XXXX DOI:

肠道菌群及代谢物在不同转移状态肠癌患者中的差异分析

夏 阳[1],张新莲[2],段 玲[1],令晓玲[1]
(1.兰州大学第一临床医学院,兰州 730000;2.兰州市第一人民医院血液科,兰州 730000)

【摘 要】**目的**:本研究通过对不同转移状态的结直肠癌(colorectal cancer,CRC)患者肠道菌群及粪便代谢物的联合分析,探讨二者对CRC发生、发展的影响。**方法**:选取符合纳入标准的CRC患者及本地健康人群为研究对象,分为健康组(C组)、CRC无远处转移组(S组)、CRC单发转移组(DZ组)、CRC多发转移组(Z组),将患者的粪便样本进行16S rDNA 和非靶向代谢组学分析,分析不同组间肠道菌群及代谢物差异,并通过Spearman相关性分析揭示菌群-代谢物关联。**结果**:①菌群多样性:四组间肠道菌群Alpha多样性差异无统计学意义($P>0.05$),Beta多样性具有统计学差异($P<0.05$)。②菌群组成:变形菌门、厚壁菌门、拟杆菌门、放线菌门为主要差异菌群。不同组别间肠道菌群组成形成差异,宏基因组序列分析及线性判别分析综合研究发现除了DZ组与Z组肠间道菌群无明显差异性外,其余组间肠道菌群均存在差异性。③代谢物差异:关键差异代谢物包括:哈帕吲哚D(S组高表达)、章鱼碱(DZ/Z组高表达)和次黄嘌呤(Z组高表达)。④菌群-代谢物关联:粪便代谢物与肠道差异菌属表现出明显的相关性,如毛螺菌属NK4A136组和韦荣氏球菌属与丙氨酸-亮氨酸呈正相关($P<0.05$);毛螺菌属NK4A136组和F0058与亮肽素呈明显负相关。**结论**:不同转移状态CRC患者肠道菌群及粪便代谢物存在差异,CRC的发生、发展可能与肠道菌群及粪便代谢物存在关联。

【关键词】结直肠癌;肠道菌群;代谢组学;转移
【中图分类号】R735.3 【文献标志码】A 【收稿日期】2025-05-07

Differences in gut microbiota and metabolites between colorectal cancer patients with different metastatic statuses

Xia Yang[1], *Zhang Xinlian*[2], *Duan Ling*[1], *Ling Xiaoling*[1]
(*1.The First Clinical Medical College of Lanzhou University*; *2.Department of Hematology, The First People's Hospital of Lanzhou*)

【**Abstract**】***Objective***: To investigate the differences in gut microbiota and metabolites between colorectal cancer (CRC) patients with different metastatic statuses, as well as their influence on the development and progression of CRC. ***Methods***: The CRC patients who met the inclusion criteria and local healthy individuals were enrolled as subjects, and they were divided into healthy group (group C), CRC without distant metastasis group (group S), CRC with single metastasis group (group DZ), and CRC with multiple metastases group (group Z). Fecal samples were collected, and 16S rDNA sequencing and untargeted metabolomics analysis were performed to investigate the differences in gut microbiota and metabolites between groups, while a Spearman correlation analysis was performed to reveal the correlation between gut microbiota and metabolites. ***Results***: As for the diversity of gut microbiota, there was no significant difference in alpha diversity between the four groups ($P>0.05$), but there was a significant difference in beta diversity between the four groups ($P<0.05$). As for the composition of gut microbiota, Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, and Actinobacteria were the main differentially expressed bacteria, and there was a difference in the composition of gut microbiota between groups; metagenome sequencing and linear discriminant analysis showed that there was a significant difference in gut microbiota between all groups except between group DZ and group Z. As for metabolites, key differentially expressed metabolites included Hapalindole D (highly expressed in group S), Octopine (highly expressed in groups DZ and Z), and Hypoxanthine (highly expressed in group Z). As for the correlation between gut microbiota and metabolites, fecal metabolites were significantly correlated with differentially expressed bacteria in gut microbiota; for example, Lachnospiraceae NK4A136 and Veillonella were positively correlated with the alanine-leucine peptide fragment ($P<0.05$), while Lachnospiraceae NK4A136 and F0058 were negatively correlated with leupeptin. ***Conclusion***: There are differences in gut microbiota and fecal metabolites between CRC patients with different metastatic statuses, and the development and progression of CRC may be associated with gut microbiota and fecal metabolites.

【**Key words**】colorectal cancer; gut microbiota; metabolomics; metastatic status

作者介绍:夏 阳,Email:fely1986313@163.com,
研究方向:肠癌的内科治疗。
通信作者:令晓玲,Email:ldyy_lingxl@lzu.edu.cn。
基金项目:兰州市卫生健康科技发展资助项目(编号:2021016)。

结直肠癌(colorectal cancer,CRC)作为常见的恶性肿瘤,严重影响我国人民的身体健康。根据2024年发布的中国国家癌症中心的最新数据,2022年CRC在我国男性人群中发病率高达4.67/10万,位列第二位,在女性人群中发病率为30.32/10万,位列第四位;死亡率方面,CRC男性死亡率为19.78/10万,位列男性恶性肿瘤死亡率第四位,女性死亡率为14.1/10万,位列女性恶性肿瘤死亡率第二位[1]。CRC患者发展到后期通常伴有远处转移,虽然目前除了传统的化疗药物,已有众多靶向、免疫药物相继问世,但CRC的整体生存率仍低,尤其是晚期转移性CRC的患者因无法通过手术完全切除原发及转移灶,预后差生存期短,5年的生存率仅为14%[2]。对于同样发生转移的晚期CRC患者,单处转移癌患者预后强于多处转移癌患者。临床上迫切需要新的方法和策略来早期诊断,同时也需要新的方法、手段来预测和干预远处转移。与大多数肿瘤一样,CRC的发病机制也很复杂,其危险因素主要包括家族遗传、生活方式和环境因素等[3]。越来越多的证据表明,肠道菌群失衡与CRC的发生、发展之间有着相关联系[4-6]。

