



崔立, 上海交通大学农业与生物学院动物科学系研究员、博士生导师、人兽共患病与比较医学团队带头人。研究涉及肠道微生物与宿主互作、病毒宏基因组学,近年主要关注疾病动物模型、肠类器官模型构建,以及通过动物疾病模型和类器官探究黏膜损伤修复机制及黏膜修复活性物质评估。同时担任上海交通大学实验动物伦理委员会委员,中国畜牧兽医学会公共卫生分会理事,《中国实验动物学报》《中国比较医学杂志》《亚洲兽医案例分析》等杂志编委,英国皇家兽医学院访问学者。主持完成国家级及上海市科研项目10余项,主编上海及国家职业培训系列教材《宠物健康护理员》,发表SCI等论文45篇,获得授权专利8项。

基于糖尿病-肿瘤小鼠模型研究糖尿病对结直肠癌/乳腺癌进展及肠道菌群的影响

王晓钰, 蒋升瑶, 蔺智兵, 崔立

(上海交通大学农业与生物学院, 上海市兽医生物技术重点实验室, 上海 200240)

[摘要] **目的** 通过构建糖尿病-肿瘤小鼠模型,对不同处理组小鼠体质量、肿瘤体积、生存率,以及肠道菌群数据进行统计分析,探讨糖尿病对肿瘤进展的影响,以及糖尿病合并结直肠癌或乳腺癌对肠道菌群的影响。**方法** 60只小鼠分为空白对照组、糖尿病组、结直肠癌组、乳腺癌组、糖尿病+结直肠癌组、糖尿病+乳腺癌组。通过链脲佐菌素注射建立糖尿病小鼠模型,在此基础上进一步建立结直肠癌和乳腺癌的实体瘤模型。观察记录各组小鼠的体质量、肿瘤体积变化,计算生存率。采集小鼠粪便,然后利用QIIME2平台基于DATA2和Vesearch方法对粪便中微生物群落测序数据进行分析。**结果** 糖尿病合并结直肠癌或者乳腺癌后,小鼠体质量($P<0.05$)和生存率($P<0.01$)均明显降低,但小鼠肿瘤体积无明显变化。与空白对照组、糖尿病组或结直肠癌组相比,糖尿病+结直肠癌组小鼠肠道菌群的 α 多样性明显改变($P<0.05$),而糖尿病合并乳腺癌并未引起肠道菌群的 α 多样性产生变化($P>0.05$);同时,糖尿病合并结直肠癌或乳腺癌对小鼠肠道菌群的 β 多样性和细菌物种组成也产生一定影响。**结论** 糖尿病会促进结直肠癌或乳腺癌的进展。糖尿病合并结直肠癌或乳腺癌对小鼠肠道菌群的影响比单独结直肠癌或单独乳腺癌的影响更大。

[关键词] 2型糖尿病; 结直肠癌; 乳腺癌; 肠道菌群; 小鼠

[中图分类号] R-332; Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2021)06-0469-11

Effects of Diabetes on Colorectal Cancer/Breast Cancer Progression and Intestinal Flora Based on a Diabetes-tumor Mouse Model

WANG Xiaoyu, JIANG Shengyao, LIN Zhibing, CUI Li

(Shanghai Key Laboratory of Veterinary Biotechnology, School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Correspondence to: CUI Li, E-mail: lcui@sjtu.edu.cn

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of diabetes on tumor progression, and the effects of diabetes combined with colorectal or breast cancer on the intestinal flora by constructing a diabetes-tumor

[基金项目] 交通大学-蜂妮医药合作项目(19H100000558)

[作者简介] 王晓钰(1996—),女,硕士,研究方向:动物疾病对肠道菌群的影响。E-mail: haileyxywang@sjtu.edu.cn

[通信作者] 崔立(1971—),女,研究员,博士,研究方向:动物疾病模型、宏基因组学。E-mail: lcui@sjtu.edu.cn

mouse model, and the differences in body mass, tumor volume, survival rate, and initial flora of the mice in different treatment groups were statistically analyzed. **Methods** Sixty mice were divided into control, diabetes, colorectal cancer, diabetes + colorectal cancer, breast cancer, and diabetes + breast cancer groups. The diabetic mouse model was established by streptozotocin injection, and solid tumor models of colorectal and breast cancer were further established on this basis. Changes in the body mass, tumor volume, and survival rate of the mice in each group were observed and analyzed. The mouse feces were collected, and then the microbial community sequencing data were analyzed using the QIIME2 platform based on the DATA2 and Vsearch methods. **Results** The body mass ($P < 0.05$) and survival rate ($P < 0.01$) of mice with diabetes combined with colorectal or breast cancer were significantly reduced, but there was no significant difference in tumor volume in mice. Compared with the control group or the colorectal cancer group, the species richness of the intestinal flora in mice in the diabetes + colorectal cancer group was significantly altered ($P < 0.05$); while the diabetes + breast cancer group did not significantly change ($P > 0.05$). The beta diversity and bacterial species composition of the intestinal flora in mice with diabetes combined with colorectal or breast cancer were also affected. **Conclusion** Diabetes promotes the progression of colorectal or breast cancer. Diabetes combined with colorectal or breast cancer has a greater impact on the intestinal flora of mice than colorectal or breast cancer alone.

[Key words] Type 2 diabetes; Colorectal cancer; Breast cancer; Intestinal flora; Mice

糖尿病是一种胰岛素分泌功能缺陷或异常的代谢性疾病, 在全球范围内造成广泛的影响, 加重了社会医疗支出, 是世界主要公共卫生问题之一。根据国际糖尿病联盟发布的第9版全球糖尿病概览^[1]显示, 全球约4.63亿人患有糖尿病; 我国糖尿病患者人数已超过1.2亿, 位居世界首位。全球健康支出中约有12%用于糖尿病, 估计到2040年全球因糖尿病引起的健康总支出约为8 020亿美元^[2]。2型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 即非原发性糖尿病, 是由于胰岛素分泌相对不足或胰岛素抵抗而引起血糖升高。T2DM患者通常伴随着血脂异常、高血压和糖耐量异常等症状。糖尿病引起的持续性高血糖会导致各种组织器官损伤或功能障碍, 诱发人体重大健康事件。

结直肠癌是目前在全球人口中高发且具有高致死性的恶性肿瘤之一。中国结直肠癌的年均新发病例数在17万左右, 年均增长率约为4.2%, 位列中国恶性肿瘤发病和致死率的第4位^[3-4]。另外, 在世界范围内, 2018年新诊断出的女性乳腺癌患者在210万例左右, 几乎占女性癌症病例的四分之一; 乳腺癌是女性中最常见的癌症, 也是导致女性死亡的重要原因之一^[5]。据研究, 全球20%的癌症与肠道微生物有着密切联系^[6-7]。

