

张树玲,王军威,左鲁玉,等. 基于 16S rRNA 测序技术研究口服益生菌对结肠癌皮下瘤小鼠肠道菌群结构的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(12): 1564–1572.

Zhang SL, Wang JW, Zuo LY, et al. Effects of oral probiotics on gut microbiota structure in subcutaneous tumors in mice with colon cancer based on 16S rRNA sequencing technology [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(12): 1564–1572.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.12.006

基于 16S rRNA 测序技术研究口服益生菌对
结肠癌皮下瘤小鼠肠道菌群结构的影响

张树玲,王军威,左鲁玉,胡世亮,孙君志,王纯*

(成都体育学院,成都 610041)

【摘要】 目的 基于 16S rRNA 测序技术探讨口服益生菌对结肠癌皮下瘤小鼠肠道菌群多样性、群落结构及组间差异的影响。**方法** 24 只 6 周龄 BALB/c 雄性小鼠,适应性喂养 1 周后,随机分为对照组(NC 组, $n = 8$),模型组(M 组, $n = 8$),益生菌 + 模型组(PM 组, $n = 8$)。PM 组采用灌胃 200 μL 益生菌混合溶液(长双歧杆菌和德氏乳杆菌保加利亚亚种混合冻干粉, 2×10^8 CFU),NC 组、M 组则给予 200 μL 生理盐水,每周 3 次,连续 7 周。于 10 周龄末,M 组和 PM 组左后肢侧背部皮下接种 0.2 mL CT26.WT 细胞悬液(浓度为 $1 \times 10^7/\text{mL}$),NC 组相同部位接种 0.2 mL 生理盐水。观察小鼠一般状态、监测皮下肿瘤生长情况,利用 16S rRNA 测序法检测肠道菌群结构的变化。**结果** M 组小鼠皮下瘤凸显,PM 组小鼠皮下瘤体积与重量显著减少($P < 0.05$)。与 NC 组相比,M 组小鼠肠道菌群 Alpha 多样性指数降低,组间 Beta 多样性存在显著性差异($P < 0.01$),补充益生菌对 M 组小鼠肠道菌群结构多样性具有一定的回调作用。与 M 组相比,PM 组拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、*Muribaculaceae*、拟杆菌属(*Bacteroides*)等相对丰度升高,厚壁菌门(*Firmicutes*)、脱硫菌门(*Desulfobacterota*)、毛螺菌属 NK4AB6(*Lachnospiraceae_NK4A136_group*)、另枝菌属(*Alistipes*)等相对丰度降低。LEfSe 分析表明,PM 组 *Muribaculaceae*、拟杆菌属(*Bacteroides*)为丰度较高的差异物种(LDA 值 > 4)。**结论** 口服益生菌可能通过增加结肠癌皮下瘤小鼠肠道菌群中有益菌 *Muribaculaceae* 和拟杆菌属(*Bacteroides*)的相对丰度,进而改善肠道菌群失调状态。

【关键词】 益生菌;结肠癌;皮下瘤;肠道菌群

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2023) 12-1564-09

Effects of oral probiotics on gut microbiota structure in
subcutaneous tumors in mice with colon cancer based
on 16S rRNA sequencing technology

ZHANG Shuling, WANG Junwei, ZUO Luyu, HU Shiliang, SUN Junzhi, WANG Chun*

(Chengdu Sport University, Chengdu 610041, China)

Corresponding author: WANG Chun. E-mail: 993279039@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects of oral probiotics on gut microbiota diversity, colony structure, and intergroup differences in mice with subcutaneous colon cancer tumors, based on 16S rRNA sequencing technology.

Methods Twenty-four 6-week-old male BALB/c mice were divided randomly into normal control group (NC group, $n = 8$), model group (M group, $n = 8$), and probiotic + model group (PM group, $n = 8$) after adaptive feeding for 1 week. Mice in the PM group were given 200 μL probiotic mixed solution (*Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus delbrueckii*

[基金项目] 四川省科技计划项目资助(2022JDRC0137),运动医学四川省重点实验室 2023 年创新课题(2023-A014)。
Funded by Science & Technology Plan Projects of Sichuan Province(2022JDRC0137), 2023 Innovation Projects of Sports Medicine Key Laboratory of Sichuan Province(2023-A014).

[作者简介] 张树玲(1989—),女,在读博士研究生,研究方向:运动干预与健康促进。Email:1173054559@qq.com

[通信作者] 王纯(1961—),女,教授,研究方向:运动干预与健康促进。Email:993279039@qq.com

subsp. bulgaricus mixed lyophilized powder, 2×10^8 colony-forming units) by gavage three times/week for 7 weeks, while the M group and PM group received 200 μ L normal saline. At 10 weeks old, 0.2 mL CT26.WT cell suspension (1×10^7 /mL) was inoculated subcutaneously into the left hind limbs of M group and PM group, while NC group were inoculated with 0.2 mL normal saline. The general state of mice was observed, the growth of subcutaneous tumor was monitored, and the changes of intestinal flora structure were detected by 16S rRNA sequencing. **Results** The subcutaneous tumors of the M group were prominent, and the subcutaneous tumor volume and weight of the PM group were significantly reduced ($P < 0.05$). Compared with NC group, Alpha diversity index was lower in the M group, and a significant difference of Beta diversity inter groups ($P < 0.01$). And supplementation of probiotics had a certain effect on gut microbiota diversity in the M group. Compared with M group, the relative abundance of *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Muribaculaceae*, *Bacteroides* were higher in the PM group, while the relative abundance of *Firmicutes*, *Desulfobacterota*, *Lachnospiraceae_NK4A136_group*, *Alistipes* were lower in the PM group. LEfSe analysis showed that *Muribaculaceae* and *Bacteroides* in the PM group were different species with high abundance (LDA values > 4). **Conclusions** Oral probiotics may improve the gut microbiota by increasing the relative abundance of beneficial *Muribaculaceae* and *Bacteroides* in subcutaneous tumors in mice with colon cancer.

