

短篇论著

结肠直肠癌与胆汁酸代谢、
肠道菌群分布水平的相关性研究郭磊^{1,2}, 朱海杭³, 周步良²(1. 扬州大学, 江苏 扬州, 225000; 2. 南京鼓楼医院集团仪征医院, 江苏 扬州, 225000;
3. 江苏省苏北人民医院, 江苏 扬州, 225000)

摘要:目的 探讨结肠直肠癌与胆汁酸代谢、肠道菌群分布水平的相关性。方法 选取结肠直肠癌患者80例,比较结肠直肠癌组患者与正常体检人群的总胆汁酸、次级胆汁酸表达水平。收集癌组织黏膜、正常癌旁组织黏膜对应部位的粪便,采取实时荧光定量PCR方法检测肠道菌群的表达。结果 与正常体检人群相比,结肠直肠癌患者总胆汁酸及次级胆汁酸表达水平显著升高($P < 0.05$);与癌旁组织中的粪便组织相比,癌组织处的肠道菌群微生态显著改变($P < 0.05$)。可能引起肠道炎症、可能促进肿瘤细胞发生的多种条件性致病菌在癌组织处的相对丰度明显上升。结论 在结肠直肠癌的发生、发展中,总胆汁酸与次级胆汁酸表达水平的异常、肠道菌群微生态的改变可能起着重要的作用。

关键词: 总胆汁酸; 次级胆汁酸; 结肠直肠癌; 肠道菌群; 病理分型

中图分类号: R 735.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2353(2019)02-095-02 **DOI:** 10.7619/jcmp.201902026

Correlation between colorectal cancer and bile
acid metabolism and intestinal flora distributionGUO Lei^{1,2}, ZHU Haihang³, ZHOU Buliang²

(1. Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu, 225000; 2. Yizheng Hospital of Nanjing Drum Tower Hospital Group, Yangzhou, Jiangsu, 225000; 3. Subei People's Hospital, Yangzhou, Jiangsu, 225000)

ABSTRACT: Objective To explore the correlation between colorectal cancer and bile acid metabolism and intestinal flora distribution. **Methods** A total of 80 patients with colorectal cancer were selected. The expression levels of total bile acid and secondary bile acid were compared between patients with colorectal cancer and healthy people. The feces from the corresponding parts of the mucosa of cancer tissue and normal adjacent tissue were collected in order to detect the expression level of intestinal flora by real-time fluorescence quantitative PCR. **Results** The expression levels of total bile acid and secondary bile acid in patients with colorectal cancer were significantly higher than those in healthy people ($P < 0.05$), and the microecology of intestinal flora in cancer tissues significantly changed when compared with that in fecal tissues adjacent to cancer ($P < 0.05$). The relative abundance of several conditional pathogenic bacteria which may cause intestinal inflammation and significant increase of promoting tumor genesis in cancer tissues. **Conclusion** In the occurrence and development of colorectal cancer, abnormal expressions of total bile acid and secondary bile acid and changes of intestinal microflora may play important roles.

KEY WORDS: total bile acid; secondary bile acid; colorectal cancer; intestinal flora; pathological typing

研究^[1]显示,在结肠直肠癌的发生过程中,胆汁酸可能通过不同的途径诱导结肠直肠癌细胞的增殖,而高浓度的次级胆汁酸则对肿瘤有促进

作用。肠道菌群数量变化在结肠直肠癌的发生、发展中可能发挥一定的作用,如结肠直肠癌患者大肠埃希菌、屎肠球菌和酵母菌数量明显增加,双

收稿日期: 2018-08-13 录用日期: 2018-10-23

基金项目: 南京鼓楼医院集团仪征医院科研基金资助项目(NH16004)

