

【 实验研究 】

含盐饮食通过肠道菌群及其代谢增强洛铂抗结肠癌疗效

侯晓莹^{1,2}, 李晓旋², 方倩², 陈恺羚¹, 商锦婷^{1*}, 刘钰晨^{1,2*}

1. 江汉大学 武汉生物医学研究院, 认知与情感障碍湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430056

2. 江汉大学 肿瘤研究所, 湖北 武汉 430056

摘要: **目的** 探究基于肠道菌群的洛铂抗结肠癌作用及增效策略, 并探讨其相关机制。 **方法** 构建基于荧光素酶标记的结肠癌细胞 Luci-CT26 结肠癌原位移植瘤模型, 尾 iv 洛铂 15 mg·kg⁻¹ 观察其对小鼠瘤质量、肝脏系数、脾脏系数的影响, 并计算抑瘤率; 广谱抗生素复合物 (ABX) 联合洛铂干预观察肠道菌群对于洛铂抗结肠癌疗效的影响; 含盐饮食 (8% NaCl) 联合洛铂观察其对于洛铂抗结肠癌疗效的增效作用; 16S rRNA 扩增子测序联合非目标代谢组学分析挖掘含盐饮食增强洛铂疗效的潜在机制。 **结果** ABX 干预后可引起小鼠体质量明显下降, 并引起小鼠死亡; 与洛铂及 ABX 组比较, ABX-洛铂组肿瘤质量显著下降 ($P<0.05$ 、 0.01); 洛铂单药治疗结肠癌原位移植瘤药效有限, 其肿瘤抑制率仅为 27.22%, 但洛铂联合 ABX 后, 其肿瘤抑制率上升至 44.57%, 显著高于洛铂组和 ABX 组 ($P<0.05$ 、 0.01); 洛铂及 ABX 干预均不影响小鼠肝脏系数; 与模型组比较, 洛铂组脾脏系数显著降低 ($P<0.01$); 与 ABX 组比较, ABX-洛铂组脾脏系数显著降低 ($P<0.01$)。含盐饮食联合洛铂后, 可将其抗肿瘤抑制率从 24.59% 提升至 44.27%, 并具有统计学差异 ($P<0.05$), 且盐的摄入并未影响小鼠体质量, 并未引起小鼠死亡; 洛铂及含盐饮食干预均不影响小鼠肝脏系数, 与模型组比较, 洛铂组脾脏系数显著降低 ($P<0.01$); 与含盐饮食组比较, 含盐饮食联合洛铂组脾脏系数显著降低 ($P<0.001$)。16S rRNA 和代谢组学分析结果显示盐的摄入可显著上调小鼠粪便中 *Bacteroides vulgatus*、*Helicobacter typhlonius* 的相对丰度 ($P<0.05$), 显著下调 *Acinetobacter radioresistens*、*Clostridium* sp Clone-44、*Lachnospiraceae bacterium COE1*、*Eubacterium* sp 14-2、*Lactobacillus johnsonii* 的相对丰度 ($P<0.05$), 同时短肽、肉碱、胆汁酸、脂肪酸等代谢物的相对水平显著变化。 **结论** 盐的摄入可能通过调节肠道菌群代谢增强洛铂的抗结肠癌疗效。

关键词: 洛铂; 结肠癌; 肠道菌群; 含盐饮食; 化疗疗效

中图分类号: R965

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2025)06-1411-14

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.06.004

High salt diet increases efficacy of lobaplatin through gut microbiota and related metabolism in colon cancer

HOU Xiaoying^{1,2}, LI Xiaoxuan², FANG Qian², CHEN Kailing¹, SHANG Jinting¹, LIU Yuchen^{1,2}

1. Hubei Key Laboratory of Cognitive and Affective Disorders, Wuhan Institute of Biomedical Sciences, Jiangnan University, Wuhan 430056, China

2. Cancer Institute, Jiangnan University, Wuhan 430056, China.

Abstract: Objective To evaluate the anti-colon cancer effect of lobaplatin, and explore the gut microbiota based strategy to increase its efficacy. **Methods** A luciferase-labeled colon cancer cell line Luci-CT26 orthotopic transplantation tumor model was established. The effects of intravenous injection of lobaplatin at 15 mg·kg⁻¹ on tumor weight, liver coefficient and spleen coefficient in mice were examined, and the tumor inhibition rate was calculated. The effects of broad-spectrum antibiotic complex (ABX) combined with lobaplatin on the anti-colon cancer efficacy of lobaplatin were investigated. The synergistic effect of a high-salt diet (8% NaCl)

收稿日期: 2024-12-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82204416); 武汉市知识创新专项曙光计划项目 (2023010201020448)

作者简介: 侯晓莹 (1992—), 女, 讲师, 研究方向为基于肠道菌群的抗肿瘤药物。E-mail: jhhxy_2021@jhun.edu.cn

*通信作者: 商锦婷 (1993—), 女, 副教授, 研究方向为光催化降解污染物、光催化治疗神经性疾病及抗肿瘤。E-mail: shangjinting@jhun.edu.cn

刘钰晨 (1982—), 女, 博士, 副教授, 研究方向为肿瘤的发生发展机制和干预策略。E-mail: yuchen.liu@jhun.edu.cn

combined with lobaplatin on the anti-colon cancer efficacy of lobaplatin was examined. 16s rRNA amplicon sequencing and non-targeted metabolomics analysis were used to explore the potential mechanism of the enhanced efficacy of lobaplatin by a high-salt diet.

Results ABX intervention caused a significant decrease in body weight and death in mice. Compared with the lobaplatin and ABX groups, the tumor weight in the ABX-lobaplatin group was significantly reduced ($P < 0.05, 0.01$). The anti-tumor efficacy of lobaplatin alone in the orthotopic transplantation tumor model was limited, with a tumor inhibition rate of only 27.22%. However, the tumor inhibition rate increased to 44.57% after the combination of lobaplatin and ABX, which was significantly higher than that of the lobaplatin and ABX groups ($P < 0.05, 0.01$). Lobaplatin and ABX intervention did not affect the liver coefficient in mice. Compared with the model group, the spleen coefficient in the lobaplatin group was significantly reduced ($P < 0.01$). Compared with the ABX group, the spleen coefficient in the ABX-lobaplatin group was significantly reduced ($P < 0.01$). After the combination of a high-salt diet and lobaplatin, the tumor inhibition rate increased from 24.59% to 44.27%, with a statistically significant difference ($P < 0.05$). The intake of salt did not affect the body weight of mice and did not cause death. Lobaplatin and high-salt diet intervention did not affect the liver coefficient in mice. Compared with the model group, the spleen coefficient in the lobaplatin group was significantly reduced ($P < 0.01$). Compared with the high-salt diet group, the spleen coefficient in the high-salt diet-lobaplatin group was significantly reduced ($P < 0.001$). 16s rRNA and metabolomics analysis showed that the intake of salt significantly increased the relative abundance of *Bacteroides vulgatus*, and *Helicobacter typhlonius* in mouse feces ($P < 0.05$), and significantly decreased the relative abundance of *Acinetobacter radioresistens*, *Clostridium* sp Clone-44, *Lachnospiraceae bacterium COE1*, *Eubacterium* sp 14-2, and *Lactobacillus johnsonii* ($P < 0.05$). At the same time, the relative levels of short peptides, carnitine, bile acids, and fatty acids were significantly changed. **Conclusion** The intake of salt may enhance the anti-colon cancer efficacy of lobaplatin by regulating the metabolism of gut microbiota.

Key words: lobaplatin; colon cancer; gut microbiota; high salt diet; chemotherapy efficacy

据国家癌症中心 2024 年最新发布的统计数据, 2022 年我国新增结肠癌 51.71 万例(占比约 10.7%), 仅次于肺癌, 位居第 2, 新增死亡 24 万例(占比约 9.3%, 位居第 4), 且呈逐年增长趋势, 严重威胁人类生命安全^[1]。结肠癌起病隐匿且恶性程度高, 首诊时 20%~25% 的患者已伴有远处转移, 晚期结肠癌患者其 5 年生存率不足 10%, 目前尚缺乏有效的系统性治疗手段, 远无法满足临床需求^[2]。

洛铂于 2005 年在我国首先获批上市, 目前临床上主要应用于乳腺癌、小细胞肺癌及慢性粒细胞白血病的治疗^[3]。已经证实, 其主要通过特定位点与 DNA 形成加合物, 阻断其复制, 从而发挥杀伤肿瘤细胞的作用^[3]。洛铂具有稳定性好、抗癌谱广、抗肿瘤作用强、肾毒性和胃肠道反应较轻、且与顺铂无交叉耐药等特点^[4]。有研究证实, 洛铂可以呈剂量相关性地抑制结直肠细胞的增殖, 并诱导肿瘤细胞凋亡和焦亡, 同时一定程度上抑制肿瘤的体内发展^[5-7]。同时, 有临床统计数据表明, 洛铂治疗后的不良反应低于奥沙利铂^[8-9]。洛铂与奥沙利铂同属于第三代铂类化疗药物, 二者作用机制类似, 而奥沙利铂是目前临床上结肠癌一线用药。探究洛铂能否应用于临床上结肠癌的治疗及其作用机制, 以拓宽其临床适应证, 降低不良反应发生率, 改善患者预后, 具有重要意义。