人体肠道内存在大量微小的细菌,这些微生物可以在人体的消化吸收、免疫防御病原体等生理活动中起到巨大作用。大量研究表明肠道的菌群平衡失调可以对肠道的微生态系统以及肠道的细胞运动产生负面效应,一些肠道病原体可以通过塑造肿瘤微环境或形成生物膜来推动肿瘤的发生、发展[7]。越来越多的证据表明肠道菌群失调是CRC发生及转移的一个重要危险因素。既往研究通过对CRC患者的肠道菌群分析表明,随着肿瘤的进展一些菌群的丰度逐渐增加(如具核梭杆菌),具核梭杆菌可通过激活TLR4信号促进CRC的转移,提示肠道菌群可能参与CRC的发生、发展[8-9]。此外,肠道微生物的胆汁酸代谢、氨基酸代谢和短链脂肪酸代谢也被认为与CRC的发生及转移相关[10]。

尽管宏基因组学研究已发现CRC患者肠道菌群特征性改变(如具核梭杆菌富集),但针对不同转移状态的菌群-代谢物变化的研究仍存在空白。基于此现象,研究不同转移状态的肠癌患者的肠道菌群及代谢物的差异有可能为CRC患者的早期诊断、转移预测及治疗提供新的手段。

1 对象与方法

1.1 对象

本次研究选取2021年11月至2023年11月在兰州市第一人民医院肿瘤科及兰州大学第一医院结直肠外科、肿瘤内科病理确诊为CRC的患者,且病理诊断均为腺癌。此外还招募本地且同期体检的健康人群,归为C组,CRC无远处转移的患者为S组,CRC单发转移的患者为DZ组,CRC多发转移的患者为Z组。纳入标准:C组:完善肠镜无消化道肿瘤。S组:经病理学检查确诊为CRC,经影像学检查(CT、MRI或PET-CT)确认未发生远处转移。DZ组:经病理学检查确诊为CRC,且通过影像学检查确认仅存在一个转移灶,转移部位主要为肝、肺等其中之一。Z组:经病理学检查确诊为CRC,且通过影像学评估确认存在两处或以上的远处转移灶。排除标准:①患有急性或慢性肠道炎症性疾病。②近3个月使用过抗生素、益生菌、免疫抑制剂、化疗药物或有放疗史。③合并心脏病、肾功能不全、慢性肝病等严重系统性疾病。④存在其他可能影响肠道菌群的疾病。⑤患有严重的心理或精神疾病,无法有效配合研究。

1.2 研究方法

1.2.1 资料收集 通过医院电子病历系统,收集研究对象的一般资料,包括年龄、性别、体重指数、吸烟史、饮酒史、肿瘤原发灶部位。不同组别研究对象一般资料比较,差异无统计学意义(P>0.05),具有可比性。本研究经医院伦理委员会审批同意(2021A-19),所有研究对象均签署知情同意书。

1.2.2 肠道菌群检测 采集研究对象自然排出的新鲜粪便样本5~10 g,放入无菌采样管中,用冰盒将其转运至实验室,于20 min内转入-80 ℃冰箱冻存待分析。所有标本标注均详细记录采样时间及信息,在标本进行检测前均经质控后去除不合格标本。提取肠道微生物的基因组DNA:QIAamp DNA Stool Mini Kit(Qiagen),使用16S rDNA进行扩增:V3-V4区扩增(引物338F/806R),并通过Illumina平台进行高通量测序。测序数据经过严格的质量控制和过滤处理,采用R软件和QIIME软件和生物信息学工具等进行操作性分类单元聚类,并计算各组样本的Alpha多样性和Beta多样性。利用宏基因组序列分析、线性判别分析效应大小分析和差异分析工具比较CRC不同转移状态患者及健康人群的肠道菌群组成,进一步使用随机森林等机器学习算法筛选出与CRC转移相关的特征菌群。

1.2.3 粪便代谢物检测 使用超高压液相色谱仪Shimadzu(Nexera X2 LC-30AD)及ACQUITY UPLC BEH Amide色谱柱(Waters公,型号:1.7 μm,2.1 mm× 100 mm column)进行色谱分析。使用Q Exactive Plus质谱仪(Thermo Scientific)进行质谱分析。通过UPLC-Q Exactive Plus系统(ESI+/ESI-模式)进行代谢组学分析。

1.3 统计学方法

将所得数据采用R4.0.1软件和SPSS(v.23.0)进行统计分析。分类变量采用百分比和频率表示,而连续变量采用平均值±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。将所得数据采用非参数检验(Kruskal-Wallis检验)及事后检验,多重比较校正(Benjamini-Hochberg校正)。采用Spearman统计方法计算明显差异代谢物与明显差异菌群之间的相关系数,并进行明显性检验。利用R以及cytoscape等工具对计算结果进行进一步的分析,探索菌群与代谢物之间的相互作用关系。检验水准α=0.05。

2 结 果

2.1 各组一般资料

C组、S组、DZ组、Z组4组人群在年龄、性别、吸烟史、饮酒史、体质指数(body mass index,BMI)、肿瘤原发部位等方面,经卡方检验,结果均差异无统计学意义(P>0.05),见表1。

2.2 肠道菌群差异分析

肠道菌群多样性比较:对各样本计算Chao1、Simpson、Shannon、Plelou_e、Observed_species、Faith_pd、Goods_coverage等,并使用Kruskal-Wallis秩和检验和dunn'test作为事后检验,得出P值,P值结果分别为0.29、0.11、0.062、0.056、0.096、0.61、0.78,均>0.05,提示各组肠道菌群的Alpha多样性指数没有统计学差异(图1)。通过对肠道菌群的距离矩阵和主坐标分析(PCoA分析),发现各样本之间的菌群组成存在一定的差异。距离矩阵显示,组间距离较远,说明肠道菌群组成差异较大,提示4组之间菌群结构存在差异,使用QIIME2软件进行差异分析,P值结果分别为0.017、0.001、0.019,均<0.05,说明了4组间肠道菌群在Beta多样性中差异有统计学意义,见图2A~C。

对4组肠道菌群的群落进行了分类学组成成分分析,结果提示门水平中占比最高的物种为厚壁菌门,纲水平占比最高的物种为梭菌纲,目水平占比最高的物种为梭菌目,科水平占比最高的物种为瘤胃球菌科,属水平占比最高的物种为拟杆菌属,见表2。