【Keywords】 probiotic; subcutaneous tumor; colon cancer; gut microbiota

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

2020 年全球癌症统计报告指出,全球新发癌症共 1930 万例,死亡近 1000 万例^[1]。我国占全球新发病例的 24% 和死亡病例的 30%,其中,胃肠道癌症死亡病例占我国全部恶性肿瘤死亡病例的 45%^[2]。结直肠癌是一种常见的消化道恶性肿瘤,与既往数据相比,其发病率迅速上升,是癌症相关死亡主要原因之一^[2],但其发病原因及机制仍未明确。

Avuthu 等^[3]荟萃分析发现,肠道菌群失调与结直肠癌之间存在关联。有研究表明,肠道微生物组数据应纳入结直肠癌的预防、诊断和治疗^[4],特定致病细菌与结直肠癌的发病与进展有关,如具核梭杆菌 (*F. nucleatum*)^[3-5]、脆弱拟杆菌 (*Bacteroides fragilis*)^[3-6]、大肠杆菌 (*Escherichia coli*)^[3-6]、粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis*)^[5] 等,而双歧杆菌 (*Bifidobacteria*)、乳酸杆菌 (*Lactobacillus*)、拟杆菌 (*Bacteroides*) 等肠道益生菌类群减少^[6]。

益生菌是一类当以足够的量使用时,对宿主健康有益的活性微生物^[7],抗肿瘤作用是益生菌的一个重要方面,可能与有效改善肠道菌群失衡^[8-10]、改变肠道环境 pH^[11]、缓解结肠炎症^[9]、增强机体免疫能力^[10]、直接抑制肿瘤相关分子^[10] 等机制有关。常见的益生菌包括乳酸杆菌 (*Lactobacillus*)、双歧杆菌 (*Bifidobacteria*)、链球菌 (*Streptococcus*) 以及少部分大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 等^[12]。

16S 微生物多样性测序(又称扩增子测序)技术可对微生物中具有高度保守性及特异性的 16S rRNA 基因序列的 PCR 产物序列进行高通量测序,并检测微生物类群,获得微生物群落的组成及其相

对丰度,对分析肿瘤患者肠道菌群多样性、群落结构及其相对丰度、组间差异的变化发挥着不可忽视的作用,同时,在肿瘤患者肠道菌群中发现新致病菌方面也具有重要意义。

本实验采用皮下接种结肠癌 CT26.WT 细胞株建立结肠癌皮下荷瘤小鼠模型,以口服益生菌为干预手段,利用 16S rRNA 测序技术检测结肠癌皮下荷瘤小鼠肠道菌群多样性、群落结构及其相对丰度、组间差异等变化,探讨口服益生菌对结肠癌皮下荷瘤小鼠肠道菌群的影响,为口服益生菌改善肿瘤患者肠道菌群生态失调提供实验数据支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

24 只 6 周龄 SPF 级 BALB/c 雄性健康小鼠,体重 (21.37 ± 1.13)g,购于成都达硕实验动物有限公司【SCKX(川)2020-030】。分笼饲养,自由饮食饮水,室温 $20 \pm 2^\circ\text{C}$,相对湿度 45% ~ 55%,光照 12 h/熄灯 12 h 模拟昼夜,交替环境,饲养于成都体育学院 SPF 级动物房【SYXK(川)2018-211】。本动物实验经成都体育学院伦理委员会批准(成体伦理[2021]64号)。

1.1.2 菌种

长双歧杆菌和德氏乳杆菌保加利亚亚种混合冻干粉(长双歧杆菌 $> 1.0 \times 10^{10}$ CFU/g,德氏乳杆菌保加利亚亚种 $> 1.0 \times 10^{10}$ CFU/g,湖北省工业微生物菌种保藏与研究中心,20211119)。

1.1.3 主要试剂与仪器

CT26.WT 细胞株(武汉普诺赛生命科技有限公司,CL-0071),CT26.WT 细胞专用培养基(武汉普诺赛生命科技有限公司,CM-0071),MagPure Soil DNA LQ Kit(上海伯易生物科技有限公司,D6356-02), $1 \times$ dsDNA HS Assay Kit for Qubit(上海翌圣生物科技股份有限公司,12642ES76),TaKaRa Ex Taq(北京安诺伦生物科技有限公司,RR001Q)。CO₂ 培养箱(Thermo,美国),光学显微镜(Olympus,日本),数显游标卡尺(DELIXI,中国),台式高速离心机(Eppendorf),PCR 仪(Bio-Rad,美国),QIAxtractor(QIAGEN,德国),电泳仪(Tanon,中国)凝胶成像仪(Tanon,中国),Bioanalyzer(Agilent,美国),Illumina Miseq 测序仪(Illumina Miseq,美国)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组

适应性喂养 1 周后,随机分为对照组(NC 组, $n = 8$)、模型组(M 组, $n = 8$)、益生菌 + 模型组(PM 组, $n = 8$)。

1.2.2 结肠癌皮下瘤小鼠模型

结肠癌皮下瘤小鼠模型参考文献^[13-15],取结肠癌 CT26.WT 细胞株,加入 CT26.WT 细胞专用培养基,于 5% CO₂ 培养箱中进行培养,隔天进行传代培养,当细胞活力达到 95%时,使用 0.25%胰酶-EDTA 消化细胞 3 min,加 10% FBS 完全培养液终止消化,将细胞悬液调整为 $1 \times 10^7/\text{mL}$ 。于 10 周龄末,取 0.2 mL 细胞悬液接种在 M 组和 PM 组每只小鼠左后肢侧背部皮下,NC 组每只小鼠相同部位接种 0.2 mL 生理盐水,所有操作均在无菌条件下进行。

1.2.3 口服益生菌方法

生理盐水溶解益生菌混合冻干粉达到 1×10^9 CFU/mL,PM 组给予 200 μL (2×10^8 CFU)混合菌粉溶液^[16],NC 组、M 组则给予 200 μL 生理盐水。采用灌胃方式给药,每周 3 次,连续 7 周。

