

无菌动物模型在结直肠癌及中医药研究中的应用进展

钱紫星^{1,2}, 李家旋^{1,2}, 饶显俊², 黄国栋², 刘然², 魏玮^{1,2*}

(1. 湖北中医药大学, 湖北 武汉 430065;

2. 中国中医科学院 望京医院, 北京 100102)

摘要 结直肠癌(CRC)是全球高发的恶性肿瘤,其发生发展与肠道菌群紊乱密切相关。无菌(GF)动物模型通过提供无固有微生物的独特环境,成为精准解析肠道菌群在CRC发生、发展中因果作用及药物疗效机制的工具。该综述旨在系统阐述GF动物模型在CRC研究中的应用进展,重点总结利用该模型揭示的特定微生物促进CRC发生发展的关键机制。同时聚焦中医药在该领域的研究动态,系统阐述GF动物模型在中医药抗CRC研究中的应用。通过对CRC无菌动物模型的深入解析,未来可能开发出基于中医药、微生物组的精准诊断和治疗策略,为CRC的防治提供新的方向和思路。

关键词 无菌动物; 肠道菌群; 中医药; 结直肠癌

Application progress of germ-free animal models in colorectal cancer and traditional Chinese medicine research

QIAN Zi-xing^{1,2}, LI Jia-xuan^{1,2}, RAO Xian-jun², HUANG Guo-dong², LIU Ran², WEI Wei^{1,2*}

(1. Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China;

2. Wangjing Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100102, China)

[Abstract] Colorectal cancer (CRC) is a highly prevalent malignant tumor worldwide, and its occurrence and development are closely related to gut microbiota disturbance. The germ-free (GF) animal model, by providing a unique environment free of indigenous microorganisms, has become a tool for precisely dissecting the causal role and mechanism of the gut microbiota in the occurrence and development of CRC and the therapeutic mechanisms of pharmaceuticals. This review aims to systematically elaborate on the application progress of GF animal models in CRC research, with a focus on the key mechanisms by which specific microorganisms promote the occurrence and development of CRC revealed by this model. Furthermore, this review focuses on the research dynamics of TCM in this field and systematically expounds the application of GF models in the research of TCM against CRC. Through in-depth analysis of the GF animal models of CRC, it is possible to develop precise diagnostic and therapeutic strategies based on TCM and the microbiome in the future, providing new directions and ideas for the prevention and treatment of CRC.

[Key words] germ-free animals; gut microbiota; traditional Chinese medicine; colorectal cancer

DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20251011.708

结直肠癌是全球最常见的癌症之一,也是癌症相关死亡的第二大原因^[1]。随着经济发展和生活方式的改变,结直肠癌的发病率在全球范围内持续上升,特别是在发展中国家中尤为显著^[2-3]。传统的风险因素包括高脂饮食,红肉和加工肉摄入,吸烟,饮酒,肥胖,久坐,缺乏膳食纤维和运动等^[4-5]。

近年来的研究逐渐揭示了肠道微生物组在结直肠癌发生发展中的关键作用^[6]。肠道微生物组是由数万亿个微生物(包括细菌、病毒、真菌等)组成的复杂生态系统,这些微生物与人类宿主共同进化数百万年,维持着共生关系。正常情况下,肠道微生物组参与宿主的消化、代谢、免疫调节等重要生

收稿日期 2025-09-17

基金项目 国家中医药传承创新团队项目(ZYYCXTD-C-202210);国家自然科学基金区域创新发展联合基金项目(U22A20375);北京市重大疑难疾病中西医协同攻关项目(2023BJSZDYNJBXTGG-016)

通信作者 * 魏玮,主任医师,教授,博士生导师,主要从事中医药防治消化系统疾病研究,E-mail: sxxyt@sina.com

作者简介 钱紫星,博士研究生,主要从事中医药防治消化系统疾病研究,E-mail: qianzixing0@163.com

理过程,其中细菌是研究最多的组成部分^[1]。肠道微生物组可以分为有益菌、有害菌和共生菌,它们之间的平衡对维持宿主健康至关重要。一旦这种平衡被打破,导致肠道微生物组失调,便可能与多种疾病相关,包括炎症性肠病和肠道肿瘤^[2]。因此,深入探讨肠道微生物组在结直肠癌中的作用,对于揭示其发病机制并开发新的预防和治疗策略具有重要意义。