通过比较4组之间肠道菌群的双聚类热图的结果,本课题组发现了明显的差异,如在C组中大肠埃希菌-志贺菌属、难辨梭菌属、无害梭菌组的丰度明显升高。在S组中粪杆菌属、副拟杆菌属、巨单胞菌属等的丰度明显高于其他3组。在DZ组中毛螺菌科_NK4A136组、融合链球菌属、乳酸菌、假单胞菌属等丰度明显高于其他组。在Z组中丹毒菌科_UCG-003、梭杆菌属、克雷伯氏菌属等丰度明显高于其他3组,见图3。

通过MetagenomeSeq分析发现:C组与S组进行对比,差异的肠道菌群主要为厚壁菌门及变形菌门,厚壁菌门门水平下为乳酸杆菌目、梭菌目、丹毒丝菌目,变形菌门门水平下为β-变形菌目。C组与DZ组比较差异主要为拟杆菌门,拟杆菌目。C组与Z组之间差异物种为厚壁菌门,门水平下主要为梭菌目。DZ组与S组差异的菌群主要为厚壁菌门下乳酸杆菌目。DZ组与Z组之间的肠道菌群无差异性。

2.3 粪便标本非靶向代谢物差异分析

正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)是另一种有效率的判别分析统计方法。该方法利用最小偏二乘回归建立了代谢物表达与样品类别之间关系的模型,从而实现了样品类别的预测。OPLS-DA模型分析了不同组别之间代谢物的差异,OPLS-DA得分显示C组、S组、DZ组、Z组分布在不同的区域,结果表明,OPLS-DA模型拟合良好,具有良好的预测能力,提示组间代谢物存在明显差异,见图4。

为了深入探究4组在代谢层面的差异,对各组间的差异代谢物构建了详细的热图,并借助聚类分析方法,分别对样本与差异代谢物进行了聚类处理。结果显示,C组中的样本在聚类图上紧密聚集,表明该组样本的代谢物表达模式具有较高的相似性。相比之下,其他3个分组(S组、DZ组、Z组)的样本在聚类中则呈现出混合状态,暗示这3组样本的代谢物表达模式相对接近。进一步观察整体代谢物表达情况,发

表1 不同组别在一般资料的差异分析

一般资料		组别(%)				统计量	P值
		C组(n=10)	S组(n=14)	DZ组(n=15)	Z组(n=26)		
性别	男	6(60.00)	8(57.14)	9(60.00)	17(65.38)	0.302	0.960
	女	4(40.00)	6(42.86)	6(40.00)	9(34.62)		
吸烟	不吸烟	7(70.00)	9(64.29)	10(66.67)	17(65.38)	0.097	0.992
	吸烟	3(30.00)	5(35.71)	5(33.33)	9(34.62)		
饮酒	不饮酒	6(60.00)	8(57.14)	9(60.00)	16(61.54)	0.073	0.995
	饮酒	4(40.00)	6(42.86)	6(40.00)	10(38.46)		
年龄		62.20±9.81	60.71±14.74	58.20±9.36	55.00±11.70	1.253	0.298
BMI		24.62±1.08	22.62±3.12	23.05±3.15	21.82±3.26	2.215	0.095
肿瘤部位	结肠	-	8(57.14)	6(40.00)	10(38.46)	1.402	0.496
	直肠	-	6(42.86)	9(60.00)	16(61.54)		

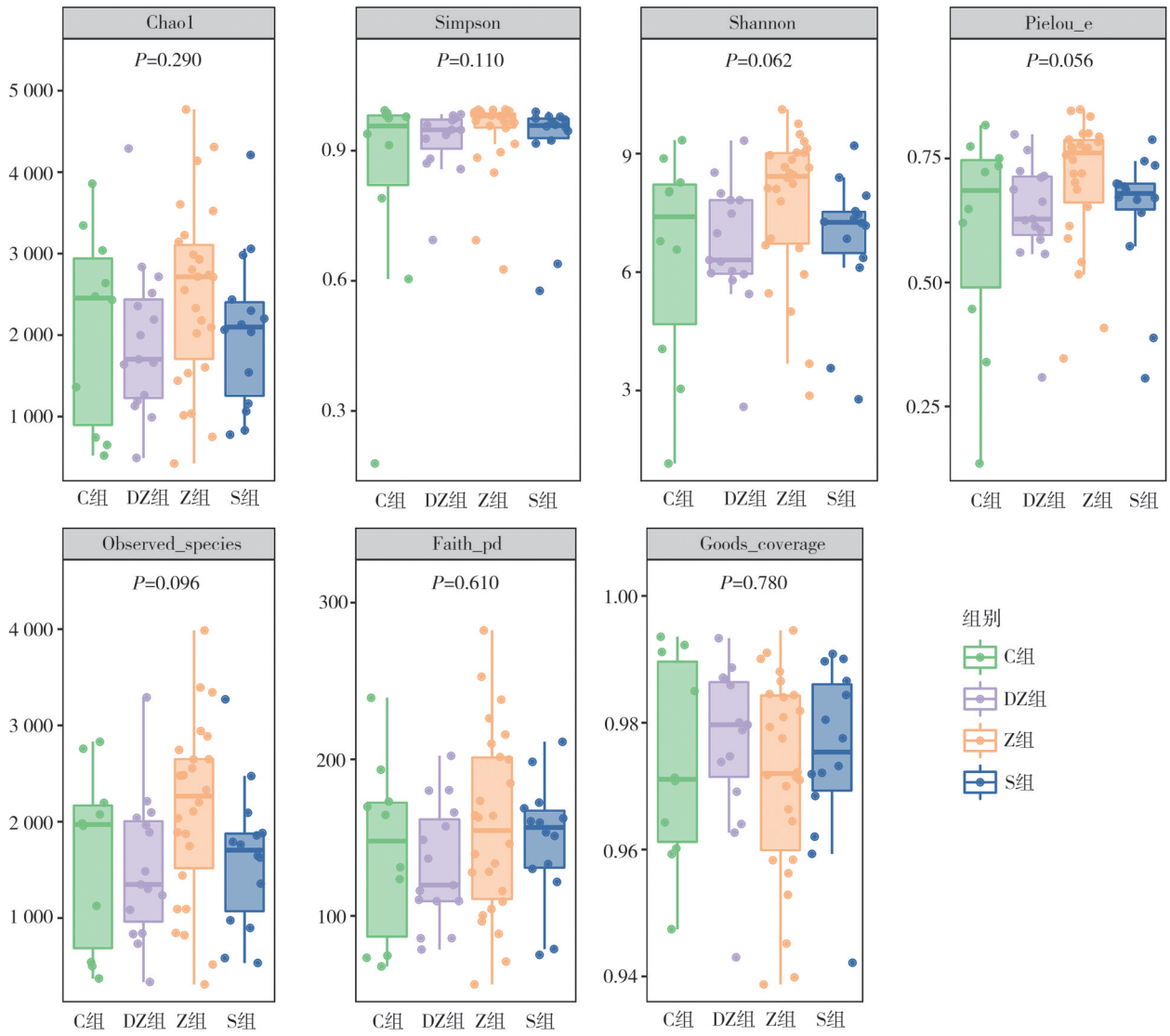
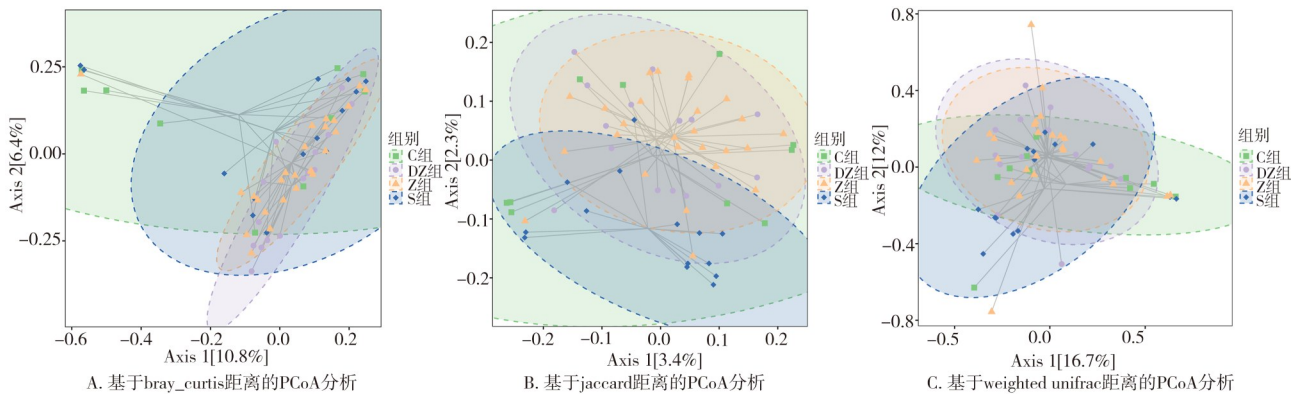