人体中具有数以百万亿计的微生物, 其数量是

人体细胞的 10 倍, 所编码的基因是人体本身的百倍以上, 是体内不可或缺的重要组成成分^[10]。肠道菌群占据人体内微生物的绝大多数, 其可以接收外界环境和食物的信号, 将其转变为相关代谢产物信号分子, 通过循环系统实现与宿主之间的信号转导^[11]。近年来研究证实, 肠道菌群及其代谢是肿瘤生长和抗肿瘤药物疗效的关键影响因素, 其能够通过影响免疫细胞的聚集、炎症因子的释放以及肿瘤细胞程序性死亡等过程调节铂类及含铂类药物化疗方案的疗效^[12-13]和肠癌的发生发展^[14-15]。有研究表明, 肠道菌群可通过 Toll 样受体 4(TLR4)和活性氧(ROS)的产生介导奥沙利铂的疗效; 荷瘤小鼠 ig 给予抗生素后, 可显著提高奥沙利铂的化疗疗效^[16]; 同时, 清华大学研究表明, 肠道菌群可以通过其丁酸类代谢产物增强肿瘤微环境中细胞毒性 T 细胞的功能进而提高奥沙利铂的疗效^[17]。提示, 肠道菌群可能也是洛铂发挥作用的重要机制, 可能作为潜在的洛铂增效干预靶点应用于临床, 但仍需研究确证。

饮食调整是肠道菌群的重要干预措施, 其中含盐饮食被证实可通过调节肠道菌群和机体免疫参与癌症的进展、介导铂类化疗方案的抗结肠癌疗效。有研究显示, 含盐饮食可调节骨髓源性巨噬细胞分化进而激活 T 细胞的抗肿瘤活性, 抑制小鼠黑色素瘤和乳腺癌进展^[18]。在 Scirgolea 等^[19]的研究中, NaCl 可以促进谷氨酰胺耗竭, 增强效应 CD8⁺

T 细胞的功能,进而抑制人黑色素瘤的发展,提示含盐饮食可能具有潜在的化疗增效作用。尽管如此,目前未见肠道菌群与洛铂之间相互作用的相关报道。因此,本研究拟基于前期研究背景,结合多组学评价平台,考察洛铂的体内抗结肠癌疗效和肠道菌群及其代谢产物在其中发挥的作用,同时探究含盐饮食是否可以增强洛铂抗结肠癌药效及其机制,以期为临床上结肠癌的治疗提供新型治疗方案。

1 材料

1.1 细胞和动物

CT26 鼠源结肠癌细胞购于中国科学院上海细胞库。将编码萤火虫荧光素酶的慢病毒载体导入结肠癌细胞后,采用嘌呤霉素进行筛选构建 Luci-CT26 细胞,具体操作见本课题组前期文献报道^[20]。细胞培养条件:RPMI 1640 基础培养基,添加 10% 的胎牛血清,5% CO₂、37 °C 培养。

健康 6~8 周龄雄性 BALB/c 小鼠,体质量 20~22 g,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司,实验动物许可证号 SCXK(湘)2019-0004。动物实验依据江汉大学学术伦理审查委员会规定(伦理号 JHDXLL2024-136),温度(24±2)°C,保持 12 h/12 h 昼夜循环。

1.2 药品与主要试剂

胎牛血清、RPMI 1640(美国 Grand Island Biological 公司);萤火虫荧光素慢病毒载体(LV16-NC,上海吉玛制药技术有限公司);嘌呤霉素(美国 Sigma-Aldrich 公司);注射用洛铂(50 mg,批号 52212022,海南长安国际制药有限公司);万古霉素、硫酸新霉素、甲硝唑、氨苄青霉素(大连美仑生物技术有限公司);含盐饲料(8% NaCl,江苏美迪森生物医药有限公司);D-荧光素钾盐(美国 Promega 公司)。

1.3 仪器与耗材

UFLC-IT-TOF/MS 液质联用仪(岛津);细胞培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);超净工作台(北京东联哈尔仪器制造有限公司);GloMax® 20/20 发光检测仪(美国 Promega 公司);MATRX VMR 小动物专用吸入麻醉机(美国 MATRX 公司);5-0 带线缝合针(上海浦东金环医疗用品);IVIS Spectrum CN 小动物活体成像仪(美国 PerkinElmer 公司)。

2 方法

2.1 结肠癌原位移植瘤模型的构建与给药

原位移植瘤造模前 14 d(day 1)开始给予抗生

素干预组[广谱抗生素复合物(ABX)组和 ABX-洛铂组]小鼠饮水中添加 ABX:0.5 g·L⁻¹ 万古霉素、1 g·L⁻¹ 硫酸新霉素、1 g·L⁻¹ 甲硝唑、1 g·L⁻¹ 氨苄青霉素,以清除小鼠体内肠道菌群,实验期间抗生素干预组小鼠维持饮水中添加 ABX^[12]。

将收集好的 Luci-CT26 细胞以每只 1×10⁷ 个的数量接种至异氟烷麻醉的小鼠腋下皮下,构建结肠癌一代瘤模型,待肿瘤发展至 500 mm³ 左右取出肿瘤剪至直径为 2 mm 瘤块,缝合至异氟烷麻醉的小鼠结肠上,构建小鼠结肠原位移植瘤模型(day 15)^[21];接种后第 5 天生物发光成像检测小鼠成瘤情况,依据生物发光强度及小鼠体质量随机分组,确保各组基础体质量和肿瘤发展情况一致($n=8$):模型组、洛铂组、ABX 组、ABX-洛铂组(day 19);洛铂组和 ABX-洛铂组尾 iv 给予洛铂治疗:15 mg·kg⁻¹,每周 1 次^[7, 22];洛铂治疗期间记录小鼠体质量及活动状态,第 15 天处死小鼠收集样本(day 29),统计瘤质量,收集各组小鼠肝脏及脾脏,计算脏器系数。

2.2 含盐饮食联合洛铂干预

小鼠结肠原位移植瘤模型前 24 d 开始给予含盐饮食(8% NaCl)干预组[模型+含盐饮食(MS)组、模型+含盐饮食+洛铂(MS-洛铂)组]小鼠含盐饮食饲养(day 1),整个实验期间维持含盐饮食饲养;构建 Luci-CT26 小鼠结肠原位移植瘤模型(day 25);第 5 天生物发光成像检测小鼠成瘤情况,依据生物发光强度及小鼠体质量随机分组,确保各组基础体质量和肿瘤发展情况一致($n=8$):模型组、洛铂组、MS 组、MS-洛铂组,并收集 MS 组和模型组小鼠给药前粪便样本以备后续检测(day 29)。洛铂组和 MS-洛铂组给予洛铂治疗,方法同“2.1”项,治疗期间记录小鼠体质量及活动状态,第 15 天处死小鼠收集样本(day 39),统计瘤质量,收集各组小鼠肝脏及脾脏,计算脏器系数。

2.3 16S rRNA 扩增子测序

粪便基因组 DNA 提取后,使用 1% 琼脂糖凝胶电泳(5 V·cm⁻¹, 20 min)检测 DNA 完整性,并采用无菌水将 DNA 稀释至 1 ng·mL⁻¹ 备用。采用 NovaSeq PE250 高通量测序平台对细菌的 16S rRNA 基因 V3-V4 高变区域进行 PCR 扩增测序。对测序所获得的原始序列进行滤过(去除低质量碱基,去除含有测序接头的序列,去除宿主基因污染),获得高质量序列样本。通过 UCLUST 软件移

除嵌合体,默认以 97%的相似度将序列聚类成为操作分类单元(OTUs)。根据 Greengenes 数据库比对 OTUs 分类学信息,统计各个样本的菌落组成;通过 QIIME 计算以及 R 语言展示菌群 β -多样性;LEfSe 筛选组间差异物种;PICRUSt 基于京都基因与基因组百科全书(KEGG)数据库预测各样本微生物的基因组功能信息,比较各组间肠道菌群组成及功能的差异。测序原始数据已上传至 NCBI-SRA 数据库:PRJNA1047661。

2.4 代谢组学分析

LC-MS 代谢组学分析方法考察模型组和 MS 组小鼠给药前粪便代谢轮廓差异。每 20 克粪便样本采用 400 μ L 的 70%甲醇水内标提取液通过涡旋、离心进行代谢物提取后,进行代谢组学检测。Phenomenex Kinetex C₁₈ (100 mm $\times$ 2.1 mm, 2.6 μ m);柱温 40 $^{\circ}$ C;流动相:0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B);体积流量 0.4 mL $\cdot$ min⁻¹;梯度洗脱(0~20 min, 95%~5%A;20~23 min, 5%A;23~30 min, 95%A);配制的流动相在使用前需经 0.22 μ m 滤膜滤过,进样体积 5 μ L;进样器温度 4 $^{\circ}$ C;电喷雾离子源(ESI)正、负离子模式同时采集数据,质量扫描范围 100~1 000 m/z ;检测电压:1.80 kV;加热模块温度 200 $^{\circ}$ C;雾化器体积流量 1.5 L $\cdot$ min⁻¹;干燥器体积流量 10.0 L $\cdot$ min⁻¹;离子源接口电压:正极 4.5 kV,负极-3.5 kV。质谱下机原始数据经过 ProteoWizard 转换为 mzXML 格式,采用 XCMS 程序进行峰提取、对齐、保留时间校正。采用“SVR”方法对峰面积进行校正,并对各组样本中缺失率>50%的峰进行滤过。校正筛选后的峰,通过质谱峰归属、分子式预测、对照品对比和数据库(HMDB、the Mass Bank、METLIN Metabolite)检索的方法得到代谢物鉴定信息。利用 SIMCA-P 14.1 软件(瑞典 Umetrics 公司)对预处理后的数据矩阵进行多元统计分析,主要包含主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA);通过 PCA 得分图上组间分离程度评估组间代谢轮廓差异。通过 OPLS-DA 筛选组间差异代谢物,筛选条件:OPLS-DA 模型参数变量投影重要性(VIP)>1,错误发现率(FDR) $P<0.01$ 以及变化倍数>2 or <0.5。

