

肠道菌群调控肠外肿瘤发生及进展的免疫学机制

丁桂清, 程晓东

(上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院 临床免疫研究所, 上海 200437)

摘要: 肠道菌群失调存在于各类癌症患者机体, 包括黑色素瘤、乳腺癌、脑胶质瘤等肠外实体肿瘤患者。失调的肠道菌群通过多种途径诱导免疫抑制性肿瘤微环境的形成, 导致肿瘤免疫逃逸的发生, 并可减弱机体对免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitor, ICI) 治疗的反应。调节肠道菌群可增强免疫杀伤细胞的功能, 抑制肿瘤进展。该文总结了肠道菌群对肠外实体肿瘤进展的调控作用, 以及其中涉及的免疫学机制, 以期为进一步的基础研究和临床应用提供思路。

关键词: 肠道菌群; 肠外实体肿瘤; 免疫检查点; 肿瘤免疫逃逸; 免疫治疗

中图分类号: R392.1

文献标志码: A

文献编号: 1001-2478(2024)02-0170-05

恶性肿瘤严重危害人类健康, 居高不下的发病率和死亡率日益加重社会负担。近年来, 肠道菌群被认为是影响恶性肿瘤进展的重要因素。机体大量菌群定植于肠腔之中, 肠道菌群及其代谢产物可作为肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 的一部分直接参与消化道恶性肿瘤 (食管癌、胃癌、结直肠癌等) 的发生、发展, 其机制主要包括诱发局部炎症, 促使抑癌基因失活并激活癌基因, 触发胃肠道局部乃至全身的免疫失调等^[1]。许多肿瘤 (乳腺癌、黑色素瘤等) 虽与肠道菌群没有直接接触, 但其进展也受到肠道菌群的调控^[2-3]。肠道菌群调节宿主免疫功能是其参与调控肠外肿瘤进展的主要潜在机制, 调节肠道菌群也被认为是抑制肠外肿瘤进展, 提高免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitor, ICI) 治疗效果的有效措施。但目前针对肠道菌群调控肠外肿瘤的研究较为分散, 尚未进行系统全面的总结。因此, 本文从免疫学角度出发, 总结了肠道菌群对肠外肿瘤进展的调控作用, 并进一步介绍了通过调节肠道菌群治疗肿瘤的方法, 从而促进基础研究的进一步深入开展, 为临床肿瘤治疗提供新思路。

1 肠道菌群对肠外肿瘤进展的调控作用

近年来, 肠道菌群对癌症患者免疫系统的调节作用被逐步报道, 一项在黑色素瘤患者中开展的临

床研究发现, 在粪杆菌属高丰度患者的外周血中 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞含量更高, 而在拟杆菌门高丰度患者的外周血中 Treg 及骨髓来源的抑制性细胞 (myeloid-derived suppressor cell, MDSC) 的数量更多^[4]。可见, 肠道菌群可影响宿主体内的免疫细胞组成, 伴随免疫系统功能的改变, 这可能是其影响肿瘤进展的原因。

1.1 肠道菌群对肠外肿瘤的抑制作用 APC 如 DC 和巨噬细胞 (macrophage, M ϕ) 是连接固有免疫反应和适应性免疫的桥梁。肠道菌群对 APC 的激活是抑制肿瘤免疫逃逸的一个重要途径。当使用抗生素时, 荷瘤小鼠粪便中的细菌含量显著减少, 同时血清 LPS 水平降低, 伴随着肿瘤组织中 DC、M ϕ 浸润减少以及共刺激分子如 CD80、CD86 和 MHC II 表达水平降低, 口服补充 LPS 可以逆转这种现象, 促进荷瘤小鼠回肠中 APC 相关标志物的表达, 增强 APC 介导的 Th1 和 CD8⁺ T 细胞抗肿瘤作用, 抑制肿瘤进展^[5]。双歧杆菌可以经肠道进入宿主体内, 并优先定植于肿瘤部位, 以 I 型 IFN 依赖的方式增加 DC 的交叉激活效应, 促进 CD8⁺ T 细胞 IFN- γ 的分泌, 并增强免疫治疗的效果^[6]。粪菌移植是用于分析肠道菌群抗肿瘤作用的常用方法, 向黑色素瘤小鼠肠道植入以副萨特氏菌、拟杆菌和梭菌为优势菌的小鼠粪菌, 可以促进趋化因子 (CCL4 和 CCL8)、炎症相关基因 (TLR3 和 TLR7) 及抗原提呈相关基因 (CD40、STAT1 和 ICOS) 的表达, 诱导肿瘤组织中 DC 和 CD8⁺ T 细胞的浸润及激活, 从而抑制黑色素瘤小鼠肿瘤生长^[7]。