人体内的微生物超过100万亿个, 编码的独特基因是人类基因组的100倍^[8]。宿主通过多种行为调节其微生物群的组成, 同时微生物群也可以很好地调节寄主的生理机能^[9]。大多数定植于人类肠道中的肠道菌群形成共生体发挥生理作用, 包括抵抗病原体入侵、预防肿瘤发生、参与营养物质和毒素代谢等^[10]。共生体处于微妙的平衡中, 一旦肠道菌群生物量或多样性发生改变, 即进入“失调”状态, 就可能诱导肿瘤等疾病的发生及进展^[11-12]。

糖尿病和癌症有几个共同的危险因素, 如衰老、肥胖、膳食失衡、缺乏运动、饮酒和吸烟等。临床数据表明, 糖尿病还对恶性肿瘤的发生与发展有推动作用^[13], 是多种肿瘤的危险因素。Noto等^[14]针对19项队列研究的Meta分析显示, 糖尿病患者发生癌症的总体风险比非糖尿病患者增加10%, 相对危险度 (risk ratio, RR) = 1.10%, 95%可信区间 (confidence interval, CI) 为1.04~1.17。糖尿病患者发生结直肠癌^[15]和乳腺癌^[16]的相对风险增高了1.2~1.5倍。同时, 糖尿病可促进恶性肿瘤复发, 对患者预后十分不利。一项关于女性乳腺癌的Meta分析研究发现, 糖尿病并发乳腺癌患者检出乳腺癌时分期较晚, 且全因死亡率增加[风险比 (hazard ratio, HR) =

1.49, 95% $CI=1.21\sim 2.56$)]^[17]。关于结直肠癌的Meta分析结果显示, 糖尿病增加结直肠癌的短期及远期死亡率和复发率^[18]。

基于糖尿病可增加恶性肿瘤发病风险, 且关于糖尿病和肿瘤共同作用引起肠道菌群改变的文献报道较少, 本研究首先通过注射链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)建立糖尿病小鼠模型, 并进一步建立结直肠癌(CT26)和乳腺癌(4T1)的实体瘤模型, 然后分析模型小鼠的体质量、肿瘤体积、生存率和肠道菌群数据, 以期探讨糖尿病对肿瘤进展的影响, 以及糖尿病和肿瘤联合作用对肠道菌群的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

SPF级雌性BALB/c小鼠60只, 6周龄, 体质量(20±2)g, 购自上海杰思捷实验动物有限公司[SCXK(沪)2018-0004]; 小鼠饲养于上海兽医研究所实验动物中心[SYXK(沪)2016-0010]屏障设施。实验前至少适应饲养环境1周, 自由饮食饮水, 饲养室温度控制为20~25℃, 相对湿度为40%~70%, 昼夜各半循环照明。本实验通过了上海兽医研究所动物伦理委员会审查(SHVR1-SZ-20200420-03), 实验过程严格遵循实验动物3R原则以确保实验动物福利。

1.1.2 细胞

本实验所用到的带有luc荧光标记的小鼠结直肠癌细胞CT26-luc和小鼠乳腺癌细胞4T1-luc均为本实验室保存, 用RPMI1640培养液, 培养于37℃、5% CO₂培养箱中。

1.1.3 试剂与仪器

STZ购自美国Sigma公司; 柠檬酸和柠檬酸钠购自上海沪试化工有限公司; 0.25%胰蛋白酶购自美国HyClone公司; RPMI 1640培养基和胎牛血清购自美国Gibco公司; Puromycin购自上海翊圣生物科技有限公司; Eppendorf 5430R高速冷冻离心机和移液器购自德国Eppendorf公司; 漩涡震荡混匀器购自上海沪析实业有限公司; 电子天平购自美国Mettler Toledo公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及实验干预

小鼠适应环境后, 分为空白对照、STZ、CT26、4T1、STZ+4T1和STZ+CT26共6组, 每组10只。STZ、STZ+CT26和STZ+4T1这3组小鼠于腹部皮下注射175 mg/kg的STZ, 空白对照、CT26和4T1组小鼠注射与STZ溶液等量的缓冲液。1周后测量小鼠血糖, 小鼠血糖稳定在11 mmol/L以上, 即为糖尿病模型构建成功。使用提前培养的带有luc荧光素酶基因标记的CT26细胞和4T1细胞, 在糖尿病小鼠模型基础上于小鼠腋下接种形成实体瘤, 制备糖尿病-肿瘤小鼠模型。CT26和STZ+CT26组小鼠注射 3×10^6 个CT26细胞。4T1和STZ+4T1组小鼠注射 3×10^6 个4T1细胞。其他组小鼠注射等量的PBS。

1.2.2 模型动物表观数据测定

建模开始后, 每周使用电子天平测量一次各组小鼠的体质量。腋下注射CT26和4T1细胞后, 使用游标卡尺每2天测量一次CT26、4T1、STZ+4T1和STZ+CT26组小鼠肿瘤的长度(L)和宽度(W), 计算肿瘤体积(V)。计算公式如下: $V=L\times W^2/2$ 。小鼠注射肿瘤细胞后, 统计小鼠的生存率。根据动物实验伦理要求^[19], 肿瘤体积大于1 500 mm³时进行安乐死, 并判定为小鼠死亡, 记录每天的小鼠死亡数量, 统计生存率并绘制生存曲线。

1.2.3 小鼠粪便采集及肠道菌群分析

在造模成功后10 d, 采集每组5只实验小鼠的新鲜粪便, 用无菌离心管收集新鲜的粪便样本。将采集好的样本贮藏于-80℃冰箱, 由上海派森诺生物科技股份有限公司进行粪便样品的16 S V3~V4区测序。利用QIIME2基因云平台(www.genescloud.cn)对肠道菌群原始数据进行数据质量评估和过滤, 并通过DATA2和Vesearch方法对质控后的数据进行alpha多样性、beta多样性、物种组成和物种差异分析。

1.3 统计学分析

采用SPSS 22软件进行统计学处理, 使用GraphPad Prism 8软件制作统计图。多组间数据比较采用单因素方差分析, 组内两两比较采用LSD- t 检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠体质量变化

对于糖尿病-结直肠癌小鼠模型 (图1A), 7 d、14 d的STZ+CT26组小鼠体质量明显低于空白对照组 ($P<0.01$); 21 d的STZ+CT26组小鼠体质量略有增加, 但也低于空白对照组 ($P<0.05$)。14 d的STZ+CT26组小鼠体质量低于STZ组 ($P<0.05$), 且明显低于同组第7天 ($P<0.01$)。对于糖尿病-乳腺癌小鼠模型 (图1B), 7 d的STZ组小鼠体质量明显低于空白对照组 ($P<0.01$); 14 d、21 d的STZ组和STZ+4T1组小鼠体质量明显低于空白对照组 ($P<0.01$), 且STZ+4T1组小鼠体质量明显低于4T1组 ($P<0.01$)。以上结果说明,