通信作者: 周步良

歧杆菌和乳酸杆菌数量明显减少。目前,肠道菌群参与结肠直肠癌的发生、发展机制尚不明确,而有关胆汁酸、次胆汁酸代谢、肠道菌群以及 G 蛋白偶联胆汁酸受体 5 (TGR5) 在结肠直肠癌中表达的研究也不多见^[2]。本研究通过检测结肠直肠癌患者的胆汁酸水平、肠道菌群的分布,探讨胆汁酸代谢、次级胆汁酸代谢与肠道菌群在结肠直肠癌发病中的相关性,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2017 年 3 月—2018 年 3 月本院胃肠外科行手术治疗的结肠直肠癌患者 80 例为结肠直肠癌组,男 52 例,女 28 例,平均年龄(56.40 ± 16.50)岁。另选取正常体检人群 80 例作为对照组,男 50 例,女 30 例,平均年龄(53.40 ± 7.67)岁。2 组患者抽取的血浆标本均为乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝外周血血浆。收集结肠直肠癌根治术后的癌组织(经病理证实)和癌旁组织(肉眼观察距癌组织 2 cm)处的粪便。所有患者术前无放疗、化疗史,标本提取后投入液氮中冷冻,存放在 -80℃ 的低温冰箱中保存。结肠直肠癌患者性别、年龄、病理分型、肿瘤细胞分化程度、肿瘤细胞浸润程度、淋巴结转移和周围淋巴血管侵犯等临床病理资料完整。参照 2010 年第 7 版国际抗癌联盟(UICC)/美国癌症肿瘤联合会(AJCC)的结肠直肠癌临床病理诊断标准,包括 I a 期结肠直肠癌 6 例, I b 期 14 例, II a 期 24 例, II b 期 14 例, III a 期 18 例, III b 期 4 例。根据 TNM 病理诊断标准分为高分化 4 例,中分化 60 例,低分化 16 例。有 8 例结肠直肠癌患者发生远处转移。

1.2 研究方法

抽取结肠直肠癌组患者和正常体检人群的血液,利用生化仪酶促法检验总胆汁酸及次级胆汁酸表达水平,并将其与正常体检人群的血液总胆汁酸及次级胆汁酸表达水平进行对比。收集癌组织黏膜、正常组织黏膜以及对应部位的粪便,采用实时荧光定量 PCR 法对提取的粪便细菌 DNA 进行检测,并定量分析 PCR 产物特异性,待分析反应结束之后,由 PCR 仪分析定量结果。对肠道菌群进行分析,首先过滤并处理原始数据,得到优化的序列;而后对嵌合体序列加以取出,得到有效序列,然后再进行数据的聚类分析。每一个聚类都是一个操作单元(OTU),根据聚类统计结果加

以样本的多样性指数分析,以及对检测测序的深度进行分析^[3]。采用 RDP classifier 贝叶斯算法进行聚类的代表序列的相似水平分析,将相似水平设置为 97%,并对每个样本的群落组成进行水平统计,然后比对数据库 Silva 119 16S rRNA database(<https://www.arb-silva.de/>)。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 26.0 统计软件包对数据加以分析,采用($\bar{x} \pm s$)表示计量资料,行 *t* 检验。组间计量资料比较采用随机化设计资料的方差分析,计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

结肠直肠癌组胆酸、熊去氧胆酸、甘氨酸去氧胆酸、鹅脱氧胆酸、甘氨酸胆酸、牛磺脱氧胆酸、石胆酸水平显著高于对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),见表 1。与癌旁组织的粪便肠道菌群微生态相比,癌组织的肠道菌群微生态显著改变($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 结肠直肠癌组与对照组总胆汁酸、次级胆汁酸

| 指标 | 水平比较($\bar{x} \pm s$) | |
|---------|-------------------------|---------------|
| | 结肠直肠癌组($n=80$) | 对照组($n=80$) |
| 胆酸 | 2.12 ± 0.76 * | 0.65 ± 0.23 |
| 熊去氧胆酸 | 0.58 ± 0.19 * | 0.34 ± 0.13 |
| 甘氨酸去氧胆酸 | 3.56 ± 1.23 ** | 0.07 ± 0.02 |
| 鹅脱氧胆酸 | 3.55 ± 1.24 ** | 0.87 ± 0.24 |
| 牛磺脱氧胆酸 | 0.18 ± 0.06 * | 0.03 ± 0.01 |
| 石胆酸 | 0.15 ± 0.04 * | 0.05 ± 0.02 |
| 甘氨酸胆酸 | 1.92 ± 0.67 ** | 0.01 ± 0.00 |