1.2.4 皮下荷瘤监测

从肿瘤大小可用数显游标卡尺测量其长度和宽度时,开始监测肿瘤体积。从可以触及皮下肿瘤开始监测肿瘤体积,肿瘤体积估计采用公式: $V = a \times b^2/2$ (a 、 b 分别为肿瘤长度与宽度),肿瘤质量通过公式: $M = V \times F$ (F 为取材时肿瘤实际质量与其体积比值)^[17]。

1.2.5 样本采集与处理

称重后以 2%戊巴比妥钠溶液 4 mL/kg 腹腔内

注射麻醉。打开腹腔迅速取出整个肠道,冷生理盐水清洗肠道外表面后,切取所需盲肠段,用无菌镊子挤盲肠内容物至无菌冻存管,液氮速冻后转移入 -80°C 冰箱储存,用于肠道菌群分析。

1.2.6 16S rRNA 检测肠道菌群

取出冻存的肠道内容物样本,深埋入干冰中邮寄至上海欧易生物医学科技有限公司进行 16S rRNA 测序。主要步骤包括样本总 DNA 抽提与质检、PCR 扩增、产物纯化、文库构建、Illumina 上机测序、生物信息学分析、物种注释使用 Silva 数据库。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计学处理,以平均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示结果。多组间比较采用单因素方差(One-way ANOVA)进行分析,若满足正态分布,且方差齐则采用 LSD 检验,若方差不齐则采用 Tamhane's T2 检验;若不满足正态分布,则采用 Kruskal Wallis 检验或 Adonis 多元方差分析。两组间比较采用独立样本 T 检验。以 $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

2 结果

2.1 一般状态观察

C 组小鼠精神状态良好、饮食正常、行动敏捷、体型健壮、体毛滋润而有光泽,M 组小鼠精神萎靡、动作迟缓、食欲下降、体毛无光泽、立毛、体形瘦弱,PM 组小鼠精神状态、食欲、去瘤体重、体毛光泽度等一般状态强于 M 组(见图 1)。

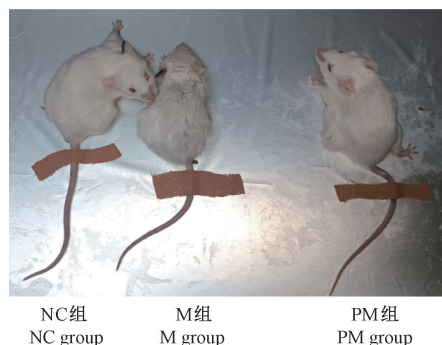
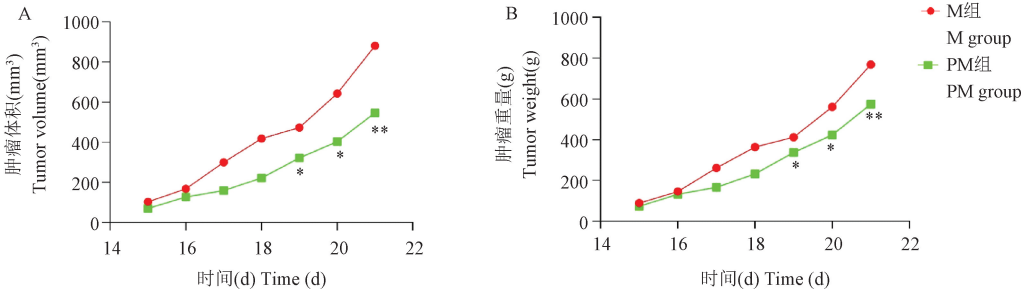


图 1 小鼠一般状态

Figure 1 General state

2.2 皮下荷瘤生长变化结果

接种 CT26.WT 细胞株后,约第 9 天可徒手触及皮下米粒般大小肿瘤,约第 15 天可用数显游标卡尺监测肿瘤体积,肿瘤体积及重量随时间逐渐增加,约第 19 天后 M 组显著性高于 PM 组,见图 2。



注:与 M 组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 2 皮下肿瘤生长趋势

Note. Compared with M group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Figure 2 Trend of subcutaneous tumor growth

2.3 肠道菌群测序结果

2.3.1 肠道样本测序数据分析结果

从 3 组 17 例肠道样本中共获得 1354 601 条序列,经质量过滤、降噪、拼接及去嵌合体等质控分析,共得到 844 724 条序列,最终形成 ASV 6993 个。如图 3 所示,NC 组、M 组和 PM 组共有 ASV 28 个,NC 组特有 ASV 2920 个,M 组特有 ASV 2002 个,PM 组特有 ASV 1595 个。