2.5 统计学分析

数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 GraphPad Prism 10.0 软件对数据进行统计分析,采用 t 检验比较两组间差异。

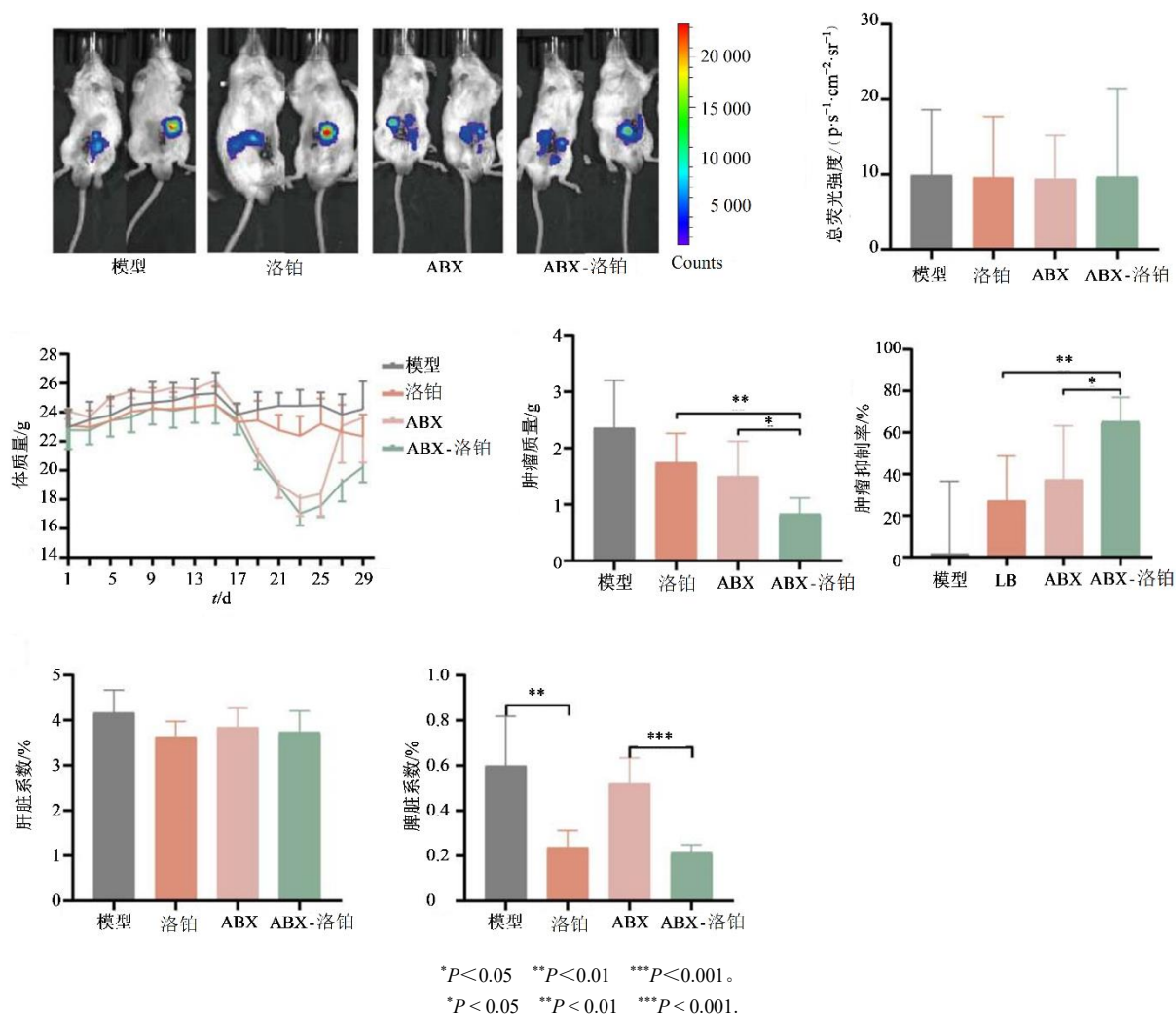
3 结果

3.1 ABX 干预对洛铂疗效的影响

ABX 可清除小鼠体内 99%以上的肠道细菌,同时显著降低肠道菌群的丰富度和多样性,是目前公认的抗生素联合方案^[23-26]。因此,为评估洛铂的抗结肠癌作用以及肠道菌群对其疗效的影响,本研究选取 ABX 预处理,清除小鼠体内肠道菌群(ABX 组和 ABX-洛铂组),构建“伪无菌鼠”模型,来考察肠道菌群清除是否可以影响洛铂抗结肠癌药效。如图 1 所示,各组小鼠给药前体质量及肿瘤发展程度一致,ABX 干预后可引起小鼠体质量明显下降。实验终点肿瘤质量数据显示,与洛铂及 ABX 组比较,ABX-洛铂组肿瘤质量显著下降($P<0.05$ 、 0.01);洛铂单药治疗结肠癌原位移植瘤药效有限,其肿瘤抑制率仅为 27.22%,但洛铂联合 ABX 后,其肿瘤抑制率上升至 44.57%,显著高于洛铂组和 ABX 组($P<0.05$ 、 0.01),提示肠道菌群清除可显著增强洛铂抗结肠癌药效。实验终点取材结果显示,洛铂及 ABX 干预均不影响小鼠肝脏系数;与模型组比较,洛铂组脾脏系数显著降低($P<0.01$);与 ABX 组比较,ABX-洛铂组脾脏系数显著降低($P<0.01$),提示洛铂可影响机体免疫平衡。洛铂单药治疗结肠癌原位移植瘤疗效有限,ABX 可增强洛铂抗结肠癌药效,但引起小鼠体质量下降,实验终点时 ABX 组和 ABX-洛铂组均有 2 只小鼠死亡。因此,仍需要寻找新型低毒肠道菌群干预手段,来提升洛铂抗结肠癌药效。

3.2 盐的摄入对洛铂疗效的影响

饮食调整是重要的肠道菌群干预方式,通过饮食调节肠道菌群进而防治疾病已经成为现今热门研究领域^[27]。有研究显示,盐的摄入可以抑制小鼠体内炎症,降低 *Enterotoxigenic Bacteroides fragilis* 丰度,进而抑制结肠癌的发生^[28]。同时,含盐饮食还可通过调节髓样抑制细胞的分化进而抑制乳腺癌、黑色素瘤等多种肿瘤的发展^[18]。因此,推测盐的摄入可能通过肠道菌群增强洛铂抗结肠癌药效。如图 2 所示,各组小鼠给药前体质量及肿瘤发展程度一致。与“3.1”项结果一致,洛铂可一定程度引起小鼠体质量下降,但盐的摄入并未影响小鼠体质量。含盐饮食联合洛铂后,可将其肿瘤抑制率从 24.59%提升至 44.27%,并具有统计学差异($P<0.05$)。实验终点关键脏器统计结果显示,洛铂及含盐饮食干预均不影响小鼠肝脏系数。同时,与“3.1”

图 1 ABX 干预对洛铂抗结肠癌疗效的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)Fig. 1 Evaluation of lobaplatin efficacy in colon cancer and effect of ABX on it ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

项结果一致, 洛铂给药可显著降低小鼠脾脏系数。洛铂单药对于结肠癌原位移植瘤模型的抑制率仅为 24%~27%, 相较于洛铂单药, 抗生素联合治疗虽可以将其肿瘤抑制率提升至 44.57%, 但毒性反应严重。而含盐饮食联合后, 可以将洛铂的抗肿瘤抑制率提升至 44.27%, 同时并未增强其毒性, 提示含盐饮食联合可以安全有效地增强洛铂的抗结肠癌药效, 是潜在的临床洛铂增效方案。

3.3 含盐饮食干预后对小鼠肠道菌群的影响

为探究含盐饮食是否通过肠道菌群发挥增效作用, 将含盐饮食干预后给药前小鼠粪便 (day 29) 进行 16S rRNA 扩增子测序。结果显示, 含盐饮食干预并未显著影响小鼠给药前粪便肠道菌群 α -多样性 (Chao1、Shannon 和 Simpson, 图 3-A); 但可改变其肠道菌群构成, 相较于模型组, MS 组小鼠

β -多样性显著增加 (图 3-B)。进一步分析发现, 二者肠道菌群在菌门、属水平上分布显著不同 (图 3-C、D)。以变化倍数 >2 , 以及 $P<0.05$ 为筛选标准, 发现盐的摄入可显著上调小鼠粪便中 *Bacteroides vulgatus*、*Helicobacter typhlonius* 的相对丰度 ($P<0.05$), 同时显著下调 *Acinetobacter radioresistens*、*Clostridium* sp Clone-44、*Lachnospiraceae bacterium COE1*、*Eubacterium* sp 14-2、*Lactobacillus johnsonii* 的相对丰度 ($P<0.05$), 可能与含盐饮食增强洛铂抗结肠癌药效有关 (图 3-E、F)。