与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

表 2 结肠直肠癌癌组织与癌旁组织的肠道菌群微生态比较

| 肠道菌群 | 癌组织($n=80$) | 癌旁组织($n=80$) |
|--------------|----------------|----------------|
| 严格厌氧菌 | 0.43(0.68) * | 0.68(1.20) |
| β 变形菌纲 | 0.86(1.69) * | 0.98(1.97) |
| 乳酸杆菌目 | 2.43(4.83) * | 2.80(5.34) |
| 梭杆菌门 | 0.71(1.23) * | 0.75(0.45) |
| 丹毒丝菌目 | 0.43(0.68) * | 0.68(1.23) |
| 拟杆菌门 | 17.10(24.20) * | 20.30(18.50) |
| 紫单胞菌科 | 7.80(8.60) * | 8.00(11.10) |
| 瘤胃菌科 | 1.70(1.80) * | 1.30(1.50) |
| 酸杆菌门 | 0.43(0.68) * | 0.68(1.20) |
| 罗氏菌群 | 0.87(1.55) * | 0.87(1.50) |
| 芽孢杆菌属 | 0.012(0.001) * | 0.009(0.007) |
| 粪球菌属 | 17.10(24.20) * | 20.90(0.007) |

肠道菌群以 OTUs 的相对丰度(每个 OUT 中序列数的相对百分含量)表示。与癌旁组织相比, * $P < 0.05$ 。

(下转第 99 面)

助临床医师准确辨别患儿的肺炎感染类型,但细菌培养时间较长,而临床医师需对急诊患儿尽快用药,因而无法用于用药方案指导中^[5-6]。同时,血清特异性抗体检测也是国内常用的病毒、细菌、支原体检测方法,但同样无法快速、早期、准确鉴别出肺炎感染类型^[7]。

CRP 为肝脏急性期产生的反应蛋白,一旦机体受到炎症刺激或者组织创伤,其肝脏随即可产生大量 CRP,尤其是机体遭受细菌感染时,大约有 96% 患者体内 CRP 水平急剧升高。机体处于疾病急性期时,其 CRP 可与细菌细胞膜、细胞壁以及细胞磷脂蛋白磷脂酰胆碱相结合,从而发挥作用。磷脂酰胆碱广泛存在于病原体、细胞膜脂多糖内,可帮助 CRP 准确识别出病原体靶点、坏死或者受损宿主细胞膜^[8]。因此,病毒感染后可损伤细胞膜,提升 CRP 水平。因此,CRP 可作为衡量机体疾病急性期的标准。此外,CRP 对患者年龄、性别以及有无贫血等外界因素不敏感,在鉴别小儿肺炎感染类型上较其他类型急性期反应物更具优越性。本研究结果显示,研究组 CRP 水平及其阳性率均高于对照组,可见 CRP 指标可用于小儿肺炎临床诊断中。同时,细菌性肺炎组的 CRP 水平及其阳性率最高,依次是支原体肺炎、病毒性肺炎,可见 CRP 可用于不同类型肺炎感染

患儿鉴别中。此外,研究组患儿危重组患儿 CRP 水平高于重度组,而重度组高于中轻度组,可见 CRP 水平检测还可用于评估肺炎患儿的病情。综上所述,CRP 检测在小儿肺炎感染类型鉴别中的诊断价值较高。

参考文献

- [1] 金瑄. 肺炎支原体抗体联合超敏 C 反应蛋白检测在小儿支原体肺炎感染诊断中的临床价值[J]. 标记免疫分析与临床, 2015, 22(8): 744-746.
- [2] 邢雅明. 肺炎支原体抗体联合超敏 C 反应蛋白检测在小儿肺炎支原体肺炎感染诊断中的临床价值[J]. 国际儿科学杂志, 2016, 43(12): 963-965.
- [3] 夏兰兰, 李敬. 小儿肺炎中 PCT、WBC、hs-CRP 检测对疾病诊断及预后判断价值分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2017, 24(4): 435-437.
- [4] 曾燕波. 白细胞计数联合 C 反应蛋白检测在儿童不同病原体感染中的鉴别诊断价值[J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(10): 2125-2128.
- [5] 张华俐, 王超, 张蕊, 等. 发光免疫分析仪联合检测超敏 C 反应蛋白、降钙素原及免疫功能对小儿肺炎诊断的价值[J]. 中国医学装备, 2016, 13(12): 109-112.
- [6] 伊忻, 靳晶, 陈纳纳, 等. 血清降钙素原联合 C 反应蛋白和 IL-6 检测在小儿感染性肺炎诊断中的应用效果[J]. 国际呼吸杂志, 2016, 36(14): 1045-1048.
- [7] 郑祝龄. 白细胞联合 C 反应蛋白检测在小儿支气管哮喘合并感染中的应用价值探讨[J]. 临床肺科杂志, 2016, 21(6): 1003-1005.
- [8] 刘光华, 赖乾坤, 叶红, 等. 外周血中性粒细胞 CD64 表达在儿童社区获得性肺炎早期病原学鉴别诊断中的应用价值[J]. 中国小儿急救医学, 2016, 23(7): 476-479.