无菌(GF)动物是从出生起就在完全无菌环境中饲养的动物,体内没有任何微生物(包括细菌、病毒、真菌和寄生虫),是研究宿主与微生物相互作用的重要实验工具^[3]。作为菌群-宿主互作研究的“金标准”工具,GF动物能够消除固有菌群的干扰,为研究菌群功能及药物机制提供精确的实验平台。中医药作为复杂系统医学的典型范例,具备多成分、多靶点以及整体调节作用的特征,但传统动物模型在中医药研究领域却存在诸多不足。一方面,中药的众多有效成分大多需要经由肠道菌群“再炮制”后才能被激活,肠道菌群将低生物利用度的化学成分转化为更易吸收的潜在活性代谢物^[10-11],而常规的动物模型难以甄别药效物质是否为菌群代谢之后所产生的物质;另一方面,中医证候的本质极有可能涉及菌群生态的失衡,但现有的模型很难模拟“微生物-宿主共病”的复杂状态;更为关键的是,传统研究模式在阐释中药作用机制时,常常受到肠道菌群动态变化的制约,再加上菌群结构在个体之间存在差异,使得药效评估的重现性面临巨大挑战。GF动物模型的出现,提供了中药及其活性成分与菌群互作研究的纯净平台,有力地推动了中医药研究的范式转变。本综述将总结该领域的最新研究进展,重点关注GF动物模型在揭示肠道微生物组、中医药与结直肠癌关系中的应用,为靶向菌群的精准防治提供理论基石。

1 GF动物模型的构建与特点

1.1 GF动物模型简介与技术要点 在结直肠癌的菌群研究中,GF动物模型因其独特的生物学特性成为不可或缺的研究工具。GF动物是在严格GF环境下繁育和饲养、体内无可检测微生物的实验动物,主要包括小鼠、大鼠、斑马鱼等模型^[12]。其中,由于小鼠基因组的高度可编辑性及丰富的遗传资源(如转基因和基因敲除模型),成为结直肠癌菌群研究的首选动物模型。GF动物通常通过剖宫产将新生动物取出,避免接触母体和环境微生物,然后在无菌隔离器中饲养^[13],依赖于高度专业化的隔离器技术,通过严格的无菌环境控制来维持其无微生物状态,包括空气过滤系统、无菌饲料及饮水的供给。此外,定期16S rRNA测序和培养法等微生物监测是确保动物GF状态的关键环节^[14]。

1.2 结直肠癌GF动物模型的构建与应用 结直肠癌GF动物模型的构建是研究肠道微生物与肿瘤发生关系的重要手段。目前常用方法包括:①将结直肠癌患者或健康人的粪便移植到GF小鼠体内,构建更接近人体免疫和微生物环境的人源化GF小鼠模型^[15];②将化学诱导与粪菌移植结合使

用,先用致癌剂处理小鼠,再移植粪便,进一步提高肿瘤发生率^[16];③利用基因编辑或转基因技术,编辑GF小鼠的Apc等肿瘤相关基因,诱导肿瘤形成^[17-18];④通过化学诱导或基因编辑构建常规结直肠癌模型后,予以抗生素进行菌群清除,构建伪无菌结直肠癌动物模型^[19]。

在实验设计上,菌群移植技术是结直肠癌GF动物模型的核心应用之一。通过单菌或多菌定植,研究者可精确解析特定菌群在肿瘤发生中的作用机制。通过将结直肠癌患者或健康个体的粪便菌群移植至GF小鼠肠道,模拟人类肠道微生物生态的复杂性,进而探讨菌群失调与肿瘤发生的关联性^[20]。研究表明,在缺乏肠道微生物组的条件下,GF动物对化学诱导的结直肠癌表现出较强的抵抗性,提示肠道微生物组在结直肠癌的致癌过程中起着不可或缺的作用。通过将来自结直肠癌患者或动物模型的特定细菌移植到GF中,成功鉴定了具有致癌性的细菌^[21]。此外,GF动物模型与经典结直肠癌动物模型的结合,为揭示菌群-宿主互作机制提供了重要平台。化学诱导模型氧化偶氮甲烷/葡聚糖硫酸钠(AOM/DSS)在GF条件下的应用,可排除内源性菌群的干扰,明确特定菌群在炎症-癌变转化中的作用。由于GF动物缺乏微生物刺激,其免疫系统发育不全,这使得研究者能够更精确地解析微生物组如何调控免疫响应,从而影响癌症的发生和发展^[22]。基因工程模型的Apc^{min/+}小鼠在GF环境中的研究则进一步揭示了微生物如何通过Wnt/ β -catenin等信号通路影响肿瘤发生。研究表明,Apc突变小鼠在常规饲养条件下易发生肠道肿瘤,而在GF状态下肿瘤负荷显著降低,这一现象直接证实了肠道菌群在结直肠癌发生中的驱动作用^[23]。