图1 Alpha多样性指数的分组箱线图



A. 基于bray_curtis距离的PCoA分析 B. 基于jaccard距离的PCoA分析 C. 基于weighted unifrac距离的PCoA分析

图2 四组间主坐标分析图

现大部分代谢物在C组中呈现高表达状态，而在DZ组、S组、Z组3组中仅有少量代谢物表达上调，特别是DZ组，其代谢物表达普遍偏低。其中C组哥伦比亚苷配基、酪氨酸、β-丙氨酸明显增加；S组哈帕唠呔D、对丙烯基苯甲醚、甘油三乙酸酯增加；DZ组章鱼碱、肌酸增加；Z组维生素B2、次黄嘌呤、亚麻酸增加；通过对差异代谢物聚类热图的细致观察，明确各组代谢物的表达模式特点，为后续研究提供了重要依据，见图5。

进一步对差异代谢的通路富集分析发现：ABC转运体、苯丙氨酸/精氨酸代谢、蛋白质的消化和吸收在各肠癌组（S

表2　各水平前10位物种组成成分名称

门	纲	目	科	属
厚壁菌门	梭菌纲	梭菌目	瘤胃球菌科	拟杆菌属
拟杆菌门	拟杆菌纲	拟杆菌目	毛螺菌科	粪杆菌属
变形菌门	γ-变形菌纲	肠杆菌目	拟杆菌科	埃希氏菌-志贺氏菌属
放线菌门	芽孢杆菌纲	乳杆菌目	肠杆菌科	双歧杆菌属
疣微菌门	放线菌纲	双歧杆菌目	双歧杆菌科	罕见小球菌属
梭杆菌门	负菌门纲	月形单胞菌目	乳杆菌科	乳杆菌属
互养菌门	丹毒丝菌纲	假单胞菌目	普雷沃氏菌科	阿加托杆菌属
蓝细菌门	疣微菌纲	丹毒丝菌目	韦荣氏菌科	布劳特氏菌属
螺旋体门	梭杆菌纲	疣微菌目	假单胞菌科	普雷沃氏菌属9
软壁菌门	红蝽菌纲	β-变形菌目	链球菌科	假单胞菌属