MDSC 是 TME 中介导肿瘤免疫逃逸的主要细胞, 与肿瘤患者的不良预后密切相关^[8]。而肠道菌群对 MDSC 具有负性调控作用, 进而改善免疫抑

收稿日期: 2022-09-15

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81673669, 81973543); 上海中医药大学科创项目 (YYKC-2021-01-154); 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院面上特别基金项目 (2021yygm02)

作者简介: 丁桂清 (1992—), 女, 博士, 主要从事中医药调控肿瘤免疫的相关研究

通信作者: 程晓东 (E-mail: xdcheng_8@yeah.net)

制性 TME, 控制肿瘤进展。乳酸杆菌等益生菌可以通过抑制 Th2 等分泌 IL-4 和 IL-13, 进一步减少 MDSC 精氨酸酶 1(arginase 1, Arg-1) 的表达, 减轻 MDSC 对 T 细胞活性的抑制^[9-10]; 普氏菌对精氨酸的利用率较低, 伴随着较低的 NO 转化率, 进而抑制 MDSC 扩增而提高 T 细胞的活性; 一些菌群的代谢物(如维生素、抗氧化剂和多酚)可清除活性氧类(reactive oxygen species, ROS), 降低 MDSC 对 T 细胞活性的抑制, 促进 T 细胞的杀伤效应, 抑制肿瘤进展^[11]。

1.2 肠道菌群对肠外肿瘤的促进作用 慢性炎症是表征肿瘤免疫微环境的核心要素之一。TME 中存在的大量炎症细胞以及细胞因子可以抑制抗肿瘤反应, 导致肿瘤免疫逃逸的发生。在黑色素瘤小鼠中, 高脂饮食可导致肠道菌群失调, 表现为梭状芽孢杆菌和脱硫弧菌增多, 可激活巨噬细胞中 HMGB1/NF- κ B 信号, 促使其分泌趋化因子 CCL2 和 TNF- α , 诱导 MDSC 的肿瘤浸润, 并进一步促进肿瘤转移^[12]。在肉瘤中, TLR5 对菌群的识别驱动了炎性因子 IL-6 的全身性表达上调, 促进 MDSC 动员, 从而加速肿瘤生长; 而在卵巢癌等对 IL-6 反应较差的肿瘤中, 肠道菌群可通过促进 IL-17A 的分泌促进肿瘤进展^[13]。

Th17 及其细胞因子 IL-17A 可促进炎性 TME 的形成, 具有促肿瘤作用, IL-17A 中和抗体可抑制胰腺癌小鼠的肿瘤生长^[14]。Sethi 等^[14]发现广谱抗生素混合物(万古霉素、新霉素、甲硝唑、氨苄青霉素和两性霉素 B)具有抗肿瘤作用, 抗生素的使用降低了小鼠肠道中拟杆菌门和厚壁菌门的丰度, 增加了变形菌门和柔壁菌门的定植, 调节了荷瘤小鼠 TME 中促肿瘤和抗肿瘤 T 细胞之间的平衡, 其中产生 IL-17A 的免疫细胞(IL-17A $^+$ CD3 $^+$)含量减少, 并且当广谱抗生素混合物与 IL-17A 中抗体合用时, 其抗肿瘤作用未见进一步增加, 说明它们通过同种途径发挥抗肿瘤作用, 胰腺癌的进展与肠道微生物促进 IL-17A 的分泌有关。