近年来,随着基因组学和元基因组学的快速发展,研究者能够更深入地理解肠道微生物组的组成和功能特性。将这些先进的技术与GF动物模型相结合,不仅能够揭示肠道微生物组在结直肠癌中的精确作用机制,还为开发基于微生物组的诊断生物标志物和治疗策略提供了新的思路。通过调节肠道微生物组的组成或使用益生菌、粪便微生物移植(FMT)等手段,可能成为未来结直肠癌预防和治疗创新策略^[24-25]。

1.3 GF动物模型的技术优势与局限性评估 GF动物模型在结直肠癌菌群研究中展现出显著的技术优势。首先,其最突出的价值在于能够确立微生物与疾病的因果关系。由于GF动物完全缺乏内源性菌群,研究者可通过可控的菌群定植实验,明确特定菌种或菌群对肿瘤发生的贡献。其次,GF动物模型的菌群可控性极高,允许研究者精准操纵微生物组成,从而解析菌群-宿主互作的分子机制。可通过比较单菌定植与多菌共定植的GF小鼠,揭示微生物间的协同或拮抗作用^[26]。此外,GF动物模型的背景干扰极低,能够排除复杂菌群环境的混杂因素,适用于药效学解析,尤其是药物-肠道菌群-宿主之间的复杂相互关系^[27]。

然而,GF 动物模型亦存在不容忽视的局限性。首要问题在于其生理与免疫发育的异常。GF 动物因缺乏微生物刺激,免疫相关基因表达下调,B 细胞、T 细胞、浆细胞等免疫细胞数量减少,脾脏和肠系膜淋巴结发育不良,IgA 分泌呈现幼稚状态,这些异常可能影响对疾病、药物等外界刺激的反应能力^[28-29],导致研究结论外推至常规动物或人类受限。其次,GF 动物模型的建立与维持成本高昂,需依赖专业的 GF 隔离设施及严格的微生物监测,限制了其大规模应用。更为重要的是,GF 动物模型难以完全模拟人体复杂的菌群生态系统。人体肠道菌群包含数千种微生物,其互作网络极为复杂,通过移植人类粪菌或特定菌群,可部分重建人类菌群特征,但仍无法完全复制人体生态系统,可能导致研究结论的简化^[30-31]。

2 基于 GF 动物模型的肠道菌群影响结直肠癌机制研究

2.1 调控宿主免疫反应 肠道菌群通过调控宿主免疫反应在结直肠癌的发生与发展中扮演着重要角色。特定的肠道菌群能够通过激活或抑制免疫细胞,影响肿瘤微环境的免疫状态,从而促进或抑制肿瘤的发展。研究者将结直肠癌患者和健康个体的粪便样本喂给无菌小鼠,结直肠癌患者的粪便会增加息肉数量,提高增殖细胞(Ki-67 阳性)比例,升高 C-X-C 基序趋化因子受体 1(CXCL1)、CXCL2、白细胞介素(IL)17A、IL22 和 IL23A,提高结肠中 Th1 和 Th17 细胞的比例,表明结直肠癌患者的粪便微生物群可以促进无菌小鼠肿瘤发生及免疫紊乱^[32]。研究显示,粪便中微小单胞菌 *Parvimonas micra* 的丰度被确认为结直肠癌患者生存率低的独立风险因素。将 *Parvimonas micra* 移植到无菌 $Apc^{min/+}$ 小鼠中,能显著促进结肠细胞增殖,上调参与细胞增殖(*Tbx2*、*Mki67* 等)、干性(*Sirt1*、*Bmi1*)、血管生成(*Pgf*、*Tek* 等)和侵袭性/转移(*Cdh2*、*Foxc2* 等)基因,通过增加 Th17 细胞的浸润及其分泌的 IL17、IL22 和 IL23,促进结肠癌细胞的增殖^[33]。幽门螺杆菌感染不仅是胃癌的主要致病因子,研究也发现感染者的结直肠癌发病风险增加了约 1 倍。通过 GF 条件下的 $Apc^{min/+}$ 小鼠模型,幽门螺杆菌感染可激活肠道免疫反应,减少调节性 T 细胞和促炎 T 细胞,导致 Treg 细胞向 IL17A⁺ 的 Th17 表型转化,诱导促癌 STAT3 信号通路和杯状细胞丢失,促进结直肠癌的发展^[33]。研究还发现,在无菌 $Apc^{min/+}$ 小鼠中,产毒型艰难梭菌菌株 *Clostridioides difficile* 能够驱动结肠肿瘤的形成,尤其是其毒素 TcdB,其机制涉及 Wnt 信号通路的激活、活性氧(ROS)的产生以及 IL17 分泌和髓系细胞浸润。艰难梭菌在低丰度下仍能驱动肿瘤发生,且其促癌作用依赖于持续的毒素暴露^[34]。