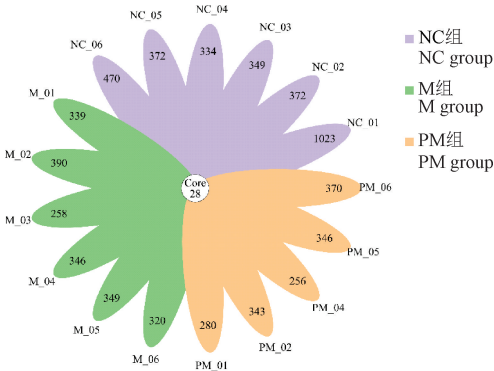


图 3 花瓣图

Figure 3 Flower plot

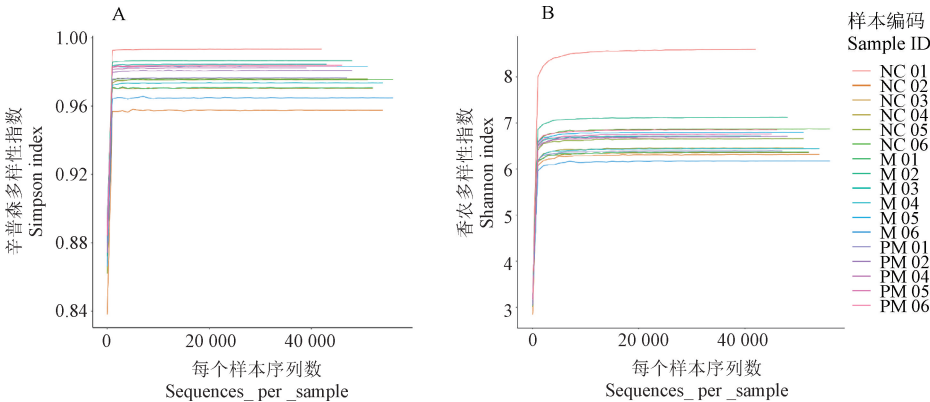


图 4 稀释曲线

Figure 4 Dilution curve

2.3.2 肠道菌群 Alpha 多样性分析结果

Alpha 多样性又称样本内多样性,通常反映一个样本内部的均匀度和丰富度信息。Alpha 多样性指数包括 Shannon、Simpson、ACE、Chao1、Observed species 等 5 个指数。Simpson、Shannon 指数反映群落丰富度,其稀释曲线随测序量的增加而逐渐平坦,表明当前测序量趋于饱和,即测序深度足够,已基本覆盖样本中所有物种(图 4)。ACE、Chao1、Observed species 指数反映群落多样性,数值越大表示群落含物种越高。如图 5 所示,与 NC 组相比,M 组小鼠 ACE 指数、Chao1 指数、Observed species 指数均下降,补充益生菌后其趋于正常,但均无显著性差异。

2.3.3 肠道菌群 Beta 多样性分析结果

Beta 多样性通常反映不同环境下群落之间的物种差异,即样本间距离。若样品间距离越接近,其微生物组成结构越相似,差异性越小,故群落结构相似度高的样品更聚集,群落结构差异性大更分散。主坐标分析(Principal Coordinates Analysis, PCoA)图(图 6)和多元方差分析(Adonis)显示,各

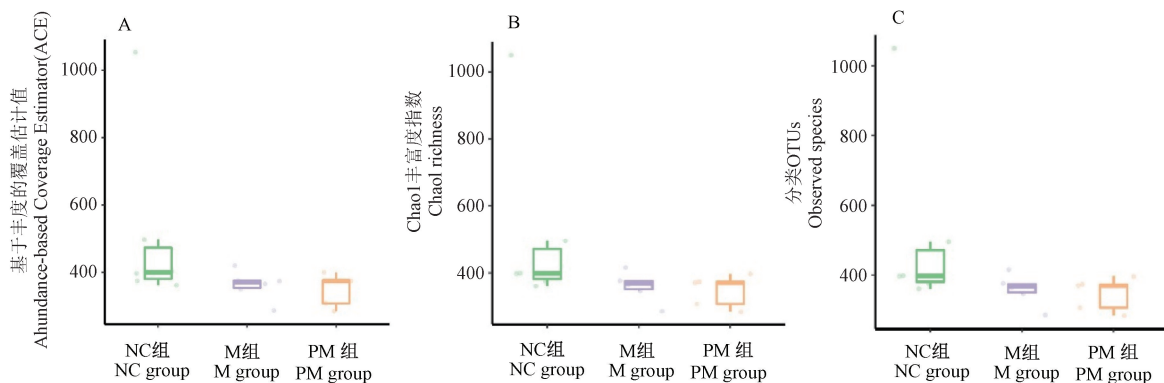
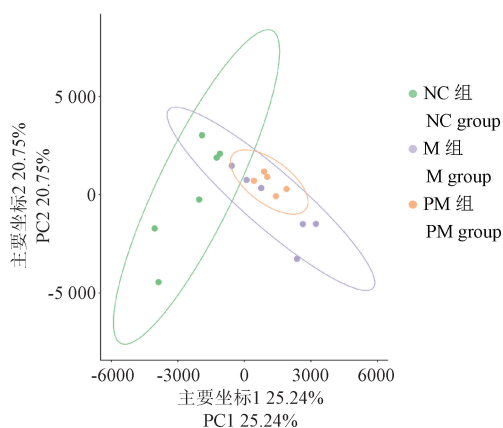


图 5 箱线图

Figure 5 Boxplot diagram

组组内样本倾向聚集,组间肠道菌群组成结构存在显著性差异($IR^2 = 0.26, P = 0.001 < 0.05$)。提示结肠癌小鼠肠道菌群结构发生了改变,补充益生菌后对肠道菌群结构多样性具有一定的回调作用。



注:横坐标(PC1)和纵坐标(PC2)为样本间差异解释度最大的两个主要坐标。

图 6 PCoA 图

Note. The abscissa (PC1) and ordinate (PC2) are the two main coordinates with the largest explanation of the differences between samples.

Figure 6 PCoA diagram

2.3.4 肠道菌群落结构分析结果

群落结构又称“生物群落”通常指生态学中,一个群落生物环境内相互之间具有直接或间接关系的所有生物。本实验统计分析各组小鼠各个细菌分类水平(门、纲、目、科、属、种)上的微生物群落的构成,选取门和属两种水平进行分析比较,清晰地展示了各组小鼠肠道内容物菌群的优势菌群及其差异,重点研究相对丰度占比较高的菌种。