3.4 含盐饮食干预可影响小鼠肠道菌群代谢轮廓

已经证实, 肠道菌群代谢产物是肠道菌群组成和功能的重要映射, 也是肠道菌群参与机体病理生理进程的关键媒介^[29]。因此, 为探究本研究中肠道菌群是否通过其代谢产物参与到洛铂的增效作用,

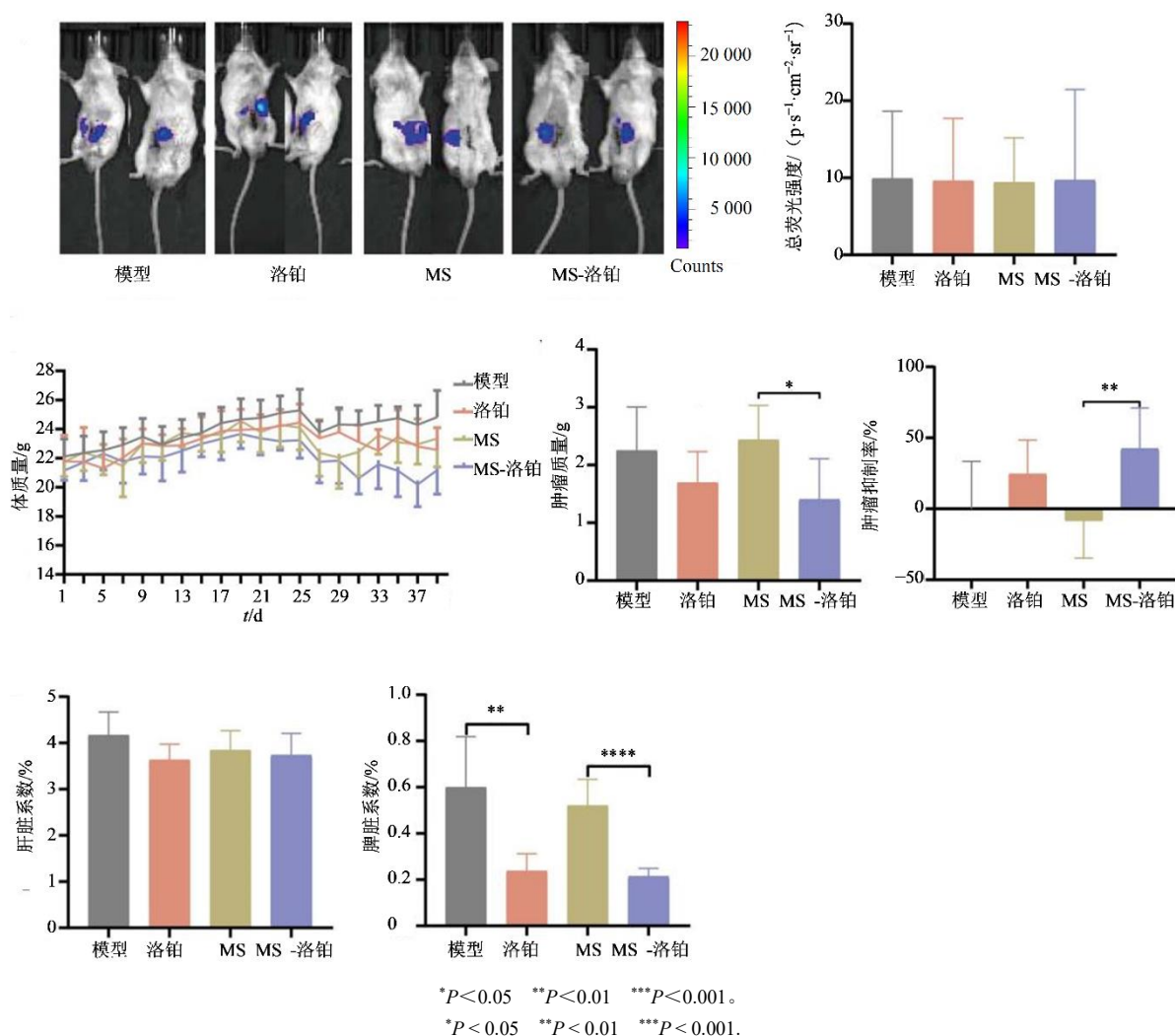


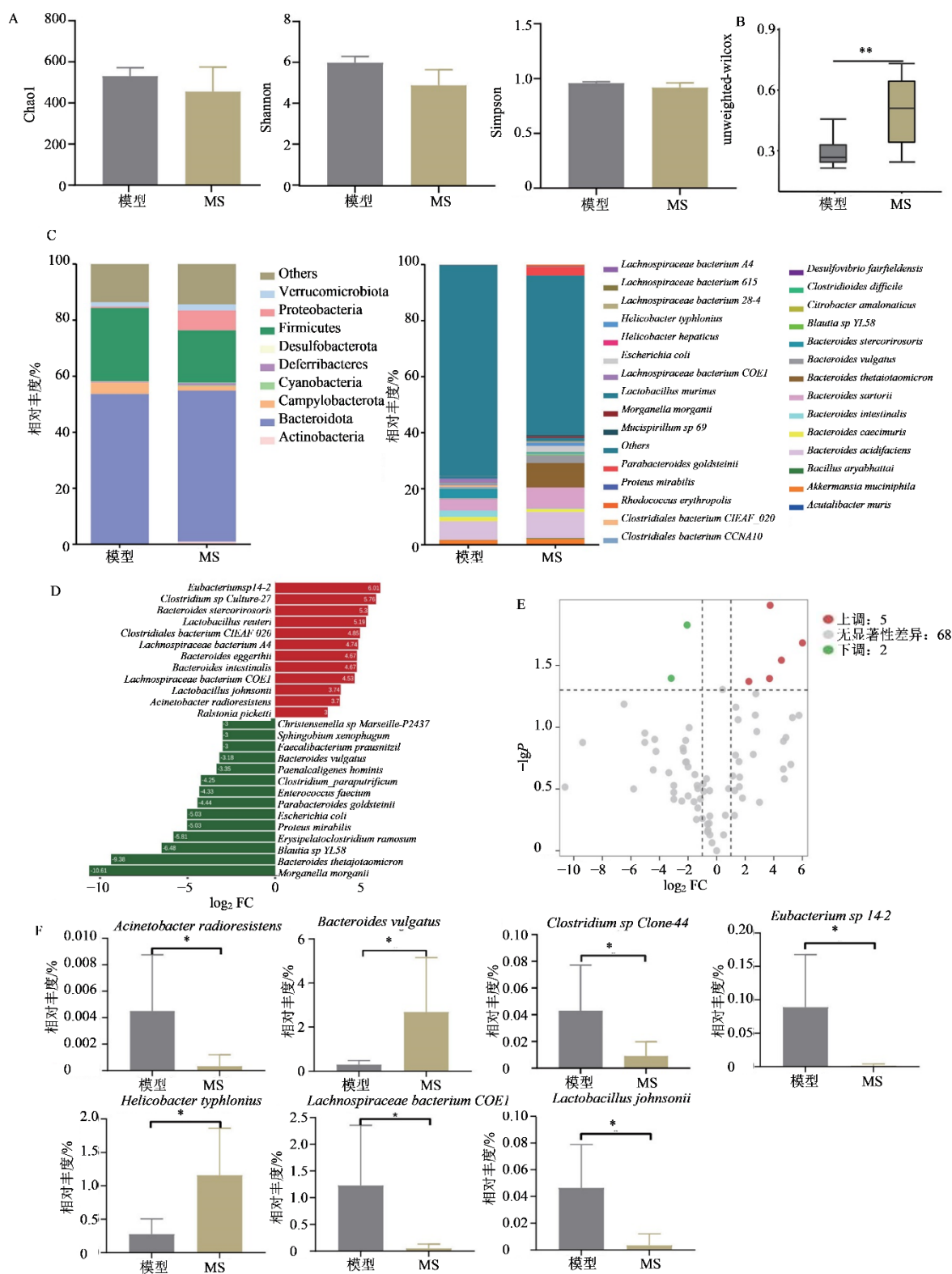
图 2 盐的摄入对洛铂抗结肠癌疗效的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Fig. 2 Effect of high salt diet on lobaplatin efficacy in colon cancer ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

将收集得到的粪便进行了非靶向代谢组学检测 (模型组和 MS 组)。PCA 结果显示, 盐的摄入可显著改变荷瘤小鼠肠道菌群代谢轮廓 (图 4-A); 进一步以 VIP 值 >1 , 变化倍数 >2 和 FDR $P < 0.01$ 为筛选标准, 共筛选得到模型和 MS 组差异代谢物 324 个 (图 4-B)。随后, 基于 HMDB 数据库检索、保留时间以及质谱信息, 共鉴定得到差异内源性差异代谢物 91 个, 其中主要包含短肽、脂肪酸和肉碱等 (图 4-C)。进一步将筛选得到的差异肠菌和差异代谢物进行了 Spearman 相关性分析, 发现筛选得到的差异代谢物, 均与差异肠菌呈显著相关 (图 4-D、表 1)。结果提示, 差异肠菌可能通过短肽、脂肪酸和肉碱等代谢物介导由含盐饮食引起的洛铂增效作用。