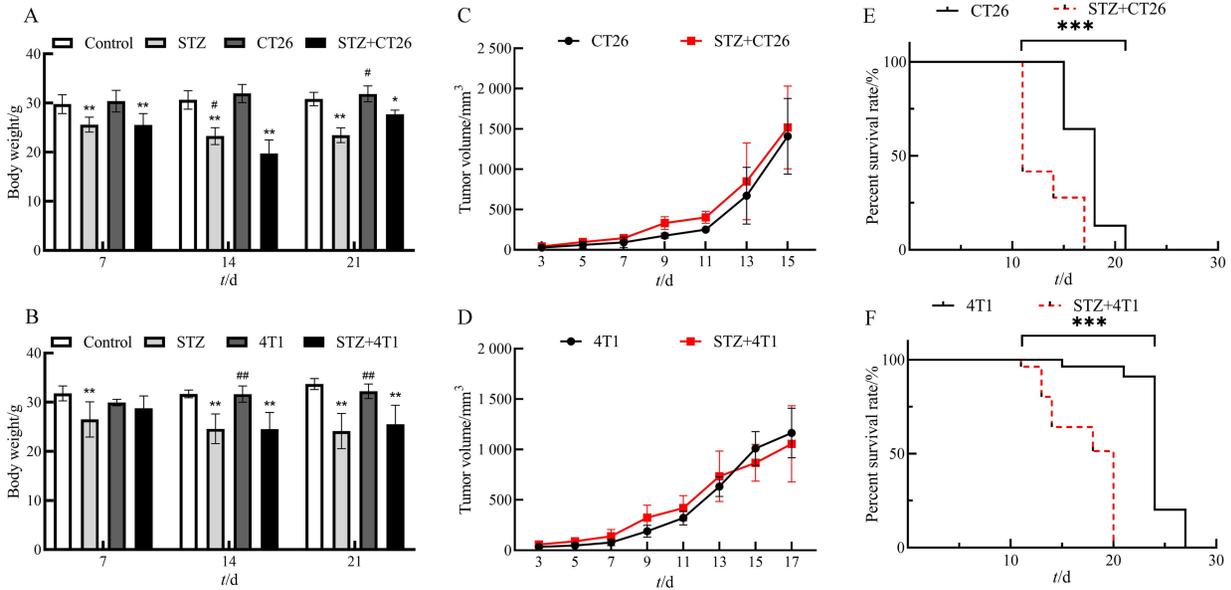
糖尿病和肿瘤同时作用可能比二者单独作用对小鼠体质量的影响更大。

2.2 小鼠肿瘤体积变化

CT26和STZ+CT26组, 以及4T1和STZ+4T1组小鼠肿瘤体积相比, 整体差异不明显 (图1C~D)。

2.3 小鼠造模后生存率

生存曲线图显示, 对于CT26 (图1E)和4T1 (图1F)而言, 无论是糖尿病-结直肠癌模型还是糖尿病-乳腺癌模型, 糖尿病合并肿瘤组小鼠的生存率明显低于肿瘤组小鼠 ($P<0.01$)。结果提示, 糖尿病与肿瘤共同作用可明显降低小鼠生存率。



注: A、C、E为糖尿病-结直肠癌模型, B、D、F为糖尿病-乳腺癌模型。A和B: 与空白对照 (Control) 组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与糖尿病合并肿瘤 (STZ+CT26或STZ+4T1) 组相比, # $P<0.05$, ## $P<0.01$ 。E和F: *** $P<0.001$ 。

图1 糖尿病-结直肠癌和糖尿病-乳腺癌模型小鼠的体质量(A~B)、肿瘤体积(C~D)和生存曲线(E~F)变化

Figure 1 Changes in the body mass (A-B), tumor volume (C-D), and survival curve (E-F) of the diabetes-colorectal cancer and diabetes-breast cancer model mice

2.4 小鼠粪便中肠道菌群分析

2.4.1 肠道菌群alpha多样性改变

图2显示了糖尿病-结直肠癌模型和糖尿病-乳腺癌模型小鼠的肠道菌群alpha多样性改变, 其中Chao1和Observed_species指数表征丰度, Shannon和Simpson指数表征多样性。STZ+CT26组小鼠粪便样品的物种丰度低于空白对照组、

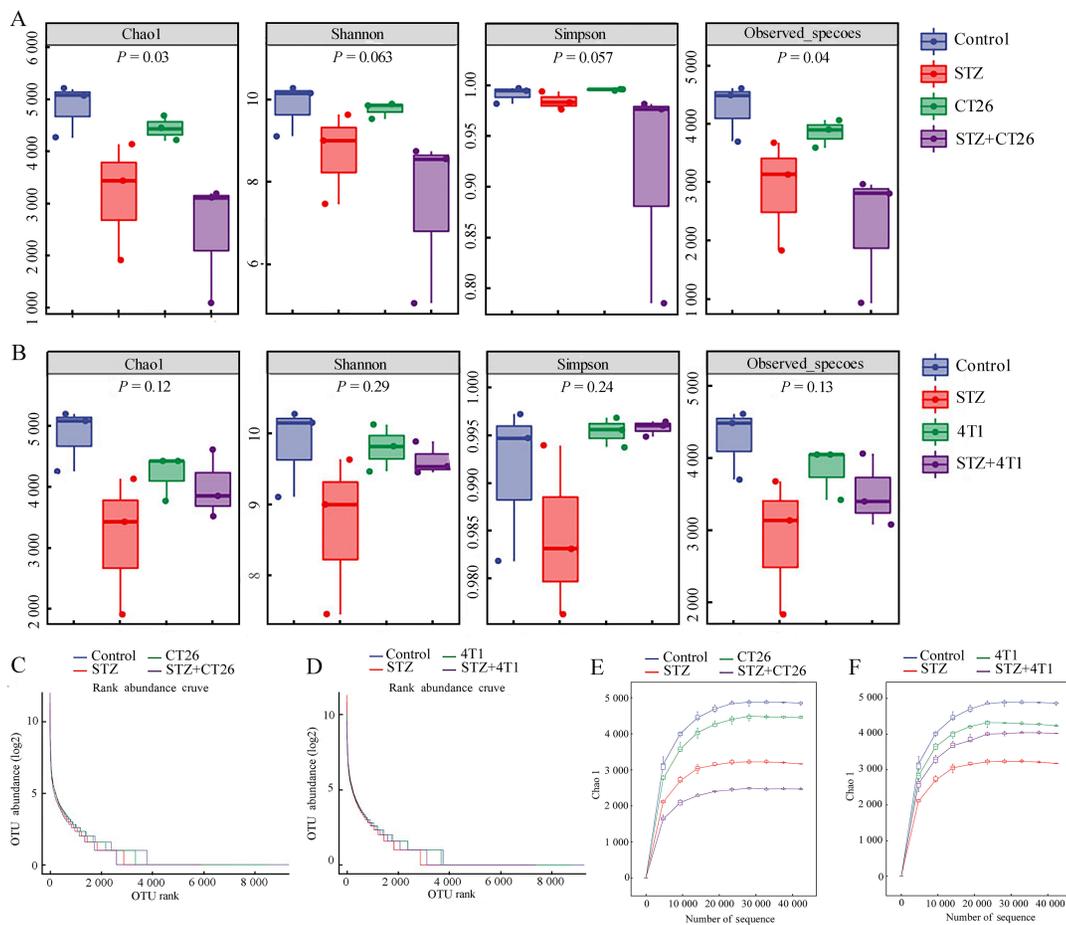
STZ组和CT26组小鼠 ($P<0.05$), 群落的多样性 [Shannon ($P=0.063$), Simpson指数 ($P=0.057$)] 略低于空白对照组、STZ组和CT26组, 但差异尚不具有统计学意义 (图2A)。STZ+4T1组小鼠粪便样品的物种丰度及群落多样性指数与空白对照组、STZ组和4T1组之间相比, 差异无统计学意义 ($P>0.05$, 图2B)。等级丰度曲