2 肠道菌群对肿瘤免疫治疗的影响

多种免疫细胞形成一个复杂的微环境综合调节肿瘤进展, PD-1 及 CTLA-4 与相应配体的结合会使免疫细胞杀伤功能下调, 导致肿瘤免疫逃逸的发生。因此, ICI 被认为是肿瘤免疫治疗的有效药物, 但在临幊上许多患者对 ICI 治疗表现为原发性或继发性耐药^[15]。在诸多因素之中, 肠道菌群是影响其治疗效果的一个重要原因。

2.1 抗生素对肿瘤免疫治疗的影响

抗生素可以

大量清除肠道中的细菌, 破坏肠道菌群结构和组成, 减少肿瘤组织中 APC 介导的 CD8 $^+$ T 细胞激活, 与 ICI 治疗效果减弱有关。在动物研究中, 抗生素干预可加速黑色素瘤^[5]、乳腺癌^[16]等多种肠外实体肿瘤的进展。在临幊上, 抗生素是恶性肿瘤患者用于预防和控制感染的常用药, 包括在手术前和免疫功能受损期间。多个回顾性研究发现, 抗生素治疗可能对恶性肿瘤患者预后产生不利影响, 导致更短的无进展生存期(progression free survival, PFS)和总生存期(overall survival, OS)^[17-18]。但在何种情况下使用抗生素对患者最为不利目前尚未有统一定论。Pinato 等^[19]认为在 ICI 治疗前使用抗生素而不是和 ICI 同时使用与患者的 OS 缩短有关。Tinsley 等^[18]则强调了累积使用抗生素(多次或延长疗程)较单一疗程抗生素治疗对患者预后更为不利。因此, 我们必须充分了解肠道菌群对肿瘤进展及免疫治疗的影响, 谨慎决定抗生素的临床应用。

2.2 肠道菌群组成和丰度对免疫治疗效果的预测作用 如前所述, 不同的肠道菌群组成和丰度在一定程度上预示着宿主的免疫系统功能强弱, 可影响 ICI 的治疗效果, 因此, 基线肠道菌群组成(即 ICI 治疗前的肠道菌群组成)与 ICI 的治疗效果之间存在一定相关性。ICI 在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者的治疗中应用较为广泛, Song 等^[20]对晚期 NSCLC 患者进行研究, 发现肠道菌群 β 多样性与抗 PD-1 免疫治疗反应密切相关, 并且副杆菌属和甲烷杆菌属在患者肠道中的富集与免疫治疗后较长的 PFS 有关。在晚期胸腺癌患者的免疫治疗中, Yin 等^[21]发现肠道共生菌(AKK 菌、肠球菌、肠杆菌、肉杆菌、梭菌)的丰度是患者抗 PD-1 治疗的独立预测因子。McCulloch 等^[22]发现基线菌群组成与治疗开始后约 1 年的临床结果最相关, 与有利反应相关的细菌仅限于放线菌门以及厚壁菌门的拉氏菌科和瘤胃菌科。目前, 在不同的研究中呈现出的与临床获益相关的菌群存在差异, 在今后的研究中还需继续寻找其中的共性, 确定可用于预测疗效的生物标志物将有利于更好地推进 ICI 治疗。

3 调节肠道菌群发挥抗肿瘤作用

肠道菌群对肿瘤进展及免疫治疗效果的重要影响使众多学者开始考虑从调节肠道菌群入手治疗癌症。菌群调节类药物和粪菌提取物可以调节宿主体内免疫细胞组成, 改变肿瘤免疫微环境, 可有效抑制肿瘤进展(图 1), 成为了目前被广泛关注的两大研究方向。