如图 7A 所示,在门水平包括拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、变形菌门

(*Proteobacteria*)和脱硫菌门(*Desulfobacterota*)4种优势菌门,与NC组相比,M组拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、脱硫菌门(*Desulfobacterota*)等相对丰度升高,厚壁菌门(*Firmicutes*)、变形菌门(*Proteobacteria*)等相对丰度降低,提示厚壁菌门(*Firmicutes*)/拟杆菌门(*Bacteroidetes*)即F/B比值降低。经补充益生菌后,与M组相比,PM组拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、变形菌门(*Proteobacteria*)等相对丰度升高,厚壁菌门(*Firmicutes*)、脱硫菌门(*Desulfobacterota*)等相对丰度降低,提示F/B比值降低。如图7B所示,在属水平上包括*Muribaculaceae*、毛螺菌属NK4A136(*Lachnospiraceae_NK4A136_group*)、另枝菌属(*Alistipes*)、拟杆菌属(*Bacteroides*)等菌属是主要优势菌属。经补充益生菌后,与M组相比,PM组*Muribaculaceae*、拟杆菌属(*Bacteroides*)等相对丰度升高,毛螺菌属NK4A136(*Lachnospiraceae_NK4A136_group*)、另枝菌属(*Alistipes*)等相对丰度降低。

2.3.5 肠道菌群组间差异分析结果

采用LEfSe分析法即线性判别分析(Linear Discriminant Analysis, LDA)与效应量测量相结合,进一步探讨各组间的分类区别,结果发现共44条差异显著的种群(LDA值均大于2),其中,20条富集于NC组和PM组,4条富集于M组。在属水平上,M组缠结优杆菌属(*Eubacterium_nodatum_group*)显著性增多;PM组*Muribaculaceae*、拟杆菌属(*Bacteroides*)、*Muribaculum*、梭菌属(*Clostridioides*)、狭义梭菌属_1(*Clostridium_sensu_stricto_1*)、普雷沃氏菌科_NK3B31(*Prevotellaceae_NK3B31_group*)、肠球菌属(*Enterococcus*)、ASF356、狄氏副拟杆菌属(*Parabacteroides*)、UCG_010显著增多(图8)。