2.2 调节菌群代谢产物 在结直肠癌的发生发展中,肠道微生物群相关代谢产物起着重要作用,其中胆汁酸代谢占据重要地位。早有研究发现,脱氧胆酸盐(DC)作为次级胆汁酸,可显著增加 MNNG 诱导的 GF 大鼠结肠腺癌的数量,而单独给予 DC 的 GF 大鼠的结肠中没有肿瘤,表明 DC 对大鼠

结肠癌变具有促进作用^[35]。吸烟是结直肠癌的重要危险因素之一。研究发现,吸烟暴露小鼠的粪便中二级胆汁酸(如牛磺脱氧胆酸、TDCA)水平显著升高,移植吸烟暴露小鼠的肠道菌群到无菌小鼠中,表现出 TDCA 升高和 MAPK/ERK 信号通路的激活,细胞增殖标志物如 Ki-67 和 PCNA 的表达升高。吸烟暴露还会损伤小鼠的肠道屏障功能,进一步为有害代谢产物进入结肠上皮细胞提供通道,激活致癌信号通路^[36]。

不同饮食模式下的肠道微生物代谢产物与结直肠癌风险也密切相关。通过给 *Apc* 突变的 PIRC 大鼠和 AOM 诱导的大鼠喂食高风险红肉/加工肉类饮食(MBD)、添加 α -生育酚的正常风险饮食(MBDT)、低风险鱼素饮食(PVD)及对照饮食(CTR),并将其粪便菌群移植至无菌小鼠,发现 PVD 显著降低结肠癌发生风险,而 MBD 增加风险,证明饮食相关的癌症风险可通过粪便传递,肠道菌群是饮食相关结直肠癌风险的关键决定因素,且 PVD 组富含多酚等植物代谢物,相关菌群(*Lachnospiraceae*、*Prevotellaceae* 等)与非结合胆汁酸(NCBAs)呈负相关,可能是其保护作用的机制之一^[37]。另外,接受黑米饮食粪菌移植的小鼠肠道屏障功能更加完整,血清中脂多糖(LPS)水平显著降低,结肠紧密连接蛋白 ZO-1、Occludin 和 Claudin-3 的表达增加,抗炎因子 IL4 和 IL10 水平升高,促炎因子 TNF- α 和 IL6 水平降低。代谢组学分析进一步表明,黑米饲料组小鼠的粪便中色氨酸及其代谢产物吲哚和吲哚-3-乳酸水平升高,激活 AhR 信号通路并抑制结直肠癌细胞增殖,从而发挥抗癌作用^[38]。膳食纤维,尤其是来自蔬菜、果实和全谷物的膳食纤维,被认为有助于肠道健康,并能降低结直肠癌风险,分为可溶性(如菊粉、瓜尔胶可被菌群发酵)和不可溶性(如纤维素难发酵)。然而,膳食纤维在结直肠癌中的作用并非绝对“有益”,而是取决于其类型、剂量以及与肠道菌群和代谢物的相互作用。研究表明,膳食高可溶性纤维可能促进结直肠癌的发生。在 AOM 处理的 $Apc^{min/+}$ 小鼠模型中,膳食高可溶性纤维显著增加了粪便中丁酸盐和血清中的胆汁酸水平,假长双歧杆菌产生的肌苷减少,促进肿瘤发展。而抗生素处理可消除该促肿瘤作用,粪菌移植至 GF 小鼠中则可加速肿瘤生长^[39]。