(上接第 96 面)

3 讨论

结肠直肠癌的发展是多阶段、多步骤的过程,受到多种因素的影响。人体胃肠道蕴藏着一个巨大而丰富的肠道群落,这些肠道菌群对宿主的营养及黏膜免疫功能起着至关重要的作用^[4-6]。随着高通量测序技术的发展,有证据^[7]表明复杂的肠道微生物群落在肠道肿瘤发生、发展过程中起着重要的作用。最近对肠道菌群与结肠直肠癌的研究^[8]发现,结肠直肠癌患者的癌组织肠黏膜和正常人的正常组织肠黏膜肠道菌群结构存在很大差异。本研究提示,结肠直肠癌患者癌组织肠道菌失调的明显特征是丁酸盐产生菌显著减少。丁酸盐具有降低细胞 DNA 氧化损伤、诱导已经出现 DNA 损伤的细胞凋亡、阻断肿瘤组织细胞生长、减弱致癌酶的作用等功能,可降低宿主肠壁的损伤,降低患肠炎和结肠直肠癌的风险。

肠道炎症是罹患结肠直肠癌的重要危险因素。本研究中,结肠直肠癌患者未检测到双歧杆菌。本研究采用半定量 PCR 检测,结果显示结肠直肠癌患者胆酸、熊去氧胆酸、甘氨酸熊去氧胆酸、

鹅脱氧胆酸、甘氨酸胆酸、牛磺脱氧胆酸、石胆酸水平较健康体检人群显著升高($P < 0.05$)。本研究发现在结肠直肠癌的发生、发展中,总胆汁酸和次级胆汁酸表达水平的异常、肠道菌群微生态的改变可能起着重要的作用。

参考文献

- [1] 熊俊. 结肠腺瘤性息肉患者的粪胆汁酸[J]. 国外医学: 消化系疾病分册, 1987(2): 120-121.
- [2] 赵旭东, 吴娜, 张薇. 胆汁酸在结直肠癌发生中的研究进展[J]. 现代医药卫生, 2006, 22(22): 3440-3441.
- [3] 成泽富雄, 范国秀. 胆汁酸与结肠癌[J]. 日本医学介绍, 1989, 10(10): 443-444.
- [4] 陆宁, 王邦茂, 黄迺侠, 等. 黄连素对脱氧胆酸诱导的人结肠癌细胞株增殖抑制作用及机制[J]. 中华消化杂志, 2006, 26(9): 632-633.
- [5] 黄杰安, 于皆平, 沈志洋. 大肠肿瘤患者粪胆汁酸代谢特点[J]. Anthology of medicine, 2000, 19(4): 429-451.
- [6] Wachs F P, Krieg R C, Rodrigues C M, et al. Bile salt-induced apoptosis in human colon cancer cell lines involves the mitochondrial transmembrane potential but not the CD95 (Fas/Apo-1) receptor[J]. Int J Colorectal Dis, 2005, 20(2): 103-113.
- [7] 梁淑文, 屈昌民, 王晓英, 等. 结肠癌患者肠道菌群变化的临床研究[J]. 中国微生态学杂志, 2017, 29(1): 62-65.
- [8] 冯静, 魏亚聪, 宋光耀. 肠道菌群与胆汁酸代谢[J]. 国际消化病杂志, 2016, 36(4): 237-239.