线显示, STZ+CT26组小鼠的肠道菌群丰度低于其他3组(图2C); STZ+4T1组小鼠的肠道菌群丰度与空白对照组、STZ组和4T1组相比,差异不明显(图2D)。

图2E和图2F显示,随着样品序列数目增加,小鼠肠道菌群的稀释曲线趋于平坦,说明测序结果可以反映样本中绝大多数的微生物信息。同时,图2E结果与alpha多样性指数一致:在测序深度相同的情况下,STZ+CT26组的微生物丰度低于空白对照组、STZ组和CT26组,说明糖尿病合并结直肠癌比二者单发更明显降低小鼠菌群丰度。而图2F显示,在测序深度相同的情况下,STZ+4T1组的菌群丰度低于空白对照组和4T1组,但高于STZ组。

2.4.2 肠道菌群beta多样性改变

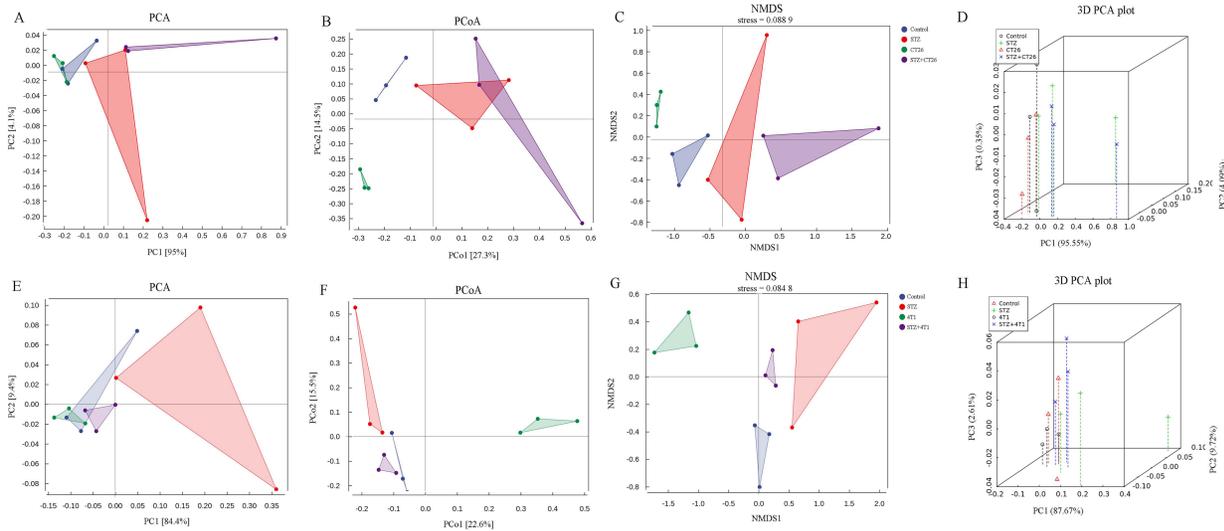
Beta多样性分析包括PCA、PCoA和NMDS分析。PCA使用方差分析来反映二维坐标图上的多组数据之间的差异,可以检测样本之间的差异和距离。PCoA用于评估数据的相似性或差异。NMDS通常基于Bary-curtis距离比较样本组之间的细菌群落组成差异。图形中每个点表示一个样本,颜色表示样本分组。该点的接近性反映了样本组成之间的相似性。图3A~D中,STZ+CT26组的矩阵较CT26组和STZ组离空白对照组更远,说明糖尿病和结直肠癌联合作用会比糖尿病或结直肠癌单独作用引起的肠道菌群beta多样性改变更大。图3E~H中,STZ+4T1组的矩阵较4T1组和STZ组离空白对照组更近,说明糖尿病和乳腺



注: A、C、E为糖尿病-结直肠癌模型, B、D、F为糖尿病-乳腺癌模型。A和B为alpha多样性指数, C和D为等级丰度曲线, E和F为稀释曲线。

图2 糖尿病-结直肠癌和糖尿病-乳腺癌模型小鼠的肠道菌群alpha多样性

Figure 2 Alpha diversity of the intestinal flora of diabetes-colorectal cancer and diabetes-breast cancer model mice



注：A和E为PCA图；B和F为PCoA图；C和G为NMDS图；D和H为3D PCA图。

图3 糖尿病-结直肠癌(A~D)和糖尿病-乳腺癌(E~H)模型小鼠的肠道菌群beta多样性

Figure 3 Beta diversity of the intestinal flora of diabetes-colorectal cancer (A-D) and diabetes-breast cancer (E-H) model mice