近年来,益生菌疗法调节肠道菌群以改善肿瘤微生态环境的治疗策略在结直肠癌的治疗中逐渐受到关注。这类策略通过恢复肠道菌群平衡,调节代谢产物,激活宿主的抗肿瘤免疫反应,能够有效降低肿瘤的发生与发展。*Akkermansia muciniphila* 是一种定植于肠道黏液层的益生菌,与多种代谢性疾病(如肥胖、2 型糖尿病、非酒精性脂肪肝等)和炎症性疾病(如炎症性肠病)密切相关,并展现出改善这些疾病的潜力^[40-41]。*Akkermansia muciniphila* 通过降低色氨酸的摄取和代谢,抑制色氨酸介导的芳基羟受体(AhR)激活,进而阻断 Wnt/ β -catenin 信号通路(下调 β -catenin、TCF4、LEF1 等关键分子),减少肿瘤细胞增殖,从而抑制结直肠癌进展^[42]。

2.3 调节肠道屏障功能 肠道菌群在维持肠道屏障功能中发挥关键作用,其失调可能导致屏障功能受损,引起菌群易位,从而增加结直肠癌的风险。肥胖是结直肠癌的独立危险因素,将肥胖个体与正常个体的粪便分别移植到无菌小鼠中,发现肥胖者粪便可显著增加小鼠结肠肿瘤数量和负荷,导致黏液层变薄,紧密连接变宽,下调 ZO-1 表达,上调 Claudin-2, Ki-67 和 PCNA 阳性细胞比例增加,激活 Wnt 信号通路。进一步研究表明,无菌小鼠中肥胖者粪便组的潜在致病菌 *Alistipes finegoldii* 丰度增加,而有益菌 *Bacteroides vulgatus* 和 *Akkermansia muciniphila* 丰度降低^[43]。高脂饮食(HFD)作为 CR 的重要危险因素,已被广泛研究,尤其是在肠道菌群和代谢物的调控作用下。研究发现 HFD 可增加结直肠肿瘤数量和体积,富集致病菌 *Alistipes finegoldii*,减少有益菌如 *Parabacteroides distasonis* 丰度,代谢组分析显示,HFD 组溶血磷脂酸(LPA)和溶血磷脂酰胆碱(LPC)显著升高。利用抗生素处理的伪无菌小鼠验证肠道菌群在 HFD 引起的肠道肿瘤形成中的作用,结果显示其减轻了 HFD 引起的肠道肿瘤形成。FMT 实验发现接受 HFD 来源肠道菌群的无菌小鼠结肠细胞增殖增加,细胞间连接蛋白如 E-cadherin 和 Claudin-3 表达下降,这进一步证明了肠道菌群在 HFD 引起的肠道肿瘤发生中的关键作用^[44]。长期慢性溃疡性结肠炎(UC)是结直肠癌结直肠癌的诱发因素,SOUZA E 等^[45]利用 DSS 构建 GF 小鼠 UC 模型后,予以大肠杆菌 Nissle 1917 灌胃,结果显示其可明显减少菌群易位,且肠黏膜免疫屏障相关的 IgA 水平得到恢复。

2.4 影响宿主表观遗传修饰 肠道微生物通过多种机制调控宿主的生理和病理状态,尤其是通过影响肿瘤抑制基因的表观遗传修饰(特别是 DNA 甲基化),来促进结直肠癌的发生与发展。ANSARI I 等^[46]通过比较常规和 GF 小鼠,发现微生物群暴露可诱导肠道上皮细胞调控元件的局部 DNA 甲基化变化,该变化依赖 TET2/3 酶,激活“早期哨兵”响应基因(如 IFITM3、NOS2、PLA2G2A)以维持肠道稳态,在 DSS 处理后,无菌小鼠因缺乏这些表观遗传变化,无法激活这些基因,故对 DSS 诱导的炎症更敏感。一项人群队列研究显示,Wif1、PENK、NPY 的甲基化指数(CMI)在结直肠癌患者中显著更高,将其粪便移植到无菌小鼠后发现,结直肠癌相关菌群使小鼠结肠黏膜中 SFRP1-3、PENK、NPY、WIF1 等发生高甲基化,并导致如异常隐窝灶等癌前病变^[47]。XIA X 等^[48]通过对结直肠癌及其邻近组织研究发现,具核梭杆菌 *Fusobacterium nucleatum* 和 *Hathewayi hungatella* 是主要的甲基化调节细菌,它们通过上调 DNA 甲基转移酶(DNMT)导致 TSGs 启动子高甲基化,在 GF 小鼠中,*Hathewayi hungatella* 处理后结肠 Ki-67 阳性细胞比例显著升高,且 DNMT1 和 DNMT3A 表达上调。因此,肠道菌群通过表观遗传调控,尤其是 DNA 甲基化,发挥着影响结直肠癌发展的重要作用。相关表见中国知网本文增强出版附加材料。