4 讨论

洛铂与奥沙利铂同属第 3 代铂类化疗药物, 在 2005 年经我国国家食品和药品监督管理局批准上市, 目前主要应用于乳腺癌、小细胞肺癌及慢性粒细胞白血病的治疗。奥沙利铂是目前临床上结肠癌一线用药, 但不良反应严重, 严重影响患者治疗效果和生存质量^[30]。有临床显示, 洛铂作用后不良反应可能低于奥沙利铂^[8-9]。探究洛铂能否作为潜在的结肠癌治疗药物及其机制, 具有重要的临床意义。因此, 本研究基于结肠癌原位移植瘤模型, 结合多组学分析, 评估了洛铂的抗结肠癌疗效, 并在此基础上探究了基于肠道菌群的洛铂抗结肠癌增效策略, 发现肠道菌群可以影响洛铂的抗结肠癌药效, 含盐饮食可以增强洛铂的抗结肠癌作用, 同时并未

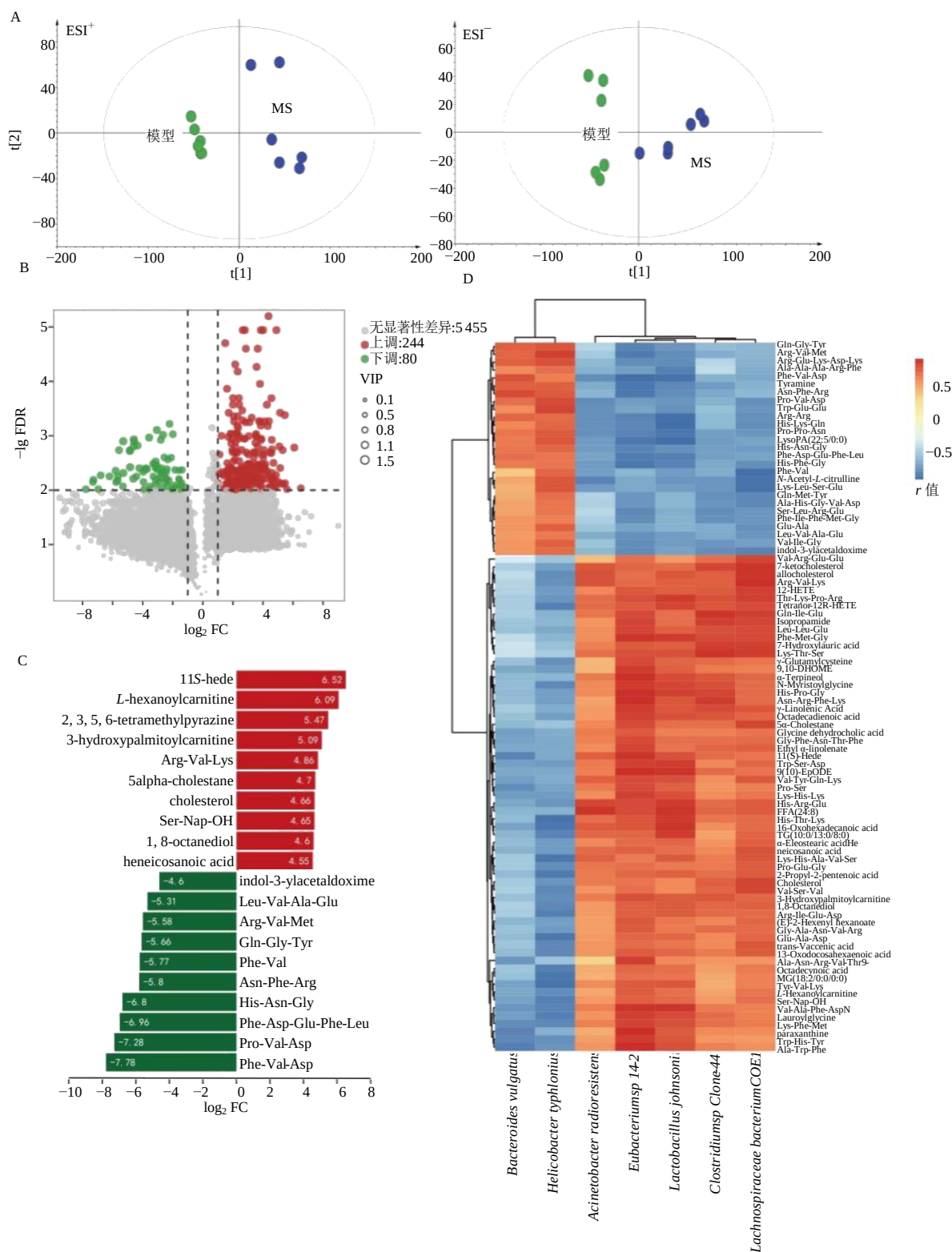


A-α多样性; B-β多样性: ** $P < 0.01$; C-菌门(丰度前 10)和菌属分布(丰度前 30); D-模型组和 MS 组变化倍数差异前 20 肠道微生物(模型 vs MS); E-差异肠菌火山图(模型 vs MS); F-差异肠菌相对丰度: * $P < 0.05$ 。

A-α-diversity; B-β-diversity: ** $P < 0.01$; C-stacked charts were compiled for the top 10 bacterial phyla and the top 30 bacterial genera; D-gut microorganism with the top 20 fold change (model vs MS); E-volcano plots of differential bacteria (model vs MS); F-relative abundance of differential bacteria: * $P < 0.05$ 。

图 3 盐的摄入影响小鼠粪便肠道菌群组成

Fig. 3 Intake of salt affected structure of gut microbiota of mice fecal



A-PCA 分析小鼠粪便代谢轮廓 (ESI⁺: $R^2_X=0.408$, $Q^2=0.0743$; ESI⁻: $R^2_X=0.386$, $Q^2=0.0836$); B-差异代谢物火山图; C-模型组和 MS 组变化倍数差异前 20 的差异代谢物; D-差异肠菌与差异代谢物 Spearman 相关性分析; r-相关系数; 红色-正相关; 蓝色-负相关。
A-fecal metabolism profile demonstrated by PCA (ESI⁺: $R^2_X=0.408$, $Q^2=0.0743$; ESI⁻: $R^2_X=0.386$, $Q^2=0.0836$); B-volcano plots of differential metabolites; C-differential metabolites with the top 20 fold change of model and MS mice; D-spearman correlation analysis between differential bacteria and differential metabolites; r-correlation coefficient; red-positive correlation; blue-negative correlation.