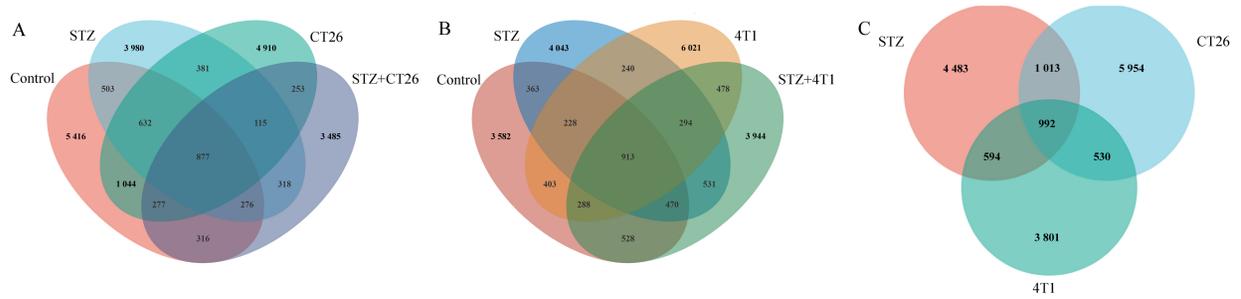
癌联合作用比糖尿病或乳腺癌单独作用引起的肠道菌群beta多样性改变更小。

2.4.3 肠道菌群物种组成改变

在系统发生学研究或群体遗传学研究中，为了便于分析，人为地给某一个分类单元（品系、种、属、分组等）设置同一标志，即分类操作单元（operational taxonomic unit, OTU）；由OTU组成venn图，以反映肠道菌群物种的组成变化。对每个样本而言，OTU丰度构成该样本的组成结构，该结果是后续物种丰度研究的基础。Venn图可以直观展示样本中OTU组成的相似性和特异性。如图4显示，STZ+CT26组共检出OTU 5 917个，其中与空白对照组、STZ组、CT26组的共有OTU分别为1 756个、1 586个和1 522个，分别占总OTU比例的29.68%、26.80%和25.72%；STZ+CT26组与STZ组和CT26组的共有OTU为992个，其中不与空白对照组共有的OTU为115个，占比11.59%。STZ+4T1组共检出OTU 7 446个，其中与空白对照组、STZ组、4T1组的共有OTU分别为2 653个、2 208个和1 973个，分别占总OTU比例的35.63%、29.65%和26.50%；STZ+4T1组与STZ组和4T1组的共有OTU为1 207个，其中不与空白对照组共有的OTU为294

个，占比24.36%。STZ组、CT26组、4T1组各检出OTU 7 082个、8 489个和5 917个，其中STZ组和CT26组共有OTU为2 005个，分别占STZ组和CT26组总OTU比例的28.31%和23.62%；STZ组和4T1组共有OTU为1 586个，分别占STZ组和4T1组总OTU比例的22.39%和26.80%。

图5A和图5C显示了小鼠粪便样品在门水平上的物种组成差异，各组样本生成的OTU主要由厚壁菌门（Firmicutes）、拟杆菌门（Bacteroidetes）、变形菌门（Proteobacteria）、放线菌门（Actinobacteria）等组成，其中厚壁菌门和拟杆菌门在糖尿病-结直肠癌和糖尿病-乳腺癌模型中占比远高于其他菌。STZ组和STZ+CT26组相较于其他组的放线菌门（Actinobacteria）细菌水平显著升高（ $P < 0.05$ ）。图5B和图5D显示了小鼠粪便样品在属水平上的物种组成差异。各组样本生成的OTU主要由乳杆菌属（*Lactobacillus*）、颤螺菌属（*Oscillospira*）、螺杆菌属（*Helicobacter*）等组成，其中乳杆菌属和颤螺菌属占绝对主导地位。STZ+CT26组的乳杆菌属（*Lactobacillus*）水平较空白对照组、STZ组和CT26组高，STZ组和STZ+CT26组相较于



注：A为糖尿病-结直肠癌模型；B为糖尿病-乳腺癌模型；C为糖尿病、结直肠癌与乳腺癌模型。

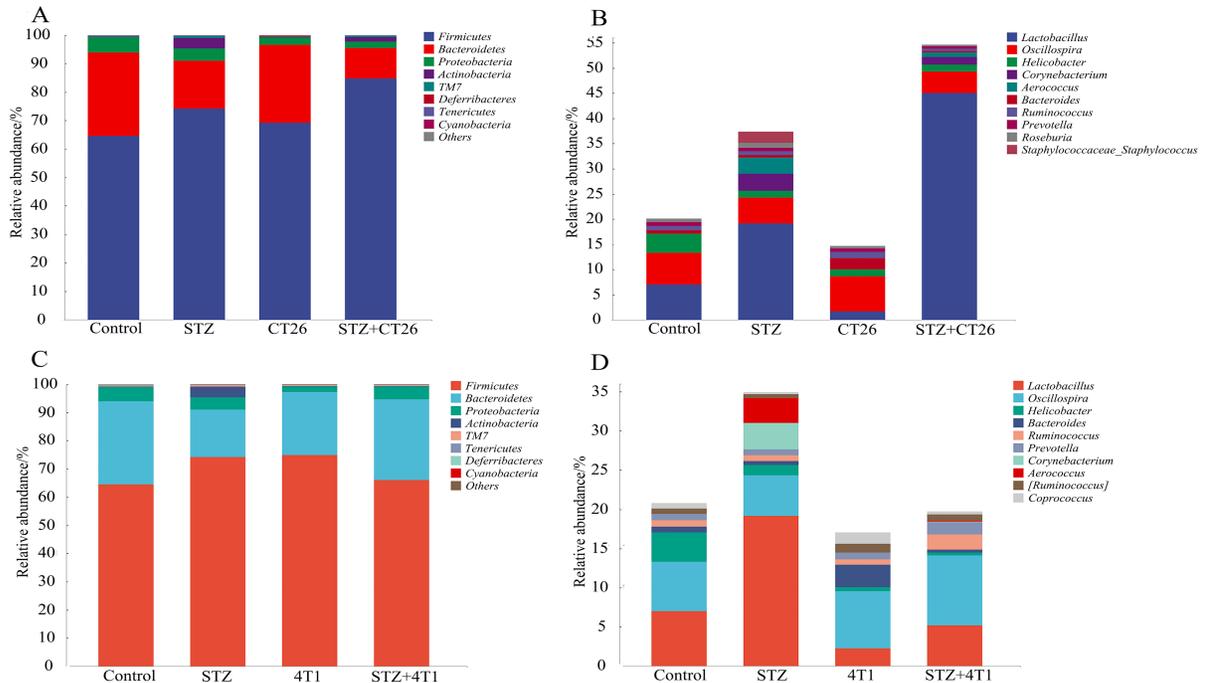
图4 糖尿病-结直肠癌和糖尿病-乳腺癌模型小鼠肠道菌群的OTU venn图

Figure 4 OTU venn diagram of the intestinal flora of diabetes-colorectal cancer and diabetes-breast cancer model mice

其他组的棒杆菌属 (*Corynebacterium*) 细菌水平显著升高 ($P < 0.05$)。

图6显示了小鼠粪便样品在门水平和属水平上的物种组成热图。STZ+CT26组相较于CT26组水平降低的物种属有拟杆菌属 (*Bacteroides*)、别样杆菌属 (*Alistipes*)、胃瘤球菌属 (*Ruminococcus*) 和理研菌属 (*Rikenella*)，相