3 基于 GF 动物模型的中医药防治结直肠癌研究进展

中医药与肠道菌群的深度互作关系,在结直肠癌防治领域展现出独特优势和潜力,但其作用机制研究长期受困于传统动物模型中复杂且易变的肠道菌群背景。GF 动物模型的无菌空白背景消除了内源性菌群的干扰,使得研究者精准鉴定中药原形成分与其菌群代谢产物各自的贡献,解决药效物质不清难题。其次,通过人源化菌群移植,尤其是移植特定中医证型患者的菌群,GF 动物模型可部分模拟“菌群-证候-疾病”的复杂关联,为中医证候的微生物学本质研究提供了工具。另外,该模型极大提升了药效评价的重现性,通过控制菌群变量,明确了中医药通过调控特定菌群及其代谢产物从而影响免疫微环境、屏障功能及表观遗传修饰的核心机制。因此,GF 动物模型不仅验证了肠道菌群是中医药发挥疗效的重要媒介,更推动中医药抗结直肠癌研究从“相关性”向“因果性”跨越,实现了研究范式的转变,相关表见中国知网本文增强出版附加材料。

3.1 中药复方 研究表明^[49],采用 FMT,将健康人群的肠道菌群与结直肠癌特异性菌群分别移植到 GF 小鼠中,结果显示健康菌群能显著增强小鼠体内的 CD3⁺CD4⁺ 和 CD3⁺CD8⁺T 细胞的表达,而肠癌相关菌群的定植则导致免疫水平下降,表明肠道菌群对免疫系统有显著影响。近年来众多研究证据表明中药复方可通过调节肠道菌群改善结直肠癌免疫微环境发挥抗肿瘤效应。补地参连方被发现能够通过调节肠道菌群和肿瘤相关巨噬细胞的表型转换,显著增加 M1 型 TAMs 比例,降低 M2 型 TAMs 比例,从而改善肠道免疫抑制微环境。通过 FMT 证实,补地参连方治疗后的鼠粪菌液可模拟直接给药的效果,提示肠道菌群的改变可能是补地参连方调节 TAMs 表型转换的重要媒介,二者在抗结直肠癌过程中存在相关性^[50]。仙连解毒方则通过清热解毒、活血化瘀等作用,不仅抑制肿瘤的生长,还改善 CD8⁺T 细胞在肿瘤组织中的浸润,并增强肠道菌群多样性,促进益生菌的丰度增加,抑制致病菌的生长,FMT 证实仙连解毒方治疗后的粪菌可抑制肿瘤生长,调节菌群并增强 CD8⁺T 细胞免疫反应,进而增强抗肿瘤免疫反应^[51]。

此外,中药可通过调节肠道相关代谢产物发挥疗效,尤其以短链脂肪酸、胆汁酸相关代谢研究较深。片仔癀(PZH)是一种传统中成药,被广泛用于抗炎和抗肿瘤研究。基于 AOM/DSS 诱导的结直肠癌模型和 Apc^{min/+} 小鼠模型研究发现,PZH 能够显著增加有益细菌 *Pseudobutyribrio xylophilus* 和 *Eubacterium limosum* 的丰度,增加紧密连接蛋白 E-cadherin、ZO-1、Occludin 表达,并通过牛磺酸、胆汁酸等代谢产物抑制致病菌的生长。将 PZH 处理小鼠的粪便菌群移植给 GF 结直肠癌小鼠,可部分重现肿瘤抑制效果,表明 PZH 的抗癌作用部分依赖于微生物群,进一步用 PZH 干预伪无菌结直肠癌小鼠,发现其仍可抑制结肠细胞增殖,表明菌群非依赖的直接的化学预防作用^[52]。传统中药方剂香连丸

