2011, 203(3): 306-311
- [56] Wu S, Lim KC, Huang J, et al. *Bacteroides fragilis* enterotoxin cleaves the zonula adherens protein, E-cadherin [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(25): 14979-14984
- [57] Wu S, Rhee KJ, Zhang M, et al. *Bacteroides fragilis* toxin stimulates intestinal epithelial cell shedding and gamma-secretase-dependent E-cadherin cleavage [J]. *J Cell Sci*, 2007, 120(Pt11): 1944-1952
- [58] Wu S, Morin PJ, Maouyo D, et al. *Bacteroides fragilis* enterotoxin induces c-Myc expression and cellular proliferation [J]. *Gastroenterol*, 2003, 124(2): 392-400
- [59] Markowitz SD, Bertagnolli MM. Molecular origins of cancer: molecular basis of colorectal cancer [J]. *N Engl J Med*, 2009, 361 (25): 2449-2460
- [60] Sears CL. Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*: a rogue among symbiotes [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2009, 22(2): 349-369
- [61] Yu H, Kortylewski M, Pardoll D. Crosstalk between cancer and immune cells: role of Stat3 in the tumour microenvironment [J]. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(1): 41-51
- [62] Tjalsma H, Boleij A, Marchesi JR, et al. A?bacterial?driver-passenger model for colorectal cancer: beyond the usual suspects [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2012, 10(8): 575-582
- [63] Boleij A, Tjalsma H. Gut bacteria in health and disease: a survey on the interface between intestinal microbiology and colorectal cancer [J]. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 2012, 87(3): 701-730
- [64] Huycke MM, Abrams V, Moore DR. *Enterococcus faecalis* produces extracellular superoxide and hydrogen peroxide that damages colonic epithelial cell DNA [J]. *Carcinogenesis*, 2002, 23(3): 529-536
- [65] Wang XM, Huycke MM. Extracellular superoxide production by *Enterococcus faecalis* promotes chromosomal instability in mammalian cells [J]. *Gastroenterology*, 2007, 132(2): 551-561
- [66] Wang X, Allen TD, May RJ, et al. *Enterococcus faecalis* induces aneuploidy and tetraploidy in colonic epithelial cells through a bystander effect [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(23): 9909-9917
- [67] Wang X, Allen TD, May RJ, et al. *Enterococcus faecalis* induces aneuploidy and tetraploidy in colonic epithelial cells through a bystander effect [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(23): 9909-9917
- [68] Kostic AD, Gevers D, Pedamallu CS, et al. Genomic analysis identifies association of *Fusobacterium* with colorectal carcinoma [J]. *Genome Res*, 2011, 22(2): 292-298
- [69] Castellarin M, Warren RL, Freeman JD, et al. *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma [J]. *Genome Res*, 2011, 22(2): 299-306
- [70] Vogelstein B, Kinzler KW. The multistep nature of cancer [J]. *Trends Genet*, 1993, 9(4): 138-141
- [71] Fearon ER. Molecular genetics of colorectal cancer [J]. *Annu Rev Pathol*, 2011, 6: 479-507