图 4 盐的摄入显著影响小鼠粪便代谢轮廓

Fig. 4 Intake of salt significantly affected the metabolic profile of mice fecal

表 1 模型和 MS 组小鼠差异肠菌和差异代谢物相关系数

差异代谢物	相关系数						
	<i>Bacteroides</i>	<i>Helicobacter</i>	<i>Acinetobacter</i>	<i>Eubacterium</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Clostridium</i>	<i>Lachnospiraceae</i>
	<i>vulgatus</i>	<i>typhlonius</i>	<i>radioresistens</i>	<i>sp 14-2</i>	<i>johnsonii</i>	<i>sp Clone-44</i>	<i>bacterium COE1</i>
Gln-Gly-Tyr	0.72	0.76	-0.45	-0.82	-0.74	-0.57	-0.60
Arg-Val-Met	0.70	0.83	-0.52	-0.84	-0.78	-0.64	-0.61
Arg-Glu-Lys-Asp-Lys	0.73	0.78	-0.59	-0.77	-0.77	-0.44	-0.63
Ala-Ala-Ala-Arg-Phe	0.58	0.67	-0.63	-0.71	-0.82	-0.42	-0.64
Phe-Val-Asp	0.78	0.62	-0.77	-0.89	-0.88	-0.62	-0.66
tyramine	0.72	0.72	-0.64	-0.86	-0.79	-0.72	-0.63
Asn-Phe-Arg	0.79	0.73	-0.61	-0.87	-0.77	-0.67	-0.59
Pro-Val-Asp	0.67	0.79	-0.77	-0.71	-0.74	-0.63	-0.76
Trp-Glu-Glu	0.57	0.80	-0.76	-0.68	-0.75	-0.56	-0.73
Arg-Arg	0.70	0.69	-0.75	-0.82	-0.91	-0.59	-0.75
His-Lys-Gln	0.60	0.71	-0.76	-0.80	-0.90	-0.60	-0.78
Pro-Pro-Asn	0.65	0.75	-0.76	-0.81	-0.87	-0.70	-0.73
LysoPA(22:5/0:0)	0.64	0.76	-0.72	-0.86	-0.90	-0.72	-0.68
His-Asn-Gly	0.65	0.70	-0.72	-0.82	-0.76	-0.70	-0.72
Phe-Asp-Glu-Phe-Leu	0.68	0.66	-0.67	-0.85	-0.83	-0.69	-0.69
His-Phe-Gly	0.64	0.64	-0.71	-0.85	-0.81	-0.67	-0.76
Phe-Val	0.34	0.71	-0.69	-0.62	-0.71	-0.65	-0.90
N-acetyl-L-citrulline	0.46	0.76	-0.80	-0.66	-0.73	-0.74	-0.87
Lys-Leu-Ser-Glu	0.43	0.76	-0.72	-0.67	-0.70	-0.73	-0.89
Gln-Met-Tyr	0.45	0.66	-0.46	-0.73	-0.60	-0.76	-0.78
Ala-His-Gly-Val-Asp	0.48	0.64	-0.48	-0.73	-0.60	-0.73	-0.78
Ser-Leu-Arg-Glu	0.50	0.65	-0.43	-0.79	-0.64	-0.76	-0.73
Phe-Ile-Phe-Met-Gly	0.55	0.62	-0.49	-0.78	-0.63	-0.75	-0.74
Glu-Ala	0.54	0.73	-0.54	-0.68	-0.62	-0.64	-0.76
Leu-Val-Ala-Glu	0.53	0.63	-0.64	-0.76	-0.72	-0.67	-0.73
Val-Ile-Gly	0.55	0.72	-0.54	-0.77	-0.72	-0.73	-0.71
indol-3-ylacetaldoxime	0.55	0.69	-0.59	-0.78	-0.69	-0.76	-0.81
Val-Arg-Glu-Glu	-0.33	-0.54	0.40	0.66	0.52	0.67	0.80
7-ketocholesterol	-0.49	-0.70	0.77	0.70	0.69	0.81	0.87
allocholesterol	-0.42	-0.77	0.77	0.67	0.76	0.71	0.87
Arg-Val-Lys	-0.45	-0.76	0.77	0.68	0.72	0.72	0.88
12-HETE	-0.46	-0.71	0.60	0.77	0.72	0.75	0.83
Thr-Lys-Pro-Arg	-0.50	-0.74	0.68	0.78	0.85	0.78	0.83
tetranor-12R-HETE	-0.50	-0.83	0.69	0.74	0.80	0.77	0.80
Gln-Ile-Glu	-0.49	-0.62	0.65	0.79	0.67	0.87	0.83
isopropamide	-0.53	-0.61	0.54	0.82	0.66	0.83	0.80
Leu-Leu-Glu	-0.56	-0.66	0.57	0.80	0.72	0.78	0.79
Phe-Met-Gly	-0.41	-0.61	0.56	0.86	0.85	0.79	0.80
7-hydroxyauric acid	-0.36	-0.56	0.61	0.74	0.73	0.83	0.83
Lys-Thr-Ser	-0.37	-0.50	0.67	0.77	0.78	0.86	0.85
γ-glutamylcysteine	-0.56	-0.75	0.41	0.79	0.70	0.68	0.64
9,10-DHOME	-0.66	-0.71	0.41	0.85	0.73	0.64	0.61
α-terpineol	-0.59	-0.61	0.64	0.88	0.79	0.75	0.71

表 1 (续)

差异代谢物	相关系数						
	<i>Bacteroides vulgatus</i>	<i>Helicobacter typhlonius</i>	<i>Acinetobacter radioresistens</i>	<i>Eubacterium sp 14-2</i>	<i>Lactobacillus johnsonii</i>	<i>Clostridium sp Clone-44</i>	<i>Lachnospiraceae bacterium COE1</i>
<i>N</i> -myristoylglycine	-0.57	-0.79	0.57	0.84	0.82	0.78	0.69
His-Pro-Gly	-0.59	-0.71	0.58	0.89	0.83	0.82	0.69
Asn-Arg-Phe-Lys	-0.57	-0.70	0.49	0.88	0.75	0.84	0.69
γ -linolenic acid	-0.50	-0.64	0.52	0.85	0.76	0.80	0.76
octadecadienoic acid	-0.55	-0.69	0.52	0.82	0.77	0.76	0.70
5 α -cholestane	-0.59	-0.53	0.60	0.80	0.66	0.66	0.82
glycine dehydrocholic acid	-0.69	-0.64	0.63	0.75	0.62	0.61	0.66
Gly-Phe-Asn-Thr-Phe	-0.68	-0.66	0.61	0.79	0.66	0.67	0.69
ethyl α -linolenate	-0.66	-0.66	0.56	0.82	0.65	0.71	0.73
11(<i>S</i>)-hede	-0.80	-0.66	0.72	0.87	0.77	0.68	0.65
Trp-Ser-Asp	-0.70	-0.71	0.64	0.83	0.86	0.60	0.71
9(10)-EpODE	-0.67	-0.67	0.62	0.89	0.86	0.69	0.66
Val-Tyr-Gln-Lys	-0.70	-0.65	0.73	0.80	0.77	0.56	0.76
Pro-Ser	-0.77	-0.68	0.63	0.80	0.73	0.54	0.62
Lys-His-Lys	-0.71	-0.72	0.56	0.82	0.77	0.55	0.64
His-Arg-Glu	-0.66	-0.73	0.81	0.79	0.86	0.69	0.74
FFA(24:8)	-0.62	-0.63	0.86	0.79	0.88	0.70	0.73
His-Thr-Lys	-0.57	-0.87	0.67	0.76	0.86	0.65	0.68
16-oxohexadecanoic acid	-0.69	-0.86	0.74	0.76	0.86	0.56	0.69
TG(10:0/13:0/8:0)	-0.61	-0.80	0.71	0.70	0.84	0.48	0.71
α -eleostearic acid	-0.58	-0.72	0.60	0.69	0.70	0.54	0.73
heneicosanoic acid	-0.63	-0.71	0.69	0.72	0.66	0.60	0.78
Lys-His-Ala-Val-Ser	-0.52	-0.87	0.72	0.64	0.74	0.63	0.76
Pro-Glu-Gly	-0.52	-0.78	0.65	0.67	0.63	0.64	0.74
2-propyl-2-pentenoic acid	-0.57	-0.84	0.63	0.70	0.73	0.67	0.74
cholesterol	-0.52	-0.74	0.63	0.65	0.58	0.71	0.82
Val-Ser-Val	-0.48	-0.78	0.54	0.67	0.58	0.71	0.80
3-hydroxypalmitoylcarnitine	-0.55	-0.78	0.63	0.78	0.73	0.76	0.71
1, 8-octanediol	-0.48	-0.80	0.53	0.73	0.75	0.71	0.73
Arg-Ile-Glu-Asp	-0.50	-0.83	0.53	0.73	0.75	0.69	0.69
(<i>E</i>)-2-hexenyl hexanoate	-0.62	-0.69	0.50	0.76	0.65	0.60	0.70
Gly-Ala-Asn-Val-Arg	-0.56	-0.71	0.50	0.74	0.63	0.69	0.69
Glu-Ala-Asp	-0.57	-0.87	0.52	0.70	0.70	0.59	0.71
trans-Vaccenic acid	-0.55	-0.78	0.54	0.69	0.65	0.58	0.76
13-oxodocosahexaenoic acid	-0.57	-0.80	0.55	0.74	0.71	0.62	0.75
Ala-Asn-Arg-Val-Thr	-0.73	-0.53	0.31	0.83	0.58	0.54	0.55
9-octadecynoic acid	-0.54	-0.83	0.46	0.70	0.67	0.51	0.63
MG (18:2/0/0/0:0)	-0.55	-0.85	0.43	0.68	0.65	0.47	0.61
Tyr-Val-Lys	-0.69	-0.87	0.57	0.74	0.76	0.45	0.62
<i>L</i> -hexanoylcarnitine	-0.67	-0.78	0.47	0.74	0.66	0.50	0.65
Ser-Nap-OH	-0.69	-0.82	0.53	0.72	0.68	0.53	0.67
Val-Ala-Phe-Asp	-0.74	-0.82	0.61	0.87	0.86	0.63	0.61
<i>N</i> -lauroylglycine	-0.71	-0.83	0.54	0.83	0.79	0.68	0.61
Lys-Phe-Met	-0.77	-0.78	0.62	0.81	0.77	0.66	0.64
paraxanthine	-0.81	-0.63	0.44	0.89	0.73	0.58	0.57
Trp-His-Tyr	-0.80	-0.76	0.51	0.84	0.75	0.54	0.53
Ala-Trp-Phe	-0.83	-0.74	0.54	0.89	0.78	0.61	0.55

增强其毒性,可作为潜在的临床洛铂增效方案应用于结肠癌患者的治疗(图5)。研究结果将为临床拓宽洛铂适应证、改善结肠癌患者预后提供重要参考,也为基于肠道菌群干预的肿瘤治疗增效策略提