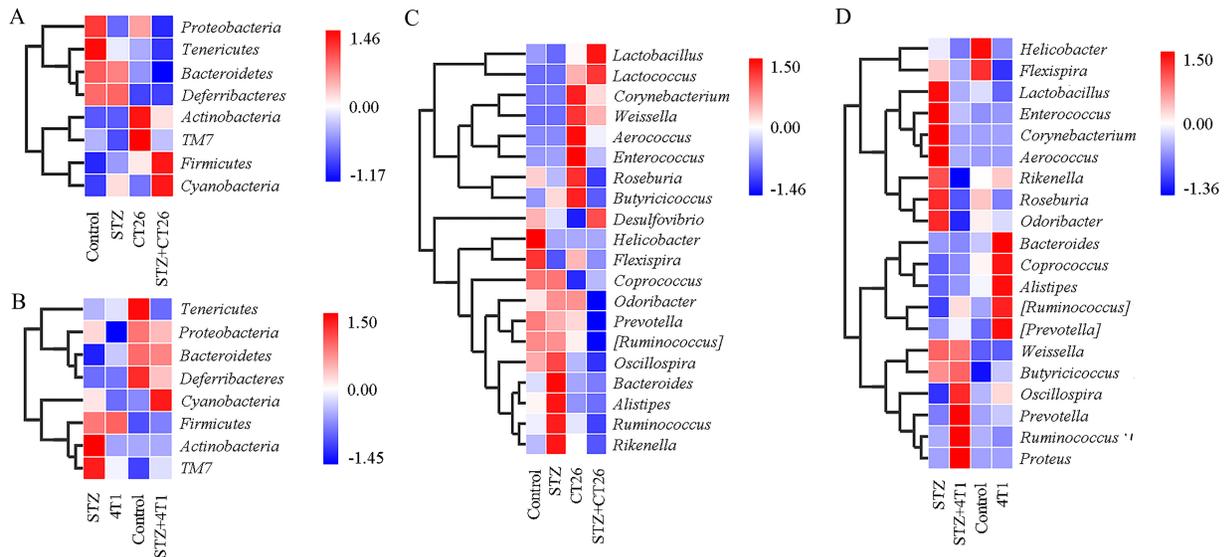
于STZ组水平降低的物种属有肠球菌属 (*Enterococcus*) 和气球菌属 (*Aerococcus*)，相较于空白对照组、STZ组和CT26组水平降低的物种属为瘤胃球菌属 (*[Ruminococcus]*)、普氏菌属 (*Prevotella*) 和臭杆菌属 (*Odoribacter*)，相较于空白对照组、STZ组和CT26水平升高的物种属为乳球菌属 (*Lactococcus*) 和脱硫弧菌属



注：A为糖尿病-结直肠癌模型肠道菌群门水平组成；B为糖尿病-结直肠癌模型肠道菌群属水平组成；C为糖尿病-乳腺癌模型肠道菌群门水平组成；D为糖尿病-乳腺癌模型肠道菌群属水平组成。

图5 糖尿病-结直肠癌和糖尿病-乳腺癌模型小鼠的肠道菌群物种分类学门和属水平组成

Figure 5 Taxonomic phyla and genus composition of the intestinal flora of diabetes-colorectal cancer and diabetes-breast cancer model mice



注：A为糖尿病-结直肠癌模型肠道菌群门水平组成；B为糖尿病-乳腺癌模型肠道菌群门水平组成；C为糖尿病-结直肠癌模型肠道菌群属水平组成；D为糖尿病-乳腺癌模型肠道菌群属水平组成。

图6 糖尿病-结直肠癌(A~B)和糖尿病-乳腺癌(C~D)模型小鼠的门和属水平物种组成热图

Figure 6 Heat map of species composition at the phylum and genus level of the intestinal flora of diabetes-colorectal cancer (A-B) and diabetes-breast cancer (C-D) model mice

(*Desulfovibrio*)。STZ+4T1组相较于4T1组水平降低的物种属有拟杆菌属(*Bacteroides*)、别样杆菌属(*Alistipes*)、粪球菌属(*Coprococcus*)、瘤胃球菌属(*[Ruminococcus]*)和普氏属(*Prevotella*)。STZ+4T1组相较于STZ组和4T1组升高的物种属有魏斯氏菌属(*Weissella*)、丁酸球菌属(*Butyricoccus*)、颤螺菌属(*Oscillospira*)、普氏菌属(*Prevotella*)、瘤胃球菌属(*Ruminococcus*)和变形菌属(*Proteus*)。STZ+4T1组相较于STZ组降低的物种属有拟杆菌属(*Bacteroides*)、别样杆菌属(*Alistipes*)、粪球菌属(*Coprococcus*)、幽门螺杆菌属(*Helicobacter*)和胃螺杆菌样菌属(*Flexispira*)。

3 讨论

T2DM可能通过多种机制(如高血糖、糖脂代谢异常、慢性炎症反应等)共同作用促进恶性肿瘤的发生、发展。有研究表明, T2DM患者体内循环胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)水平比健康人群显著升高, 高水平的IGF-1与患结直肠癌的风险呈正相关, 且糖尿病患者患结直肠癌的风险高于非糖尿病患

者^[20]。在一项糖尿病合并结直肠癌的发病风险研究^[21]中发现, 2 000例肿瘤患者(恶性结直肠癌患者500例, 非恶性肿瘤患者1 500例)中同时患有结直肠癌和T2DM的患者占比达12.40%, 而非结直肠癌患者中T2DM患病率仅有3.93%, 糖尿病合并结直肠癌的危险性显著增加[比值比(odds ratio, OR)=3.99, $P<0.01$]; 该研究^[21]同时指出糖尿病可促进结直肠癌病情进展, 糖尿病患者合并结直肠癌处于进展期的比例显著高于非糖尿病的结直肠癌患者($P<0.05$)。糖尿病合并结直肠癌患者死亡率较仅患结直肠癌的患者明显升高($HR=1.4$, 95% CI为1.0~2.0)^[22]。大量流行病学研究也表明, T2DM患者的乳腺癌发病率更高, 且同时患有T2DM和乳腺癌的患者肿瘤病理分期更晚, 肌层浸润更深, 淋巴结转移更多, 预后更差^[23]。T2DM可能是结直肠癌与乳腺癌的危险因素之一。一项针对T2DM与消化系统恶性肿瘤的Meta分析^[24]表明, T2DM增加了消化系统恶性肿瘤的患病风险($RR=1.52$, 95% CI为1.40~1.66), 其中与结直肠癌合并的RR为1.32(95% CI为1.23~1.40)。同时有研究^[25]指