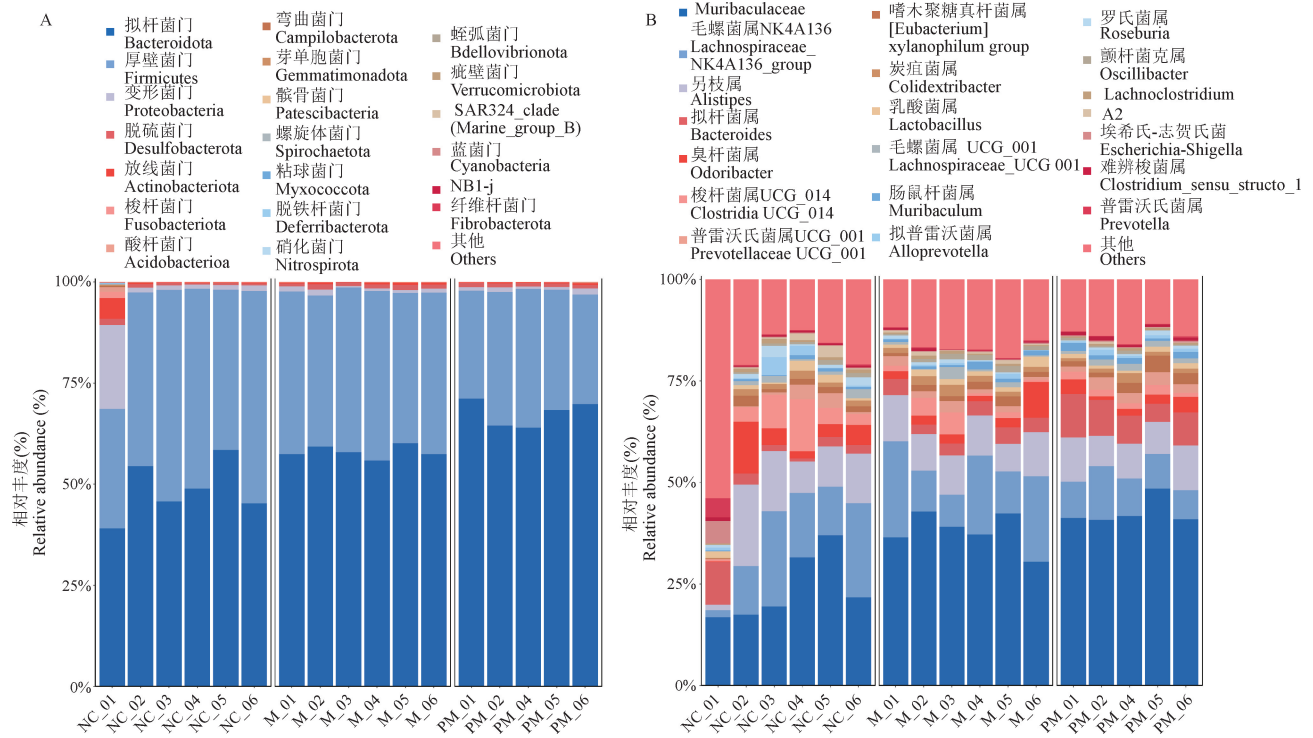


图 7 门和属水平的群落结构柱状图

Figure 7 Histogram of community structure at phylum level and genus level

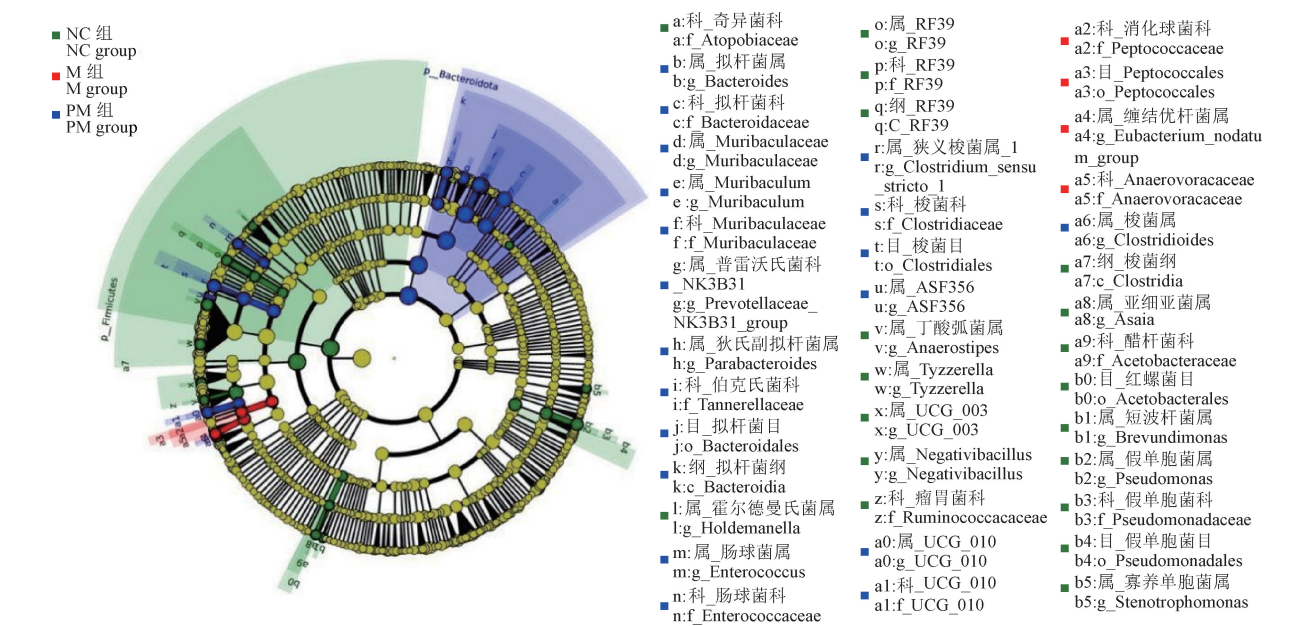


图 8 LEfSe 组间差异分析图

Figure 8 Analysis diagram of difference between LEfSe groups

3 讨论

结肠癌是一种与遗传、环境因素、生活方式等因素具有很强相关性的疾病,是全球最常见恶性肿瘤之一,国内发病率呈逐年增长趋势^[1]。如年龄、饮食、药物、代谢疾病等机体内环境的改变可能

造成肠道菌群稳态的失调,继而不同程度地引发多种疾病,其中,结肠癌的发生发展与其肠道菌群失调密切相关^[10,18]。改善肠道菌群失调状态,可降低结肠癌发生率,抑制结肠癌恶化,具体机制尚不明确^[19]。益生菌是一类对机体产生有益作用的微生物,可改善宿主肠道微生物平衡,对机体产生有利

的影响,用来预防和治疗疾病的历史已有一百多年了^[20]。其中,乳酸杆菌和双歧杆菌是益生菌中最重要的两位成员,人体生理性细菌,对宿主无致病性,摄入足够量对宿主肠道健康具有一定维持作用,可预防或抑制宿主肠道癌症的发生发展^[21]。本实验以结肠癌皮下瘤小鼠为研究对象,口服益生菌溶液为干预手段,益生菌选用长双歧杆菌和保加利亚亚种混合冻干粉(长双歧杆菌 $> 1.0 \times 10^{10}$ CFU/g,德氏乳杆菌保加利亚亚种 $> 1.0 \times 10^{10}$ CFU/g),利用 16S rRNA 测序技术研究结肠癌皮下瘤小鼠肠道菌群 Alpha 多样性、Beta 多样性、在门、属水平上肠道菌群菌落结构的变化及组间差异的影响。

实验采用皮下接种 CT26.WT 细胞株建立结肠癌皮下瘤小鼠模型,约第 9 天徒手触摸到 M 组及 PM 组小鼠皮下米粒般大小肿瘤块,肿瘤块随时间的延长开始逐渐变大,成功率 100%,由此,可见实验成功构建结肠癌皮下瘤小鼠模型。监测皮下肿瘤生长变化结果显示,结肠癌皮下瘤小鼠经口服益生菌 7 周后,后期其皮下瘤的体积与重量显著性下降,提示口服双歧杆菌和乳酸杆菌具有抑制肿瘤生长的作用,这与以往研究结果一致^[21-22]。

利用 16S rRNA 技术观察补充益生菌对肠道菌群结构的影响,结果显示各组间的有效序列及 ASVs 数量发生变化。Alpha 多样性分析显示,M 组与 NC 组相比有下降的趋势,这可能与肠内益生菌群大量减少、致病菌群大量增加有关,提示可能引发慢性炎症反应,促发结直肠癌的发生发展^[23-25];补充益生菌后其趋于正常,但均无显著性差异。进一步进行 Beta 多样性分析显示,各组间肠道菌群组成结构存在显著性差异($IR^2 = 0.26, P = 0.001 < 0.05$),提示结肠癌小鼠肠道菌群结构发生了改变,经补充益生菌对其肠道菌群结构具有一定的回调作用^[26-29]。有研究表明^[30-32],厚壁菌门(*Firmicutes*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)作为人体两类主要肠道菌群,两者比值即 F/B 的增加或减少均被视为肠道菌群生态失调,其中,前者是肥胖患者,后者多数是炎症性肠病或结直肠癌患者^[30],这与本实验结肠癌皮下瘤小鼠肠道菌群菌落结构分析结果中 M 组 F/B 比值的变化一致。有研究表明,口服益生菌如双歧杆菌、乳酸杆菌,有助于恢复生态失调的微生物群,并可预防肥胖、炎症性肠病和结直肠癌等^[30,33]。Liu 等^[16]研究发现,口服丁酸梭菌(*Clostridium butyricum*, CB)降低结肠炎相关结肠癌症小鼠肠道