3.1 天然药物调节肠道菌群

各种天然多糖对肠

道菌群的调节是其治疗肿瘤的潜在机制。Xian 等^[23]研究发现灵芝多糖对黑色素瘤小鼠肠道菌群的调节与其抑制肿瘤转移有关。本研究团队发现黄芪多糖可下调黑色素瘤小鼠肠道中假长链双歧杆菌的丰度,上调乳酸杆菌、约氏乳酸杆菌的丰度,从而改善免疫抑制性 TME,促进 CD8⁺ T 细胞免疫杀伤功能的发挥^[24]。人参多糖可以通过调节微生物代谢产物的含量增强抗 PD-1 抗体对 NSCLC 的治疗效果^[25]。菊粉是从菊苣根和菊芋中提取得到的一种多糖膳食纤维, Han 等^[26]发现口服菊粉凝胶可以在结肠癌、黑色素瘤等多种肿瘤模型小鼠中提高抗 PD-1 抗体治疗的效果, 菊粉联合抗 PD-1 抗体治疗增加了结肠癌细胞皮下移植瘤小鼠肠道中阿克曼氏菌、乳酸杆菌和罗氏菌等细菌的相对丰度, 提高了粪便中短链脂肪酸水平, 增强了 CD8⁺ T 细胞的肿瘤浸润及抗肿瘤反应, 并可诱导全身记忆性 T 细胞反应, 使小鼠免受肿瘤细胞的再次攻击。

皂苷类物质是许多中药的主要有效成分之一, 也可调节肠道菌群的组成。研究发现, 薯蓣皂苷元干预后, 黑色素瘤小鼠肠道中乳酸杆菌和萨特氏菌的丰度上调, 而拟杆菌的丰度下调; 抗生素清除肠道微生物会减弱薯蓣皂苷元的抗肿瘤效果, 薯蓣皂苷元依赖于完整的肠道菌群结构, 增加肿瘤组织中 T 细胞的浸润和 IFN- γ 的表达, 促进抗肿瘤免疫反应的发生^[27]。人参皂苷可促进阿克曼氏菌、双歧杆菌、乳酸杆菌等肠道益生菌的繁殖, 促进 IFN- γ 、IL-2 等抗肿瘤细胞因子的表达, 增强环磷酰胺的抗肿瘤效率^[28]。

高盐饮食被认为是一种有效的免疫调节

剂^[29]。Rizvi 等^[30]研究发现在黑色素瘤小鼠中, 肠道菌群是高盐饮食发挥免疫调节、抗肿瘤作用的中间媒介。高盐饮食增加了肠道中双歧杆菌的丰度及肠道通透性, 促进双歧杆菌在黑色素瘤小鼠肿瘤组织中的定植, 进而增强 NK 细胞分泌 IFN- γ 和穿孔素的能力, 增强抗 PD-1 抗体的治疗效果, 促进肿瘤消退。从浆果中提取的天然多酚同样可以增强抗 PD-1 抗体功效, 其干预可以通过作用于瘤胃球菌, 上调 TME 中 CD8⁺ T 细胞与 Treg 的比率, 即增加免疫杀伤细胞的相对含量, 从而发挥抗肿瘤作用^[31]。

3.2 粪菌移植 (fecal microbiota transplantation, FMT) 调节肠道菌群 FMT 是指提取宿主的肠道菌群并转移到另一个宿主体内, 该方法可帮助宿主重建肠道菌群结构, 调节肿瘤免疫, 提高免疫治疗效果。在针对复发性艰难梭菌感染的治疗中, FMT 是指导疗法^[32]。之后, FMT 也被用于治疗恶性肿瘤^[33-34]。2015 年, Vétizou 等^[35]首次提出肠道菌群与 ICI 治疗之间的关联, 实验结果显示, 类杆菌属的特定物种(脆弱杆菌和条斑杆菌)可以诱导 CTLA-4 阻滞剂的免疫刺激作用。同时, Sivan 等^[36]发现黑色素瘤小鼠通过移植其他饲养环境来源的小鼠粪便可以增强对抗 PD-L1 抗体治疗的敏感性。在临幊上, FMT 研究也逐步开展起来。Baruch 等^[37]收集对免疫治疗有反应的转移性黑色素瘤患者粪便, 制备粪菌胶囊, 发现其具有很好的控制肿瘤效果。Davar 等^[33]评估了 FMT 联合抗 PD-1 抗体治疗难治性黑色素瘤患者的安全性和有效性, 结果显示, 15 例患者中有 6 例获得临床疗效。