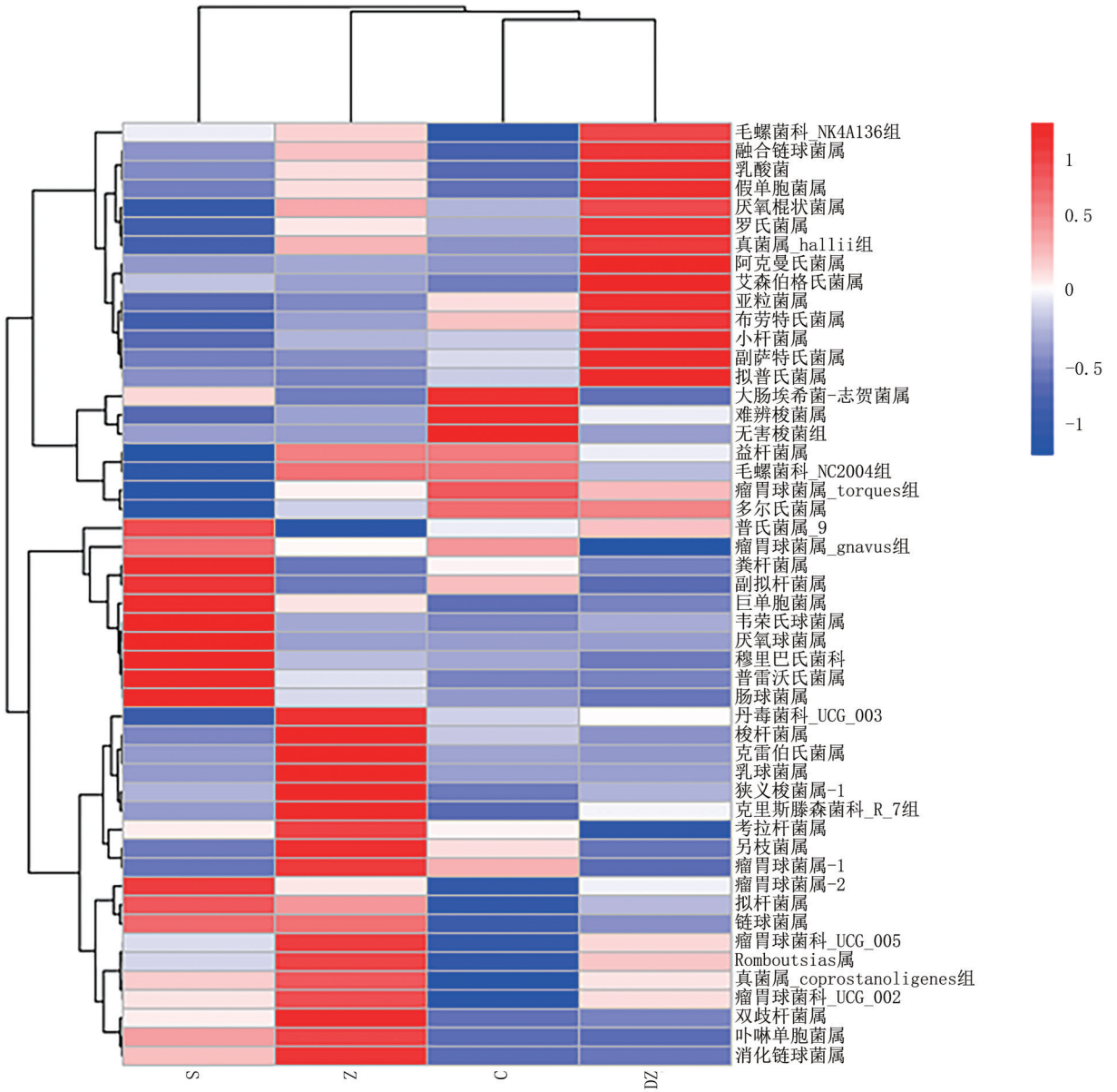


图3　双聚类的属水平物种组成热图

组、DZ组、Z组）中均高于健康组（C组）。在各肠癌组（S组、DZ组、Z组）中ABC转运体途径、氨基酸代谢、蛋白质的消化和吸收是共同的主要代谢途径，表明其与CRC的转移关联性强，见图6A~E。

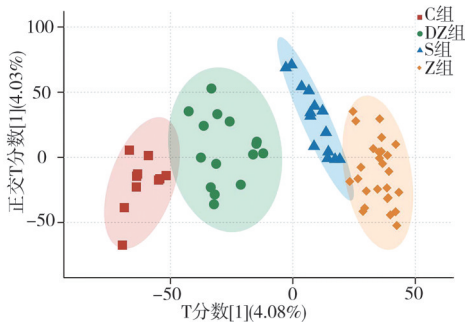


图4　四组间OPLS-DA评分图

2.4　肠道菌群与代谢产物的关系

为了深入理解菌群与代谢物之间的潜在联系，对前三十位的差异代谢产物及差异菌属进行Spearman相关分析，并使用聚类相关性热图展示结果。每一行表示1个代谢物，每一列表示1种菌属。上侧树权表示对菌属进行聚类的结果，左侧树权表示对代谢物进行聚类分析的结果，红色代表正相关性，蓝色则代表负相关性，***表示相关性检验P<0.01，*表示相关性检验0.05<P>0.01。结果发现某些代谢物与差异菌属表现出明显的相关性。其中毛螺菌属NK4A136组、韦荣氏球菌属、臭杆菌属及F0058与代谢物之间联系最密切。毛螺菌属NK4A136组和韦荣氏球菌属与丙氨酸-亮氨酸呈正相关（P<0.05）；毛螺菌属NK4A136组和F0058与亮肽素呈明显负相关；臭杆菌属和环三聚藜芦烯呈明显负相关，见图7。