微生物群 F/B 比值,增加益生菌的相对丰度,与 PM 组经口服益生菌后 F/B 比值变化趋势一致。在门水平上,与 M 组相比,PM 组促炎菌变形菌门(*Proteobacteria*)相对丰度升高,但因增加幅度仅为 0.04%,而促炎菌脱硫菌门(*Desulfobacterota*)相对丰度降低。在属水平上,*Muribaculaceae* 参与抗炎机制^[34]、拟杆菌属(*Bacteroides*)可减轻炎症^[35],PM 组 *Muribaculaceae*、拟杆菌属(*Bacteroides*)等相对丰度高于 M 组,提示口服益生菌可显著提高肠道内有益菌群的相对丰度,改善肠道菌群稳态。PM 组有益菌毛螺菌属 NK4A136(*Lachnospiraceae_NK4A136_group*)、另枝菌属(*Alistipes*)等相对丰度低于 M 组,与以往研究不同^[36-37],可能与口服益生菌种类、小鼠种类及批次等其他因素有关。本研究进一步采用 LEfSe 分析表明,PM 组具有显著性差异菌群为 *Muribaculaceae*、拟杆菌属(*Bacteroides*)、*Muribaculum*、梭菌属(*Clostridioides*)、狭义梭菌属_1(*Clostridium_sensu_stricto_1*)、普雷沃氏菌科_NK3B31(*Prevotellaceae_NK3B31_group*)、肠球菌属(*Enterococcus*)、ASF356、狄氏副拟杆菌属(*Parabacteroides*)、UCG_010,其中,*Muribaculaceae*、拟杆菌属(*Bacteroides*)(两者 LDA 值 > 4)与肠道菌群物种分析中两者相对丰度升高具有较好的一致性,提示口服益生菌可能增加结肠癌皮下瘤小鼠肠道菌群中益生菌的相对丰度。

4 小结

口服益生菌可能通过增加结肠癌皮下瘤小鼠肠道菌群中有益菌 *Muribaculaceae* 和拟杆菌属(*Bacteroides*)的相对丰度,进而改善肠道菌群失调状态。

参 考 文 献(References)

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] Cao W, Chen HD, Yu YW, et al. Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: a secondary analysis of the global cancer statistics 2020 [J]. Chin Med J, 2021, 134(7): 783-791.
- [3] Avuthu N, Guda C. Meta-analysis of altered gut microbiota reveals microbial and metabolic biomarkers for colorectal cancer [J]. Microbiol Spectr, 2022, 10(4): e0001322.
- [4] Garrett WS. The gut microbiota and colon cancer [J]. Science, 2019, 364(6446): 1133-1135.

- [5] Quaglio AEV, Grillo TG, de Oliveira ECS, et al. Gut microbiota, inflammatory bowel disease and colorectal cancer [J]. World J Gastroenterol, 2022, 28(30): 4053-4060.
- [6] 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.
- [7] Hill C, Guarner F, Reid G, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2014, 11(8): 506-514.
- [8] Pushpanathan P, Mathew GS, Selvarajan S, et al. Gut microbiota and its mysteries [J]. Indian J Med Microbiol, 2019, 37(2): 268-277.
- [9] Xu Q, Xu P, Cen Y, et al. Effects of preoperative oral administration of glucose solution combined with postoperative probiotics on inflammation and intestinal barrier function in patients after colorectal cancer surgery [J]. Oncol Lett, 2019, 18(1): 694-698.
- [10] 陈海彬, 周红光, 李文婷, 等. 基于肠道菌群的结肠癌防治及与癌毒病机理论的关系 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(12): 5796-5800.
- Chen HB, Zhou HG, Li WT, et al. Prevention and treatment of colon cancer based on intestinal flora and its relationship with cancerous toxin theory [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2019, 34(12): 5796-5800.
- [11] 边佳昕, 闵涛玲, 陈昌发, 等. 益生菌用于疾病治疗的研究进展 [J]. 世界临床药物, 2017, 38(2): 134-137.
- Bian JX, Min TL, Chen CF, et al. Research progress of probiotics for disease treatment [J]. World Clin Drugs, 2017, 38(2): 134-137.
- [12] Ambalam P, Raman M, Purama RK, et al. Probiotics, prebiotics and colorectal cancer prevention [J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2016, 30(1): 119-131.
- [13] 吴宏磊, 陈进宝, 徐可, 等. 六神丸对结肠癌 CT26 荷瘤小鼠移植瘤生长的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(11): 1203-1206.
- Wu HL, Chen JB, Xu K, et al. Effect of Liushen pills on the growth of colon cancer CT26 tumor-bearing mice [J]. Chin J Clin Pharmacol, 2022, 38(11): 1203-1206.
- [14] 刘文立, 莫海云. 白及多糖通过调节免疫作用抑制结肠癌 CT26 荷瘤小鼠肿瘤生长 [J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(8): 941-945.
- Liu WL, Mo HY. *Bletilla Striata* polysaccharide inhibits tumor growth in colon cancer CT26 tumor-bearing mice by regulating immunity [J]. Chin J Immunol, 2021, 37(8): 941-945.
- [15] 崔立坤, 张皓, 于伟, 等. 槐白皮提取物对 CT26 荷瘤小鼠的抑瘤减毒作用研究 [J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(5): 585-589.
- Cui LK, Zhang H, Yu W, et al. Study on the anti-tumor and toxicity reduction effects of the bark extract of *Sophora japonica* on the CT26 tumor-bearing mice [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2021, 38(5): 585-589.
- [16] Liu M, Xie W, Wan X, et al. *Clostridium butyricum* modulates gut microbiota and reduces colitis associated colon cancer in mice [J]. Int Immunopharmacol, 2020, 88: 106862.
- [17] 林行宇. 钙蛋白酶抑制剂对癌性恶病质小鼠骨骼肌消耗的治疗作用及其机制研究 [D]. 福州: 福建医科大学; 2017.
- Lin HY. Effect and mechanism of calpain inhibitors on skeletal muscle wasting in cancer cachectic mice [D]. Fuzhou: Fujian Medical University; 2017.
- [18] Li J, Zhang AH, Wu FF, et al. Alterations in the gut microbiota and their metabolites in colorectal cancer: recent progress and future prospects [J]. Front Oncol, 2022, 12: 841552.
- [19] 王生, 黄晓星, 余鹏飞, 等. 肠道菌群失调与结肠癌发生发展之间关系的研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2014, 30(8): 1045-1049.
- Wang S, Huang XX, Yu PF, et al. Intestinal microbiota dysbiosis associated with the development of colon cancer: progress and prospects [J]. Chin Pharmacol Bull, 2014, 30(8): 1045-1049.
- [20] Reid G. Probiotics: definition, scope and mechanisms of action [J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2016, 30(1): 17-25.
- [21] Sanders ME, Merenstein DJ, Reid G, et al. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019, 16(10): 605-616.
- [22] 李庆祥. 口服短双歧杆菌抑制肿瘤生长的机制研究 [D]. 北京: 北京大学; 2021.
- Li QX. Study on the mechanism of oral *Bifidobacterium brevis* inhibiting tumor growth [D]. Beijing: Peking University; 2021.
- [23] Keku TO, Dulal S, Deveaux A, et al. The gastrointestinal microbiota and colorectal cancer [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2015, 308(5): G351-G363.
- [24] 杨柳, 梁新军. 肠道菌群微生态与结直肠癌的研究进展 [J]. 中国肿瘤临床, 2018, 45(24): 1239-1242.
- Yang L, Liang XJ. Advances in the study of intestinal microecology and colorectal cancer [J]. Chin J Clin Oncol, 2018, 45(24): 1239-1242.
- [25] 罗绰, 黄明君, 王一琳, 等. 肠道菌群与结直肠癌研究进展 [J]. 肠外与肠内营养, 2019, 26(6): 377-381.
- Luo C, Huang MJ, Wang YL, et al. Advances in relation of intestinal flora and colorectal cancer [J]. Parenter Enter Nutr, 2019, 26(6): 377-381.
- [26] Tsai YL, Lin TL, Chang CJ, et al. Probiotics, prebiotics and amelioration of diseases [J]. J Biomed Sci, 2019, 26(1): 3.
- [27] Fong W, Li Q, Yu J. Gut microbiota modulation: a novel strategy for prevention and treatment of colorectal cancer [J]. Oncogene, 2020, 39(26): 4925-4943.
- [28] Sugimura N, Li Q, Chu ESH, et al. *Lactobacillus gallinarum* modulates the gut microbiota and produces anti-cancer metabolites to protect against colorectal tumorigenesis [J]. Gut, 2021, 71(10): 2011-2021.
- [29] 杨小娟. 阿司匹林、益生菌制剂及两者的联合在结直肠癌进