出, T2DM增加了生殖系统恶性肿瘤的发病风险($RR=1.15$, 95% CI 为 $1.03\sim 1.28$), 其中T2DM与乳腺癌合并的相对风险度为 1.16 (95% CI 为 $1.03\sim 1.32$)。

肠道微生物在人体营养物质的转化与吸收中承担着重要角色, 与多个组织、器官存在密切的相互作用, 是人体代谢平衡的有力保障。近年来随着宏基因组学和生物信息学技术在微生物领域的广泛应用, 通过分析不同人群的肠道微生物结构和特征, 肠道微生物与糖尿病之间的研究也层出不穷。Larsen等^[26]发现, T2DM患者肠道中厚壁菌门和梭菌属所占的比例显著降低, 拟杆菌与厚壁菌的比例与血糖水平有关。华大基因的研究者^[27]对T2DM患者的肠道细菌含量进行了分析, 鉴定并验证了约6万个T2DM相关分子标志, 发现T2DM患者肠道菌群的丰度及分布与健康人群存在差异, 提示T2DM打破了人体肠道菌群平衡。

肠道菌群平衡被打破有可能会促进肿瘤的进展。肠道菌群活跃于机体的各种代谢过程, 如多糖代谢、胆汁酸和类固醇代谢及肠道生理功能的维持等。肠道菌群失调即细菌种类、数量及分布发生变化, 偏离正常结构, 会导致相关疾病的发生。肠道菌群失衡引起的慢性炎症状态与机体自身免疫有关联, 抑制肿瘤免疫反应等^[28]。同时, 肠道细菌也会产生有毒或致癌的代谢产物, 例如肠道厌氧菌能参与胆汁酸的代谢, 产生次级胆汁酸并诱导DNA损伤, 增加肿瘤的发生风险。研究发现, 结直肠癌患者肠道菌群的构成与健康人群相差较大^[29]。结直肠癌患者的菌群失衡发生率很高, 他们的菌群结构或许相似, 但菌群多样性显著降低。在结直肠癌患者肠道中, 部分变形杆菌、脆弱拟杆菌(产肠毒素型)等有害菌在肠道细菌中占比明显升高。

肠道菌群失衡可能与多种调节机制有关。肠道菌群结构的变化(如拟杆菌门/厚壁菌门所占比例降低, 产丁酸盐细菌数量减少等)与T2DM密切相关, 可能通过参与体内物质的合成, 诱发人体产生多种机制(如慢性炎症反应、代谢性内毒素血症等), 继而引发胰岛 β 细胞的破坏和凋亡、降低人体对胰岛素的敏感性, 最终导致

T2DM的发生。近年来的研究指出, 多种机制共同作用促进了糖尿病相关肿瘤的发生、发展。免疫细胞参与肥胖和肥胖导致的T2DM进展。肥胖会对包括先天性T细胞群——黏膜相关恒定T细胞(mucosal-associated invariant T cell, MAIT)在内的免疫细胞的比例和功能产生负面影响。Endesfelder等^[30]研究发现, 肥胖及T2DM患者外周MAIT细胞的比例较空白对照组减低, 并且这种减低的趋势与该细胞参与的其他疾病相比更为显著。MAIT细胞被激活后分泌多种细胞因子, 直接或间接参与机体的免疫应答, 与肿瘤的发生和发展有着密切的关系^[31]。糖尿病可能通过改变肠道菌群影响免疫细胞亚群, 最终对肿瘤的进展造成影响。

本研究通过小鼠模型研究了糖尿病与肿瘤联合作用对肿瘤进展的影响。首先使用CT26和4T1细胞建立了糖尿病联合CT26或4T1两种小鼠模型。通过收集小鼠的体质量、肿瘤体积和生存率数据, 发现对于两种糖尿病-肿瘤模型而言, 糖尿病和肿瘤联合作用会使小鼠的生存率较仅患肿瘤的小鼠显著降低。本研究进一步关注了肠道菌群在糖尿病影响肿瘤进展中的变化, 收集各组小鼠粪便, 采用16S测序法分析肠道菌群变化。根据稀释曲线、等级丰度曲线和 α 多样性指数分析, 结果发现糖尿病-肿瘤联合作用降低了小鼠肠道菌群的丰富度和均匀度; PCA、PcoA和NMDS分析显示, 糖尿病-肿瘤联合作用改变了小鼠肠道菌群的菌群构成; 针对门水平和属水平的物种组成分析和物种组成热图结果显示, 糖尿病-肿瘤联合作用改变了小鼠肠道菌群的菌种组成。本研究结果提示, 在糖尿病合并结直肠癌/乳腺癌小鼠模型中, 糖尿病和结直肠癌/乳腺癌联合作用促进了结直肠癌/乳腺癌的进展, 并对肠道菌群的构成造成不利影响。

参考文献:

- [1] SAEEDI P, PETERSOHN I, SALPEA P, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2019, 157:107843.