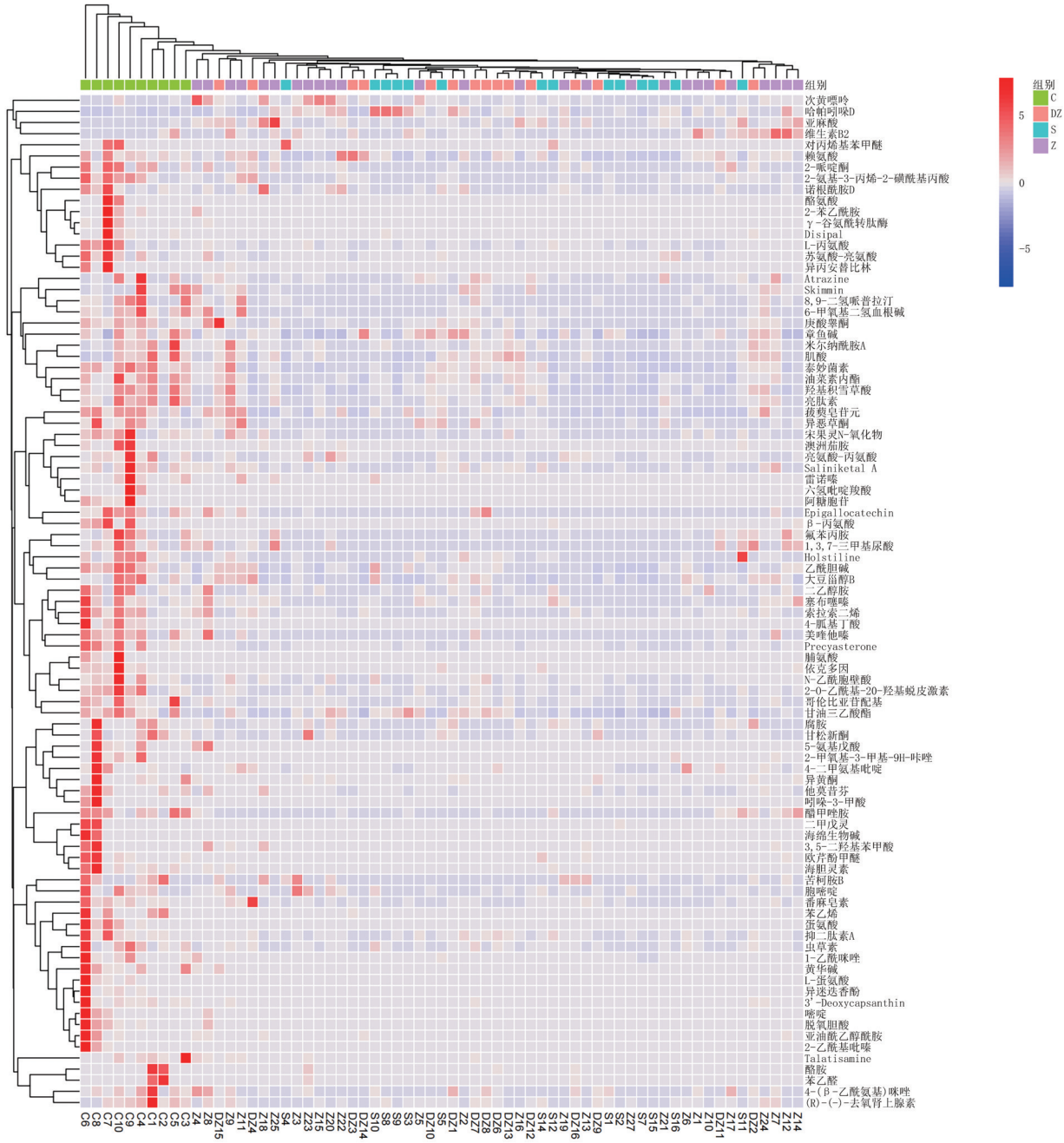
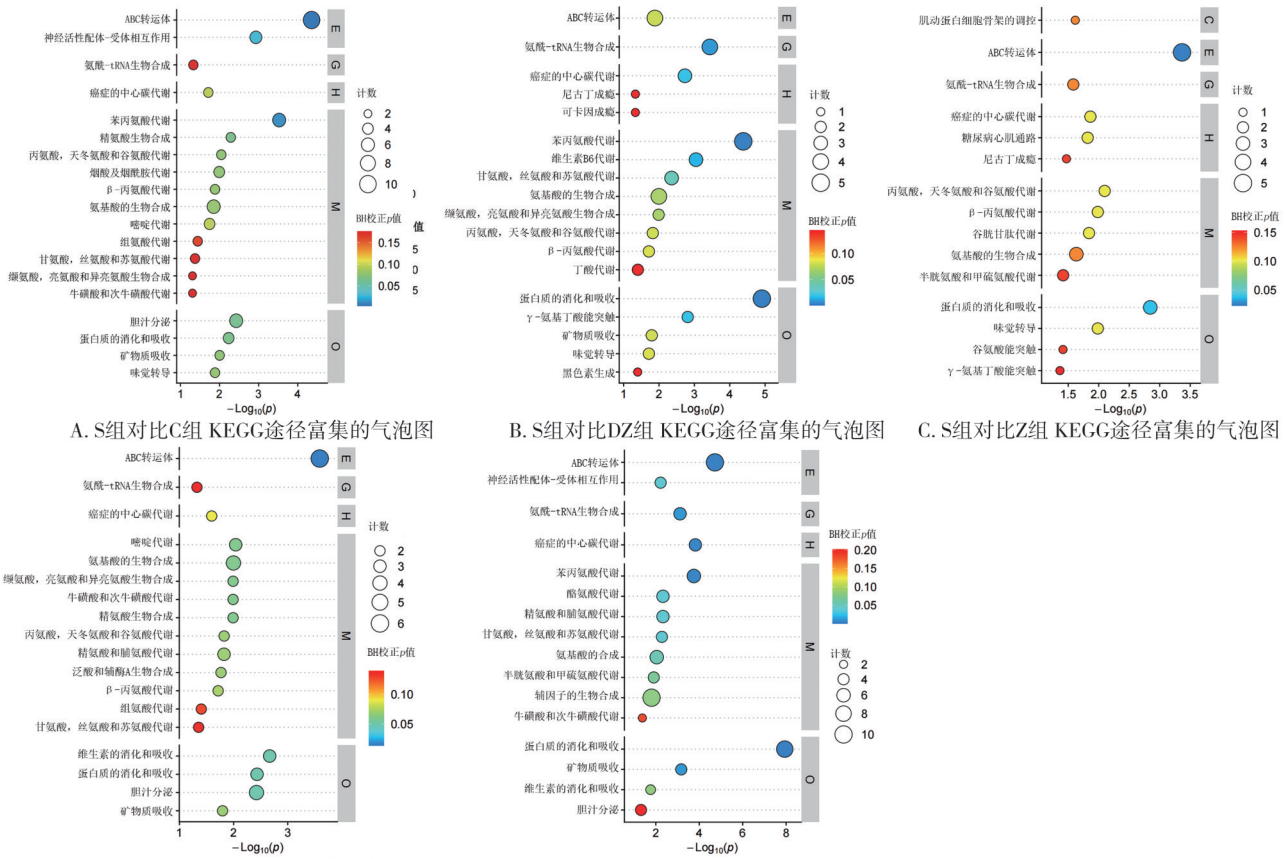