供新的思路。

本研究发现,广谱抗生素干预可显著增强洛铂的抗结肠癌药效,但同时毒性也显著增加。因此,需要寻找一种基于肠道菌群干预的安全有效的洛

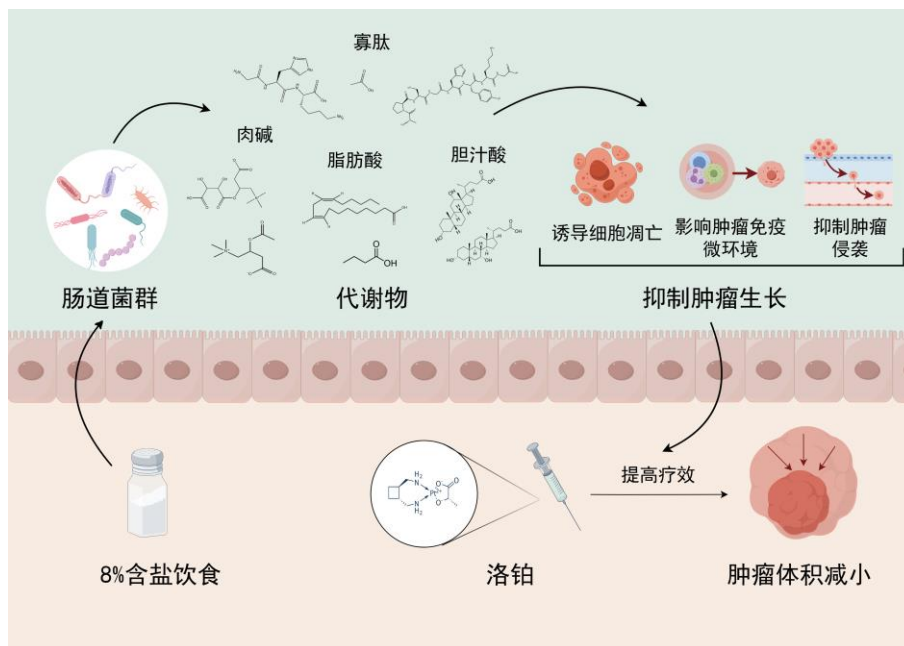


图5 含盐饮食通过肠道菌群及其代谢增效洛铂的抗结肠癌药效

Fig. 5 Intake of salt high increases efficacy of lobaplatin through gut microbiota and related metabolism in colon cancer

铂联用方案。众所周知,饮食习惯是肠道菌群的重要影响方式,可通过影响肠道菌群分布和功能,与免疫系统相互作用,影响机体炎症水平,进而调节疾病进展和药物疗效^[31]。近年研究显示,盐的摄入可以抑制小鼠结肠癌、乳腺癌、黑色素瘤等多种肿瘤的发生发展^[18,28]。已经证实,含盐饮食可以影响肠道菌群的组成和功能,进而影响机体的病理生理进程和治疗响应。发表在 *Microbiome* 上的一篇研究显示,含盐饮食可以通过降低乳杆菌水平及其代谢物丁酸的生成进而影响小鼠结肠炎进程^[32]。同时,Rizvi 等^[33]的 1 项研究表明,1%的含盐饮食可以通过肠道菌群协同 PD-1 单抗在黑色素瘤小鼠模型中的治疗疗效。因此,本研究探究了含盐饮食联合后,是否可以增强洛铂药效。结果显示,含盐饮食干预果然可以将洛铂的结肠癌抑制率从 24.59% 提升至 44.27%,同时不影响小鼠的体质量和生存状态,提示含盐饮食可能是一种安全的洛铂抗结肠癌增效联用方案。

通过检测模型和 MS 组小鼠给药前粪便样本发现,含盐饮食可显著改变荷瘤小鼠肠道菌群分布及

其代谢,并筛选鉴定得到 7 个差异肠菌(图3)。其中,含盐饮食可显著下调小鼠粪便中 *Eubacterium sp 14-2* 相对丰度。*Eubacterium rectale* 可以促进炎症性肠病的发生发展^[34],提示含盐饮食可能通过下调 *Eubacterium sp 14-2* 相对丰度发挥增强洛铂化疗疗效。研究显示, *Clostridium symbiosum* 可以通过代谢生成支链氨基酸促进结直肠癌细胞的增殖和干性^[35]。本研究中,我们发现含盐饮食可下调 *Clostridium sp Clone-44* 的丰度,提示含盐饮食可能通过降低 *Clostridium sp* 的丰度增强洛铂疗效。此外,有数据表明 CRC 患者中 *Lachnospiraceae* 和 *Acinetobacter* 显著富集^[36-38]。同样的,我们监测到含盐饮食干预组(MS 组)同菌属菌种 *Lachnospiraceae bacterium COE1* 和 *Lactobacillus johnsonii* 的下调,表明二者也可能介导含盐饮食增强的洛铂疗效。

除直接影响机体的生理病理进程和介导药物疗效,肠道菌群还可将外界信号转变为特异性代谢产物,通过直接激活、钝化药物,或间接与宿主免疫和代谢系统相互作用,影响药物的毒性和

疗效^[39]。因此,为探究肠道菌群介导含盐饮食增效的具体机制,比较了模型和 MS 组小鼠粪便肠道菌群代谢轮廓。结果显示,含盐饮食可显著改变小鼠粪便代谢轮廓,并筛选聚焦得到差异代谢物 91 个(图 4)。值得注意的是,其中便包含短肽 54 个。短肽是由少数氨基酸组成的蛋白质片段,一般由 2~10 个氨基酸脱水缩合组成。目前,有研究显示短肽可以影响肿瘤的发生发展和肿瘤治疗。研究显示,由长链非编码 RNA *RNF217-AS1* 编码的短肽显著抑制胃癌皮下移植瘤的发展,阻碍巨噬细胞的募集^[40]。同时, Ile-Ala 和 Gln-Tyr 这 2 种二肽可以通过激活丝裂原活化蛋白激酶激酶激酶 4 (Map4k4)/G3BP 应力颗粒装配因子 2 (G3BP2) 通路促进肝细胞癌细胞转移^[41]。已经证实,由 β -alanyl 和 L-histidine 组成的肌肽可以调节细胞内 pH 稳态并驱动溶酶体依赖的肿瘤免疫逃逸^[42]。同时,肌肽还可以抑制核因子- κ B (NF- κ B) 的活性并调节基质金属蛋白酶 (MMP) 和上皮间质转化 (EMT) 相关基因表达来抑制结肠癌细胞 HCT116 的侵袭和转移^[43]。综合现有的文献报道,短肽可以影响结肠癌的发生发展及疗效,并可能作为结肠癌诊断和治疗的预后标志物^[12,44],提示含盐饮食可能通过影响小鼠体内短肽代谢进而增效洛铂抗结肠癌药效。除短肽之外,本研究发现模型和 MS 组间脂肪酸和胆汁酸类代谢物也发生显著改变。研究显示,肠道菌群胆汁酸代谢产物可以通过诱导结肠癌细胞凋亡增强含铂类化疗方案的药效^[45]。肠道菌群可能通过其代谢产物进而调控肿瘤细胞的转移、免疫微环境以及凋亡等过程介导含盐饮食对洛铂的增效作用。

综上,本研究考察了洛铂的抗结肠癌药效,发现肠道菌群及其代谢可以介导洛铂的抗结肠癌药效,在此基础上探究了基于肠道菌群干预的洛铂增效策略并揭示了潜在的机制。作为目前公认的安全有效的菌群干预策略,含盐饮食联合洛铂将有希望更快地应用于临床上结肠癌的治疗,改善结肠癌患者预后。同时,含盐饮食联合洛铂方案的提出,也为基于肠道菌群干预的抗肿瘤治疗提供新型科学依据。尽管如此,含盐饮食通过肠道菌群及其代谢增强洛铂疗效的机制仍有待进一步揭示。此外,除含盐饮食的抗结肠癌作用^[19,46-47],也有研究显示高盐饮食可能是结肠癌的风险因子^[48]。因此,推测含盐饮食对结肠癌作用的“两面性”可能与其剂量有关。可以通过设计一系列的 NaCl 剂量以考察其是

否浓度相关性的影响化疗疗效,以期制定结肠癌患者的每日 NaCl 摄入标准提供一定的科学依据。接下来的研究中,将通过粪菌移植、代谢物干预等技术手段探究肠道菌群及其代谢物介导洛铂抗结肠癌的具体机制,并开展基于临床样本的功能验证,为洛铂应用于临床抗结肠癌治疗提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 郑荣寿,陈茹,韩冰峰,等. 2022 年中国恶性肿瘤流行情况分析 [J]. 中华肿瘤杂志, 2024, 46(3): 221-231.
Zheng R S, Chen R, Han B F, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2022 [J]. Chin J Oncol, 2024, 46(3): 221-231.
- [2] 周家铭,邬小凤,吴远辉,等. 结肠癌死亡患者的肿瘤转移部位、发生率及预后 [J]. 中山大学学报(医学科学版), 2022, 43(2): 289-296.
Zhou J M, Wu X F, Wu Y H, et al. Location, pattern and prognosis of tumor metastasis in dead patients with colorectal cancer [J]. J Sun Yat Sen Univ Med Sci, 2022, 43(2): 289-296.
- [3] Dilruba S, Kalayda G V. Platinum-based drugs: Past, present and future [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2016, 77(6): 1103-1124.
- [4] McKeage M J. Lobaplatin: A new antitumour platinum drug [J]. Expert Opin Investig Drugs, 2001, 10(1): 119-128.
- [5] Kelland L R. Preclinical perspectives on platinum resistance [J]. Drugs, 2000, 59(Suppl 4): 1-8, 37-38.
- [6] Shan L N, Bai B J, Lv Y M, et al. Lobaplatin suppresses proliferation and peritoneal metastasis of colorectal cancer in a preclinical model [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 108: 486-491.
- [7] Yu J H, Li S, Qi J, et al. Cleavage of GSDME by caspase-3 determines lobaplatin-induced pyroptosis in colon cancer cells [J]. Cell Death Dis, 2019, 10(3): 193.
- [8] 黄彦珊. 2017—2020 年某院铂类药物不良反应分析 [J]. 中国处方药, 2023, 21(2): 90-93.
Huang Y S. Analysis of the adverse reactions of platinum drugs in our hospital from 2017 to 2020 [J]. J China Prescr Drug, 2023, 21(2): 90-93.
- [9] 周宏锋,张玉新,吴良平,等. 洛铂与草酸铂在联合化疗方案中毒副作用的比较 [J]. 世界华人消化杂志, 2008, 16(2): 225-227.
Zhou H F, Zhang Y X, Wu L P, et al. Comparison of adverse reactions of combination chemotherapy: Iobaplatin versus oxaliplatin [J]. World Chin J Dig, 2008,