- DOI:10.1016/j.diabres.2019.107843.
- [2] OGURTSOVA K, DA ROCHA FERNANDES J D, HUANG Y, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2017, 128: 40-50. DOI: 10.1016/j.diabres.2017.03.024.
- [3] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2):115-132. DOI:10.3322/caac.21338.
- [4] SIEGEL R, DESANTIS C, VIRGO K, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2012[J]. *CA Cancer J Clin*, 2012, 62(4): 220-241. DOI: 10.3322/caac.21149.
- [5] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6):394-424. DOI:10.3322/caac.21492.
- [6] PEVSNER-FISCHER M, TUGANBAEV T, MEIJER M, et al. Role of the microbiome in non-gastrointestinal cancers[J]. *World J Clin Oncol*, 2016, 7(2): 200-213. DOI:10.5306/wjco.v7.i2.200.
- [7] ZITVOGEL L, DAILLÈRE R, ROBERTI M P, et al. Anticancer effects of the microbiome and its products [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2017, 15(8): 465-478. DOI: 10.1038/nrmicro.2017.44.
- [8] LEY R E, PETERSON D A, GORDON J I. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine[J]. *Cell*, 2006, 124(4): 837-848. DOI:10.1016/j.cell.2006.02.017.
- [9] MIKÓ E, VIDA A, BAI P. Translational aspects of the microbiome-to be exploited[J]. *Cell Biol Toxicol*, 2016, 32(3):153-156. DOI:10.1007/s10565-016-9320-6.
- [10] PUERTOLLANO E, KOLIDA S, YAQOOB P. Biological significance of short-chain fatty acid metabolism by the intestinal microbiome[J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2014, 17(2): 139-144. DOI: 10.1097/mco.0000000000000025.
- [11] KOVÁCS T, MIKÓ E, VIDA A, et al. Cadaverine, a metabolite of the microbiome, reduces breast cancer aggressiveness through trace amino acid receptors[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 1300. DOI: 10.1038/s41598-018-37664-7.
- [12] SCHWABE R F, JOBIN C. The microbiome and cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(11): 800-812. DOI: 10.1038/nrc3610.
- [13] 聂泓宇, 朱代华. 结直肠癌患者相关危险因素分析 [J]. *检验医学与临床*, 2018, 15(7):915-917,920. DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2018.07.007
- [14] NOTO H, TSUJIMOTO T, SASAZUKI T, et al. Significantly increased risk of cancer in patients with diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis[J]. *Endocr Pract*, 2011, 17(4): 616-628. DOI: 10.4158/EP10357.RA.
- [15] KRÄMER H U, SCHÖTTKER B, RAUM E, et al. Type 2 diabetes mellitus and colorectal cancer: meta-analysis on sex-specific differences[J]. *Eur J Cancer*, 2012,48(9):1269-1282.DOI:10.1016/j.ejca.2011.07.010.
- [16] BOYLE P, BONIOL M, KOEHLIN A, et al. Diabetes and breast cancer risk: a meta-analysis[J]. *Br J Cancer*, 2012, 107(9):1608-1617. DOI:10.1038/bjc.2012.414.
- [17] PEAIRS K S, BARONE B B, SNYDER C F, et al. Diabetes mellitus and breast cancer outcomes: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(1):40-46. DOI:10.1200/jco.2009.27.3011.
- [18] STEIN K B, SNYDER C F, BARONE B B, et al. Colorectal cancer outcomes, recurrence, and complications in persons with and without diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis[J]. *Dig Dis Sci*, 2010, 55(7):1839-1851. DOI: 10.1007/s10620-009-0944-8.
- [19] WORKMAN P, ABOAGYE E O, BALKWILL F, et al. Guidelines for the welfare and use of animals in cancer research[J]. *Br J Cancer*, 2010, 102(11): 1555-1577. DOI:10.1038/sj.bjc.6605642.
- [20] 李阳, 刘蕊, 周晓杰, 等. 不同性别和年龄糖尿病患者血清 IGF-1 水平与结直肠癌发生风险相关性分析[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2018, 25(12): 831-835. DOI: 10.16073/j.cnki.cjcp.2018.12.001.
- [21] 杨志刚. 糖尿病患者合并结直肠癌的危险性分析[J]. *糖尿病新世界*, 2015(10): 224-225. DOI: 10.16658/j.cnki.1672-4062.2015.10.139.
- [22] TAN C, MORI M, ADACHI Y, et al. Diabetes mellitus and risk of colorectal cancer mortality in Japan: the Japan collaborative cohort study[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2016, 17(10): 4681-4688. DOI: 10.22034/apjcp.2016.17.10.4681.
- [23] LIAO S, LI J, WEI W, et al. Association between diabetes mellitus and breast cancer risk: a meta-analysis of the literature[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2011, 12(4): 1061-1065. DOI: 10.1097/01.cad.0000390767.85658.83.
- [24] 王莹莹, 马骁, 杨万水, 等. 2型糖尿病与消化系统恶性肿瘤队列研究的Meta分析[J]. *中国肿瘤*, 2013, 22

- (11):845-857. DOI: 10.11735/j.issn.1004-0242.2013.11.A001
- [25] 马骁, 王莹莹, 杨万水, 等. 2型糖尿病患者罹患生殖系统恶性肿瘤危险性的Meta分析[J]. 中国肿瘤, 2014, 23(4): 265-274. DOI: 10.11735/j.issn.1004-0242.2014.04.A001
- [26] LARSEN N, VOGENSEN F K, VAN DEN BERG F W J, et al. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults[J]. PLoS One, 2010, 5(2): e9085. DOI:10.1371/journal.pone.0009085.
- [27] QIN J J, LI Y R, CAI Z M, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes [J]. Nature, 2012, 490(7418): 55-60. DOI: 10.1038/nature11450.
- [28] ZITVOGEL L, GALLUZZI L, VIAUD S, et al. Cancer and the gut microbiota: an unexpected link[J]. Sci Transl Med, 2015, 7(271): 271ps1. DOI: 10.1126/scitranslmed.3010473.
- [29] SCANLAN P D, SHANAHAN F, CLUNE Y, et al. Culture-independent analysis of the gut microbiota in colorectal cancer and polyposis[J]. Environ Microbiol, 2008, 10(3): 789-798. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2007.01503.x.
- [30] ENDESFELDER D, ZU CASTELL W, ARDISSONE A, et al. Compromised gut microbiota networks in children with anti-islet cell autoimmunity[J]. Diabetes, 2014, 63(6):2006-2014. DOI:10.2337/db13-1676.
- [31] 邵春艳, 仲飞, 王学富, 等. 黏膜相关恒定T细胞与肿瘤[J]. 中国药理学通报, 2019, 35(12): 1650-1653. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1978.2019.12.006
- (收稿日期: 2021-03-30 修回日期: 2021-07-19)

《实验动物与比较医学》杂志2022年征订启事

《实验动物与比较医学》(CN 31-1954/Q, ISSN 1674-5817)由上海科学院主管,上海市实验动物学会和上海实验动物研究中心联合主办,是我国实验动物科学及比较医学领域创刊最早的一本专业学术期刊。本刊目前是中国科技论文统计源期刊(即中国科技核心期刊),并被美国“Chemical Abstracts”、中国核心期刊数据库、中国科技期刊数据库、中国生物医学文献数据库、中国期刊全文数据库、中国学术期刊综合评价数据库、中国期刊网和万方医学网等收录,2020年入选中国医师协会发布的中国医药卫生“核心期刊”目录。

本刊兼顾理论与实践、普及与提高,刊登实验动物科学和比较医学领域的研究及应用新成果、新进展、新信息。期刊内容主要涉及人类疾病动物模型、实验动物资源开发与利用、实验动物管理、实验动物福利与伦理、动物实验技术与方法、实验动物医学、比较医学方法研究,以及以实验动物为基础的生物医药各领域基础与应用研究。设置栏目包括专家论坛、研究论著、综述、经验交流、实践与探索、技术与平台、政策与法规、标准与指南、人物、简报、动态与书讯等。读者对象为生物学、医学、药学、动物学和农学等各领域从事实验动物生产、繁育、检测和管理,以及应用实验动物进行比较医学研究的广大科技工作者、教育工作者和医学工作者。欢迎订阅!

本刊为双月刊,大16开,铜版纸,彩色印刷;全年出版6期,每期定价30元/本,全年定价180元/套。读者可在各地邮局订阅,邮发代号为4-789;也可以联系本刊编辑部购买,联系电话:021-50793657。E-mail:bjb50793657@163.com。编辑部地址:上海市浦东新区金科路3577号(邮编201203)。期刊官网地址:<http://www.slarc.org.cn/dwyx>。

《实验动物与比较医学》编辑部