图5　四组间差异代谢物的列聚类热图



A. S组对比C组 KEGG途径富集的气泡图　B. S组对比DZ组 KEGG途径富集的气泡图　C. S组对比Z组 KEGG途径富集的气泡图

D. DZ组对比C组 KEGG途径富集的气泡图　E. Z组对比C组KEGG途径富集的气泡图

图6　四组间KEGG途径富集的气泡图

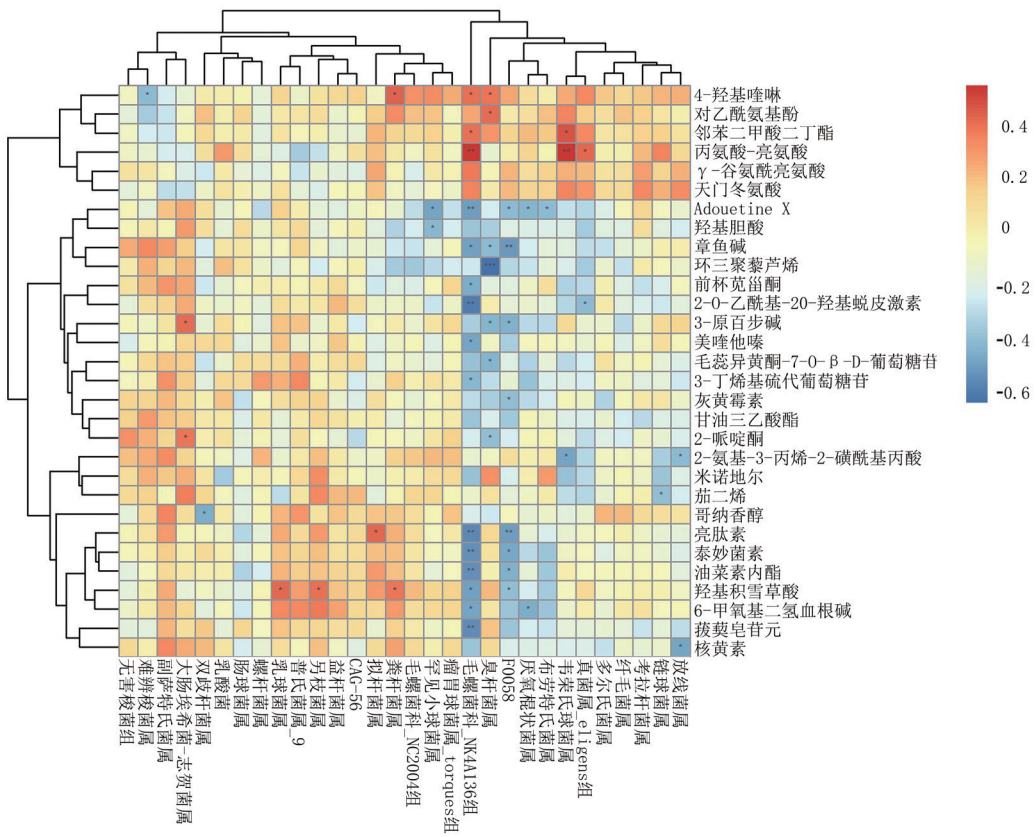


图 7　差异菌群与差异代谢产物相关性层次聚类热图

3 讨 论

人体内有大量的微生物，达到1 014种以上[11]。这些微生物群落以非常微妙的关系保持共存，影响免疫系统，并通过调节宿主的代谢功能和组织结构防止病原体的入侵，从而帮助维持肠道的平衡[12-14]。肠道微生物可诱发正常组织的慢性炎症，造成组织损伤，并产生氧化应激，从而出现不典型增生，最终导致肿瘤的发生[7,15]。既往的研究提示肠道菌群与CRC的发生、转移密切相关，本研究揭示了不同转移阶段CRC患者存在特异性肠道微生态特征。

通过对4组样本进行多样性分析，结果发现4组肠道菌群Alpha多样性差异无明显的统计学意义（P>0.05），但组间呈现下降趋势，Beta多样性分析提示组间具有差异性（P<0.05），可能由于本研究样本量较少，故未发现明显的Alpha多样性差异。

本研究发现组间出现了一些独特的双聚类，这些双聚类中的物种可能与CRC的生物学活性有关，同时研究通过结果提示C组、S组、DZ组以及Z组的肠道菌群存在明显差异组成的菌落，其中拟杆菌门通过异常胆汁酸代谢增加CRC患病风险，还可能参与肠道免疫功能促进CRC的发展；拟杆菌目通过破坏肠道微生态平衡参与CRC的发生发展，这也符合先前的研究结果。研究表明，CRC患者肠道菌群中厚壁菌门的相对丰度发生了改变，这可能与一些代谢产物相关如胆汁酸、丁酸等；而梭菌目中的一些细菌可能具有促炎特性，参与到CRC发生进程中，这与之前研究结论相符合[16]。乳酸菌目对肠道菌群具有保护作用，当丰度减少可导致菌群失调，间接影响CRC的发生。DZ组与Z组之间的肠道菌群无差异性，推测这与肠道菌群在CRC不同转移状态下可能受到的共同影响因素如饮食、生活方式等有关，也有可能是样本数量的误差，掩盖了多发与单发转移之间的差异。增大样本量后，可能会出现不同的表现。此外这也进一步说明，CRC单发转移或多发转移的机制比较复杂，可能意味肠道菌群不能作为区分多发转移或单发转移的指标，需要寻找其他更有效的生物标志物。

人体的代谢能力主要由人体和肠道菌群共同影响发挥作用。这些代谢物，如胆汁酸、脂肪酸、氨基酸和维生素等通过与宿主特定的细胞膜或核受体结合来调节宿主的肠道代谢平衡[17-19]。肠道细菌还可以分解多糖、纤维素等无法被人体小肠分解吸收的物质，产生可以被吸收进入机体循环的小分子有机物，以实现与宿主的接触，进一步调控人体的代谢[20]。代谢学是1项侧重于确定生物样本中宿主的代谢基础的研究，目的就是发现代谢过程中发生的某些变化形成的疾病机制。越来越多的证据表明，CRC的发生及转移受肠道微生物群及其代谢产物的影响[21-25]。本研究通过粪便非靶向代谢组学分析4组之间的代谢物发现：4组之间代谢物存在明显差异，C组以抗氧化、能量代谢相关物质高表达为特征，而S组、DZ组、Z组逐渐出现缺氧代谢（如章鱼碱）、炎症相关代谢物（如亚麻酸）和DNA损伤标志物（次黄嘌呤）；DZ组、Z组中厌氧代谢产物（章鱼碱）和能量代谢增强（肌酸）明显，提示转移灶对微环境的适应性改变。哈帕吲哚D（S组高表达）、章鱼碱（DZ组、Z组高表达）和次黄嘌呤（Z组高表达）可能作为区分不同阶段的候选标志物。

肠道微生物组与代谢组的相关性分析发现，某些代谢物如丙氨酸-亮氨酸或细菌属（如毛螺菌属NK4A136、韦荣氏球菌属）与多个其他变量有明显相关性，可能在整个肠道生态系统中起着关键作用。既往研究提示毛螺菌属NK4A136组的丰度在CRC患者中明显增加，其可能通过短链脂肪酸（如丁酸盐）的代谢调控宿主氨基酸代谢[26]。丁酸盐可通过增强肠上皮细胞能量代谢，促进氨基酸的吸收与合成，尤其是丙氨酸和亮氨酸。既往关于CRC患者的代谢组学分析中，韦荣氏球菌属的丰度变化与短链脂肪酸（如丙酸）水平相关，可能通过微生物-宿主代谢互作影响氨基酸代谢通路（如可能促进丙氨酸的生成）[27]这可能暗示了这些代谢物和微生物之间存在潜在的关联，从而共同促进CRC的发生、发展及转移，但具体机制尚不明确，需要更多的研究进一步证实。

综上所述，肠道菌群与代谢物在不同转移状态下的CRC患者中存在差异，提示肠道菌群及其代谢物可能与CRC的发生、发展相关，有利于对CRC的进一步研究。二者联合检测有望成为精准诊疗的新型生物标志物组合，靶向菌群-代谢物轴的干预策略（如益生菌联合代谢调节剂）可能成为极具前景的治疗方向。

参 考 文 献

[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] Kim HJ, Hong I, Roh S, et al. High expression of LY6E is an independent prognostic factor of colorectal cancer patients[J]. Oncol Rep, 2023, 49(4): 80.