注: 通过 FMT 或给予药物调节荷瘤小鼠肠道微生物的组成, 进一步改变宿主体内的免疫细胞组成, 使免疫抑制性细胞减少, 而免疫杀伤性细胞增多, 抑制肿瘤免疫逃逸的发生, 发挥抗肿瘤作用。TAM: 肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage)。

图 1 肠道菌群对肿瘤免疫微环境的调控作用

4 结语

恶性肿瘤患者体内普遍存在肠道菌群失调现象。与肠道菌群直接参与组成胃肠道恶性肿瘤的

TME 相比, 肠道菌群对肠外肿瘤的调控机制更为复杂。有研究报道双歧杆菌等肠道细菌可经血液循环进入肠外肿瘤灶, 但更多的研究认为免疫调节是肠道菌群调控肠外肿瘤的主要潜在机制。失调的肠道

菌群可诱导免疫抑制性TME的形成, 导致肿瘤免疫逃逸的发生, 最终促进肿瘤生长。近年来, 菌群调节药物及FMT治疗取得的进展也证明了调节肠道菌群是治疗肠外实体肿瘤、提高ICI治疗效果的有效方法, 但是这些研究还需要进一步的验证并进行安全性评估。综上所述, 从调节肠道菌群角度出发, 通过持续的动物实验和临床研究, 挖掘其中的调控机制, 有望找到治疗肿瘤更有效的方法。