- 16(2): 225-227.
- [10] 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.
- [11] Yoo J Y, Groer M, Dutra S V O, et al. Gut microbiota and immune system interactions [J]. *Microorganisms*, 2020, 8(10): 1587.
- [12] Hou X Y, Zhang P, Du H Z, et al. Akkermansia muciniphila potentiates the antitumor efficacy of FOLFOX in colon cancer [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 725583.
- [13] Hou X Y, Zhang P, Du H Z, et al. Prevotella contributes to individual response of FOLFOX in colon cancer [J]. *Clin Transl Med*, 2021, 11(9): e512.
- [14] Wong S H, Zhao L Y, Zhang X, et al. Gavage of fecal samples from patients with colorectal cancer promotes intestinal carcinogenesis in germ-free and conventional mice [J]. *Gastroenterology*, 2017, 153(6): 1621-1633.
- [15] Wong C C, Yu J. Gut microbiota in colorectal cancer development and therapy [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2023, 20(7): 429-452.
- [16] Iida N, Dzutsev A, Andrew Stewart C, et al. Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment [J]. *Science*, 2013, 342(6161): 967-970.
- [17] He Y, Fu L H, Li Y P, et al. Gut microbial metabolites facilitate anticancer therapy efficacy by modulating cytotoxic CD8⁺ T cell immunity [J]. *Cell Metab*, 2021, 33(5): 988-1000.e7.
- [18] He W, Xu J Z, Mu R Y, et al. High-salt diet inhibits tumour growth in mice via regulating myeloid-derived suppressor cell differentiation [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 1732.
- [19] Scirgolea C, Sottile R, De Luca M, et al. NaCl enhances CD8⁺ T cell effector functions in cancer immunotherapy [J]. *Nat Immunol*, 2024, 25(10): 1845-1857.
- [20] Fang Q, Hou X Y, Fan L M, et al. Gut microbiota derived DCA enhances FOLFOX efficacy via Ugt1a6b mediated enterohepatic circulation in colon cancer [J]. *Pharmacol Res*, 2025, 213: 107636.
- [21] Hou X Y, Li X X, Fang Q, et al. A surgical orthotopic xenograft approach with immune response for colorectal cancer research [J]. *Animal Model Exp Med*, 2025, 8(3): 558-567.
- [22] Yu Q, Lan T W, Ma Z N, et al. Lobaplatin induces apoptosis in T24 and 5637 bladder cancer cells by regulating Bcl-2 and Bax expression and inhibiting the PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Transl Androl Urol*, 2023, 12(8): 1296-1307.
- [23] Feng Y H, Huang Y L, Wang Y, et al. Antibiotics induced intestinal tight junction barrier dysfunction is associated with microbiota dysbiosis, activated NLRP3 inflammasome and autophagy [J]. *PLoS One*, 2019, 14(6): e0218384.
- [24] Wang Z N, Klipfell E, Bennett B J, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease [J]. *Nature*, 2011, 472(7341): 57-63.
- [25] Gong S H, Yan Z Z, Liu Z G, et al. Intestinal microbiota mediates the susceptibility to polymicrobial sepsis-induced liver injury by granisetron generation in mice [J]. *Hepatology*, 2019, 69(4): 1751-1767.
- [26] Tsoi H, Chu E S H, Zhang X, et al. Peptostreptococcus anaerobius induces intracellular cholesterol biosynthesis in colon cells to induce proliferation and causes dysplasia in mice [J]. *Gastroenterology*, 2017, 152(6): 1419-1433.e5.
- [27] Santangelo A, Corsello A, Spolidoro G C I, et al. The influence of ketogenic diet on gut microbiota: Potential benefits, risks and indications [J]. *Nutrients*, 2023, 15(17): 3680.
- [28] Hwang S, Yi H C, Hwang S, et al. Dietary salt administration decreases enterotoxigenic Bacteroides fragilis (ETBF)-promoted tumorigenesis via inhibition of colonic inflammation [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(21): 8034.
- [29] Fong W, Li Q, Ji F F, et al. Lactobacillus gallinarum-derived metabolites boost anti-PD1 efficacy in colorectal cancer by inhibiting regulatory T cells through modulating IDO1/Kyn/AHR axis [J]. *Gut*, 2023, 72(12): 2272-2285.
- [30] Zhang C Y, Xu C, Gao X Y, et al. Platinum-based drugs for cancer therapy and anti-tumor strategies [J]. *Theranostics*, 2022, 12(5): 2115-2132.
- [31] García-Montero C, Fraile-Martínez O, Gómez-Lahoz A M, et al. Nutritional components in western diet versus Mediterranean diet at the gut microbiota-immune system interplay. implications for health and disease [J]. *Nutrients*, 2021, 13(2): 699.
- [32] Miranda P M, De Palma G, Serkis V, et al. High salt diet exacerbates colitis in mice by decreasing Lactobacillus levels and butyrate production [J]. *Microbiome*, 2018, 6(1): 57.
- [33] Rizvi Z A, Dalal R, Sadhu S, et al. High-salt diet mediates interplay between NK cells and gut microbiota to induce potent tumor immunity [J]. *Sci Adv*, 2021, 7(37): eabg5016.
- [34] Wang Y J, Wan X H, Wu X J, et al. Eubacterium rectale contributes to colorectal cancer initiation via promoting

- colitis [J]. Gut Pathog, 2021, 13(1): 2.
- [35] Ren YM, Zhuang ZY, Xie YH, et al. BCAA-producing *Clostridium symbiosum* promotes colorectal tumorigenesis through the modulation of host cholesterol metabolism [J]. Cell Host Microbe, 2024;32(9):1519-1535.
- [36] Senthakumaran T, Moen AEF, Tannæs TM, et al. Microbial dynamics with CRC progression: a study of the mucosal microbiota at multiple sites in cancers, adenomatous polyps, and healthy controls [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2023;42(3): 305-322.
- [37] Gamage BD, Ranasinghe D, Sahankumari A, Malavige GN. Metagenomic analysis of colonic tissue and stool microbiome in patients with colorectal cancer in a South Asian population [J]. BMC Cancer. 2024;24(1):1124.
- [38] Colbert LE, El Alam MB, Wang R, et al. Tumor-resident *Lactobacillus iners* confer chemoradiation resistance through lactate-induced metabolic rewiring [J]. Cancer Cell. 2023;41(11):1945-1962.e11.
- [39] Zheng X, Cai X Y, Hao H P. Emerging targetome and signalome landscape of gut microbial metabolites [J]. Cell Metab, 2022, 34(1): 35-58.
- [40] Ma Q, Ma F, Zhang B, et al. The short peptide encoded by long non-coding RNA RNF217-AS1 inhibits stomach cancer tumorigenesis, macrophage recruitment, and pro-inflammatory responses [J]. Amino Acids, 2024, 56(1): 45.
- [41] Song F F, Zhang Z T, Liu W F, et al. Peptide transporter 1-mediated dipeptide transport promotes hepatocellular carcinoma metastasis by activating MAP4K4/G3BP2 signaling axis [J]. Adv Sci (Weinh), 2024, 11(24): e2306671.
- [42] Yan R H, Zhang P G, Shen S Q, et al. Carnosine regulation of intracellular pH homeostasis promotes lysosome-dependent tumor immunoevasion [J]. Nat Immunol, 2024, 25(3): 483-495.
- [43] Hsieh S L, Hsieh S, Lai P Y, et al. Carnosine suppresses human colorectal cell migration and intravasation by regulating EMT and MMP expression [J]. Am J Chin Med, 2019, 47(2): 477-494.
- [44] Li J K, Li J, Wang H, et al. Tyrosine and glutamine-leucine are metabolic markers of early-stage colorectal cancers [J]. Gastroenterology, 2019, 157(1): 257-259.e5.
- [45] Fang Q, Hou X Y, Fan L M, et al. Gut microbiota derived DCA enhances FOLFOX efficacy via Ugt1a6b mediated enterohepatic circulation in colon cancer [J]. Pharmacol Res, 2025, 213: 107636.
- [46] Khandekar D, Dahunsi D O, Manzanera Esteve I V, et al. Low-salt diet reduces anti-CTLA4 mediated systemic immune-related adverse events while retaining therapeutic efficacy against breast cancer [J]. Biology (Basel), 2022, 11(6): 810.
- [47] Deng K, Shen J W, Wang W, et al. Sodium chloride (NaCl) potentiates digoxin-induced anti-tumor activity in small cell lung cancer [J]. Cancer Biol Ther, 2019, 20(1): 52-64.
- [48] Coker O O, Wu W K K, Wong S H, et al. Altered Gut Archaea Composition and Interaction With Bacteria Are Associated With Colorectal Cancer [J]. Gastroenterology, 2020, 159(4): 1459-1470.

[责任编辑 兰新新]