[3] Buccafusca G, Proserpio I, Tralongo AC, et al. Early colorectal cancer: diagnosis, treatment and survivorship care[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2019, 136: 20-30.

[4] Colombo F, Illescas O, Noci S, et al. Gut microbiota composition in colorectal cancer patients is genetically regulated[J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 11424.

[5] Yuan DP, Tao Y, Wang HY, et al. A comprehensive analysis of the microbiota composition and host driver gene mutations in colorectal cancer[J]. Invest New Drugs, 2022, 40(5): 884-894.

[6] Hoang T, Kim MJ, Park JW, et al. Nutrition-wide association study of microbiome diversity and composition in colorectal cancer patients[J]. BMC Cancer, 2022, 22(1): 656.

[7] Cheng YW, Ling ZX, Li LJ. The intestinal microbiota and colorectal cancer[J]. Front Immunol, 2020, 11: 615056.

[8] Lee JWJ, Plichta DR, Asher S, et al. Association of distinct microbial signatures with premalignant colorectal adenomas[J]. Cell Host Microbe, 2023, 31(5): 827-838. e3.

[9] Zepeda-Rivera M, Minot SS, Bouzek H, et al. A distinct *Fusobacterium nucleatum* clade dominates the colorectal cancer niche[J]. Nature, 2024, 628(8007): 424-432.

[10] Yu SY, Shao XY, Zhou YQ, et al. Bidirectional regulation of bile acid on colorectal cancer through bile acid-gut microbiota interaction [J]. Am J Transl Res, 2021, 13(10): 10994-11003.

[11] Sorbara MT, Pamer EG. Microbiome-based therapeutics[J]. Nat Rev Microbiol, 2022, 20(6): 365-380.

[12] Yang JP, Yang H, Li YN. The triple interactions between gut microbiota, mycobiota and host immunity[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2023, 63(33): 11604-11624.

[13] Lee JY, Tsolis RM, Bäumler AJ. The microbiome and gut homeostasis[J]. Science, 2022, 377(6601): eabp9960.

[14] Mao QJ, Pan HQ, Zhang YY, et al. GelNB molecular coating as a biophysical barrier to isolate intestinal irritating metabolites and regulate intestinal microbial homeostasis in the treatment of inflammatory bowel disease[J]. Bioact Mater, 2022, 19: 251-267.

[15] Solé C, Guilly S, Da Silva K, et al. Alterations in gut microbiome in cirrhosis as assessed by quantitative metagenomics: relationship with acute-on-chronic liver failure and prognosis[J]. Gastroenterology, 2021, 160(1): 206-218.

[16] Zmora N, Suez J, Elinav E. You are what you eat: diet, health and the gut microbiota[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019, 16(1): 35-56.

[17] Zhu SL, Zhang JW, Zhu DD, et al. Adipose tissue plays a major role in retinoic acid-mediated metabolic homoeostasis[J]. Adipocyte, 2022, 11(1): 47-55.

[18] Chen GJ, Wang MJ, Zeng ZQ, et al. Fuzhuan brick tea polysaccharides serve as a promising candidate for remodeling the gut microbiota from colitis subjects *in vitro*: Fermentation characteristic and anti-inflammatory activity[J]. Food Chem, 2022, 391: 133203.

[19] Zhang LL, Wu JL, Xu P, et al. Soy protein degradation drives diversity of amino-containing compounds *via Bacillus subtilis* natto fermentation[J]. Food Chem, 2022, 388: 133034.

[20] Xia YL, Xu XY, Guo YZ, et al. Mesenchymal stromal cells overexpressing farnesoid X receptor exert cardioprotective effects against acute ischemic heart injury by binding endogenous bile acids[J]. Adv Sci (Weinh), 2022, 9(24): e2200431.

[21] Gonzalez-Riano C, Garcia A, Barbas C. Metabolomics studies in brain tissue: A review[J]. J Pharm Biomed Anal, 2016, 130: 141-168.

[22] Gao RY, Wu CY, Zhu YF, et al. Integrated analysis of colorectal cancer reveals cross-cohort gut microbial signatures and associated serum metabolites[J]. Gastroenterology, 2022, 163(4): 1024-1037.

[23] Chen F, Dai XD, Zhou CC, et al. Integrated analysis of the faecal metagenome and serum metabolome reveals the role of gut microbiome-associated metabolites in the detection of colorectal cancer and adenoma [J]. Gut, 2022, 71(7): 1315-1325.

[24] 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.

[25] Chen SJ, Zhang L, Li MJ, et al. *Fusobacterium nucleatum* reduces METTL3-mediated m^6A modification and contributes to colorectal cancer metastasis[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 1248.

[26] 王伟杰, 赵晓芬, 马 硕, 等. 基于16S rRNA和非靶向代谢组测序分析结直肠癌患者肠道菌群及代谢物的变化[J]. 中国微生态学杂志, 2024, 36(3): 307-312, 326.

Wang WJ, Zhao XF, Ma S, et al. Changes in gut microbiota and metabolites in colorectal cancer patients based on 16S rRNA and non-targeted metabolome sequencing[J]. Chin J Microecol, 2024, 36(3): 307-312, 326.

[27] Zhang XS, Yu D, Wu D, et al. Tissue-resident Lachnospiraceae family bacteria protect against colorectal carcinogenesis by promoting tumor immune surveillance[J]. Cell Host Microbe, 2023, 31(3): 418-432.

（责任编辑：李青颖）