- 展中的作用机制探究 [D]. 银川: 宁夏医科大学; 2021.
- Yang XJ. Study on the mechanism of aspirin, probiotics and their combination in the progress of colorectal cancer [D]. Yinchuan: Ningxia Medical University; 2021.
- [30] Stojanov S, Berlec A, Štrukelj B. The influence of probiotics on the firmicutes/bacteroidetes ratio in the treatment of obesity and inflammatory bowel disease [J]. Microorganisms, 2020, 8 (11): 1715.
- [31] So WKW, Chan JYW, Law BMH, et al. Effects of a rice bran dietary intervention on the composition of the intestinal microbiota of adults with a high risk of colorectal cancer: a pilot randomised-controlled trial [J]. Nutrients, 2021, 13(2): 526.
- [32] 黄媛媛, 陈华国, 谢文, 等. 多糖与肠道菌群相互作用及其构效关系研究进展 [J]. 微生物学通报, 2022, 49(6): 2325-2346.
- Huang YY, Chen HG, Xie W, et al. Interaction between polysaccharide and intestinal flora and its structure-effect relationship: a review [J]. Microbiol Chin, 2022, 49(6): 2325-2346.
- [33] 王爱云, 沈颖, 仲金秋, 等. 益生菌预防肿瘤作用研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2018, 34(3): 312-315.
- Wang AY, Shen Y, Zhong JQ, et al. Progress of DJ-1 protein as target for liver fibrosis treatment [J]. Chin Pharmacol Bull, 2018, 34(3): 312-315.
- [34] Hao H, Zhang X, Tong L, et al. Effect of extracellular vesicles derived from *Lactobacillus plantarum* Q7 on gut microbiota and ulcerative colitis in mice [J]. Front Immunol, 2021, 12: 777147.
- [35] Tan H, Zhai Q, Chen W. Investigations of *Bacteroides* spp. towards next-generation probiotics [J]. Food Res Int, 2019, 116: 637-644.
- [36] Chen S, Wu X, Yu Z. Juglone suppresses inflammation and oxidative stress in colitis mice [J]. Front Immunol, 2021, 12: 674341.
- [37] Parker BJ, Wearsch PA, Veloo ACM, et al. The genus *Alistipes*: gut bacteria with emerging implications to inflammation, cancer, and mental health [J]. Front Immunol, 2020, 11: 906.

[收稿日期] 2023-05-04

《中国实验动物学报》2024 年征订启事

《中国实验动物学报》由中国实验动物学会与中国医学科学院医学实验动物研究所主办的全国性高级学术刊物(月刊),以理论与实践、普及与提高相结合为宗旨,征稿的范围是与实验动物与动物实验相关的生命科学各分支学科。要求来稿材料翔实、数据可靠、文字简练、观点明确、论证合理,有创新、有突破、有新意。

开设栏目:研究论著和研究快报。

读者对象:农牧渔业、医学、药学、环保、生物、体育、国防等单位的科技工作者、教育工作者、管理人员以及有关的生产者、大专院校学生等。

刊期及订价:月刊,大 16 开本,140 页。月末出版。每期 50 元,全年 12 期,合 600 元。邮发代号:2-748。

汇款方式:银行转帐:中国农业银行股份有限公司北京潘家园支行

帐号:11220201040003764

单位抬头全称:中国实验动物学会

请注明订刊数量,并写明刊物寄往地址及收件人。收到汇款后,我们会及时将发票寄给您。