参考文献

- [1] Meng CT, Bai CM, Brown TD, *et al*. Human gut microbiota and gastrointestinal cancer[J]. *Genom Proteom Bioinform*, 2018, 16(1): 33-49.
- [2] Makaranka S, Scutt F, Frixou M, *et al*. The gut microbiome and melanoma: a review[J]. *Exp Dermatol*, 2022, 31(9): 1292-1301.
- [3] Yu WH, Xie ZY, Chen K, *et al*. Variations in the gut microbiota in breast cancer occurrence and bone metastasis[J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 894283.
- [4] Gopalakrishnan V, Spencer CN, Nezi L, *et al*. Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients[J]. *Science*, 2018, 359(6371): 97-103.
- [5] Xu CM, Ruan BJ, Jiang YH, *et al*. Antibiotics-induced gut microbiota dysbiosis promotes tumor initiation via affecting APC-Th1 development in mice[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 488(2): 418-424.
- [6] Shi YY, Zheng WX, Yang KT, *et al*. Intratumoral accumulation of gut microbiota facilitates CD47-based immunotherapy via STING signaling [J]. *J Exp Med*, 2020, 217(5): e20192282.
- [7] Li Y, Elmén L, Segota I, *et al*. Prebiotic-induced anti-tumor immunity attenuates tumor growth[J]. *Cell Rep*, 2020, 30(6): 1753-1766; e6.
- [8] Ma TM, Renz BW, Ilmer M, *et al*. Myeloid-derived suppressor cells in solid tumors[J]. *Cells*, 2022, 11(2): 310.
- [9] Torii A, Torii S, Fujiwara S, *et al*. Lactobacillus Acidophilus strain L-92 regulates the production of Th1 cytokine as well as Th2 cytokines[J]. *Allergol Int*, 2007, 56(3): 293-301.
- [10] Dehhaghi M, Kazemi Shariat Panahi H, Heng B, *et al*. The gut microbiota, kynurenine pathway, and immune system interaction in the development of brain cancer[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 562812.
- [11] Teng NMY, Price CA, McKee AM, *et al*. Exploring the impact of gut microbiota and diet on breast cancer risk and progression[J]. *Int J Cancer*, 2021, 149(3): 494-504.
- [12] Hu H, Cui LY, Lu JC, *et al*. Intestinal microbiota regulates anti-tumor effect of disulfiram combined with Cu²⁺ in a mice model[J]. *Cancer Med*, 2020, 9(18): 6791-6801.
- [13] Rutkowski MR, Stephen TL, Svoronos N, *et al*. Microbially driven TLR5-dependent signaling governs distal malignant progression through tumor-promoting inflammation[J]. *Cancer Cell*, 2015, 27(1): 27-40.
- [14] Sethi V, Kurtom S, Tarique M, *et al*. Gut microbiota promotes tumor growth in mice by modulating immune response [J]. *Gastroenterology*, 2018, 155(1): 33-37; e6.
- [15] Bagchi S, Yuan R, Engleman EG. Immune checkpoint inhibitors for the treatment of cancer: clinical impact and mechanisms of response and resistance[J]. *Annu Rev Pathol Mech Dis*, 2021, 16: 223-249.
- [16] McKee AM, Kirkup BM, Madgwick M, *et al*. Antibiotic-induced disturbances of the gut microbiota result in accelerated breast tumor growth[J]. *iScience*, 2021, 24(9): 103012.
- [17] Zhou JX, Huang GW, Wong WC, *et al*. The impact of antibiotic use on clinical features and survival outcomes of cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 968729.
- [18] Tinsley N, Zhou C, Tan G, *et al*. Cumulative antibiotic use significantly decreases efficacy of checkpoint inhibitors in patients with advanced cancer[J]. *Oncologist*, 2020, 25(1): 55-63.
- [19] Pinato DJ, Howlett S, Ottaviani D, *et al*. Association of prior antibiotic treatment with survival and response to immune checkpoint inhibitor therapy in patients with cancer[J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5(12): 1774-1778.
- [20] Song P, Yang DL, Wang HP, *et al*. Relationship between intestinal flora structure and metabolite analysis and immunotherapy efficacy in Chinese NSCLC patients[J]. *Thorac Cancer*, 2020, 11(6): 1621-1632.
- [21] Yin HH, Yang L, Peng GX, *et al*. The commensal consortium of the gut microbiome is associated with favorable responses to anti-programmed death protein 1 (PD-1) therapy in thoracic neoplasms[J]. *Cancer Biol Med*, 2021, 18(4): 1040-1052.
- [22] McCulloch JA, Davar D, Rodrigues RR, *et al*. Intestinal microbiota signatures of clinical response and immune-related adverse events in melanoma patients treated with anti-PD-1 [J]. *Nat Med*, 2022, 28(3): 545-556.
- [23] Xian HC, Li JY, Zhang YM, *et al*. Antimetastatic effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharide peptide on B16-F10-luc-G5 melanoma mice with sleep fragmentation[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 650216.
- [24] Ding GQ, Gong QY, Ma JY, *et al*. Immunosuppressive activity is attenuated by *Astragalus* polysaccharides through remodeling the gut microenvironment in melanoma mice[J]. *Cancer Sci*, 2021, 112(10): 4050-4063.
- [25] Huang JM, Liu D, Wang YW, *et al*. Ginseng polysaccharides alter the gut microbiota and kynurenine/tryptophan ratio, potentiating the antitumour effect of antiprogrammed cell death 1/programmed cell death ligand 1 (anti-PD-1/PD-L1) immunotherapy [J]. *Gut*, 2022, 71(4): 734-745.
- [26] Han K, Nam J, Xu J, *et al*. Generation of systemic antitumour immunity via the *in situ* modulation of the gut microbiome by an orally administered inulin gel[J]. *Nat Biomed Eng*, 2021, 5(11): 1377-1388.
- [27] Dong MX, Meng ZF, Kuerban K, *et al*. Diosgenin promotes antitumor immunity and PD-1 antibody efficacy against melanoma by regulating intestinal microbiota[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(10): 1039.
- [28] Zhu H, He YS, Ma J, *et al*. The dual roles of ginsenosides in improving the anti-tumor efficiency of cyclophosphamide in mammary carcinoma mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 265: 113271.
- [29] Li X, Alu AQ, Wei YQ, *et al*. The modulatory effect of high salt on immune cells and related diseases[J]. *Cell Prolif*, 2022, 55(9): e13250.

(下转第 179 页)