(XLP) 通过调节菌群相关胆汁酸代谢,降低脱氧胆酸(DCA),进而抑制TLR4/MyD88炎症通路,减少IL6、TNF- α 和M1巨噬细胞浸润,而在伪无菌小鼠模型中XLP无显著抗肿瘤作用。同时,补充DCA可促进肿瘤发生、加剧炎症和肠道损伤,证实XLP的抗癌作用依赖肠道菌群及其代谢物^[53]。

关于结直肠癌中医证型与菌群关系的研究发现,湿热证结直肠癌患者的肠道菌群与无典型证候的患者有所不同,湿热证患者肠道内致病菌大肠志贺杆菌属和别样杆菌属的丰度增加^[54]。将其移植到伪无菌小鼠中,能显著诱导DCs和CD4⁺T细胞数量的增加,IFN- γ 、IL17A免疫反应细胞因子水平升高,促进结直肠癌的发生^[55]。清热祛湿类方药纠正“湿热证”菌群紊乱效应机制,也为其提供了微观层面的现代化诠释。薏苡附子败酱散作为经典的中药方剂,临床常应用于湿热证型的结直肠癌患者。以抗生素处理的Apc^{min/+}伪无菌小鼠为研究对象,通过粪菌移植发现其能显著抑制结直肠癌的形成,增强有益菌*Bifidobacterium*和*Lactobacillus*的丰度,抑制脆弱拟杆菌*Bacteroides fragilis*等潜在有害菌的生长,并减少CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺Treg细胞在肠道和外周免疫器官的积累,减轻免疫抑制状态,降低IL6、IL10等免疫抑制因子的表达,从而抑制肿瘤细胞的生长和 β -catenin信号通路的激活,促进抗肿瘤免疫反应^[56]。*Bacteroides fragilis*作为一种常见的肠道共生菌,其与肠道炎症反应及肿瘤免疫微环境密切相关。在伪无菌AOM/DSS小鼠模型中,恢复*Bacteroides fragilis*的菌群后,肠道肿瘤发生显著加剧,其机制可能与该菌激活肿瘤相关巨噬细胞(TAMs)并促进M2型极化有关。M2型巨噬细胞通常与肿瘤免疫抑制微环境相关,通过分泌IL6和TGF- β 等因子,促进肿瘤的生长与转移^[57]。

3.2 中药活性成分 小檗碱(BBR)是一种异喹啉生物碱,已被证实可抑制结直肠癌,但因其生物利用度低,推测其可能通过调节肠道菌群发挥作用。研究发现BBR可显著减少肠道肿瘤发生,增加*Roseburia*、*Eubacterium*等有益菌丰度,降低*Odoribacter*、*Muribaculum*等有害菌丰度^[58],FMT实验显示,BBR处理小鼠的粪便可减少息肉数量、抑制 β -catenin、PCNA等致癌因子表达,并下调IL1、TNF- α 等炎症因子及NF- κ B通路活性。代谢组学研究显示小檗碱治疗结肠炎相关结直肠癌小鼠可升高粪便中丁酸、乙酸和丙酸水平,降低粪便中的LPS含量,并抑制TLR4/p-NF- κ B p65/IL6/p-STAT3炎症癌变通路。FMT结果进一步证实,小檗碱处理的肠道菌群足以缓解小鼠结肠炎相关肿瘤的发生^[59]。此外,对高脂饮食相关结直肠癌的研究显示,BBR可显著降低HFD喂养的AOM/DSS诱导结直肠癌模型小鼠的结肠息肉数量,改善肠道屏障损伤,抑制Wnt/IL6/STAT3致癌通路;降低LPC水平(LPC可促进结直肠癌细胞增殖并损伤细胞连接)。肠道菌群耗竭后BBR的抗肿瘤作用消失,而移植BBR处理的肠道菌群可重现其抑制效果,表明BBR通过调节肠道菌群介导的LPC水平抑制HFD相关结直肠癌^[60]。

松果菊苷(ECH)是一种从肉苁蓉、松果菊等植物中提取的苯乙醇苷类化合物,具有抗氧化、免疫调节作用。研究发现ECH以剂量依赖方式在体内抑制结直肠癌肝转移,可促进产SCFAs细菌(如*Faecalibacterium prausnitzii*)的生长,增加SCFAs,尤其是丁酸盐水平,进而抑制PI3K/AKT信号通路并逆转上皮间质转化,最终发挥抗转移功效。用抗生素清除模型小鼠肠道菌群后,ECH的抗转移作用消失,移植ECH处理组小鼠粪便菌群的伪无菌小鼠肝转移程度显著低于移植模型组菌群的小鼠^[61],证实肠道菌群的关键媒介作用。

3.3 联合用药 PD-1疗法是当前备受瞩目的抗癌免疫疗法,其利用人体自身的免疫系统抵御癌症,具有治疗多种类型肿瘤的潜力^[62]。芪珍汤联合PD-1抑制剂可诱导Th1/Th2向Th1漂移,激活效应T细胞并改善结直肠癌的预后,其机制可能是通过增加肠道中*Akkermansia*的丰度,促进树突状细胞成熟,成熟的DC细胞释放IL12,进而激活IL12/JAK2/STAT4通路,显著增强效应T细胞(CD8⁺CCR7⁻CD62L⁻)的活性,最终提高PD-1抑制剂对结直肠癌的治疗敏感性^[63]。*Akkermansia*可显著促进结直肠癌小鼠肠道DCs的成熟,并通过上调共刺激分子CD80、CD86的表达,增强IL12分泌,进而通过Janus蛋白酪氨酸激酶(JAK)/STAT信号通路重塑抗肿瘤免疫微环境,延缓肿瘤的进程。芪珍汤联合*Akkermansia*干预在改善结直肠癌小鼠体质量增长、增加结肠长度、减少肿瘤个数方面效果更显著;可进一步提高血清IL12、IL18、IFN- γ 水平,提高脾细胞中CD4与CD8的比值,增强免疫激活效果,显示出协同增效作用^[64]。

以AOM/DSS诱导的结肠炎相关结直肠癌小鼠为模型,发现肠胃清方(CWQ)联合PD-1抑制剂治疗可通过增加*Limosilactobacillus*、*Bifidobacterium*等益生菌,减少*Desulfovibrio*等致病菌,改善肠上皮细胞结构、增强紧密连接和黏附连接相关基因表达及下调NF- κ B信号通路相关代谢物,显著抑制结直肠癌的发生发展。移植联合治疗组粪菌的小鼠,其肿瘤数量显著低于移植对照组粪菌的小鼠,肠黏膜结构更完整^[65]。也有学者发现,CWQ可增强抗PD-1抗体的抗肿瘤作用,其核心机制为CWQ联合PD-1抑制剂可增加肠道中*Akkermansia*、*Firmicutes*、*Actinobacteria*的丰度,减少*Bacteroides*,同时增加肿瘤中CD8⁺、PD-1⁺CD8⁺T细胞的浸润,上调PD-L1蛋白表达,最终增强PD-1抗肿瘤效果,实现调节肠道菌群和肿瘤免疫微环境的协同作用^[66]。

4 总结与展望

近年来,肠道菌群作为结直肠癌发生发展的重要参与者受到广泛关注。肠道菌群不仅在宿主免疫调节、代谢稳态、炎症应答等方面发挥核心作用,更通过代谢产物、信号通路和炎症介质等途径深度介入结直肠癌的发生与演进。传统中医药在长期的临床实践中已展现出良好的抗结直肠癌潜力,其“整体观”与“辨证论治”理念与肠道菌群“稳态-失衡”机制具有高度契合性。因此,围绕“中医药-肠道菌群-结直肠

癌”的三角关系构建科学研究体系^[6],正成为中医药学与微生态医学发展的前沿方向。

已有研究显示,某些致病菌株如具核梭杆菌 *Fusobacterium nucleatum*^[6]、产肠毒素型脆弱拟杆菌 *Bacteroides fragilis*^[6] 及 *pks*⁺ 大肠杆菌 *pks*⁺ *Escherichia coli*^[7] 在结肠癌中富集,能促进炎症微环境、免疫逃逸和上皮细胞的癌变过程。相反,益生菌如 *Bifidobacterium*、*Lactobacillus* 等则能通过调节 Wnt/ β -catenin、TLRs 和 NLRs 等关键通路、产生短链脂肪酸、促进 Treg 细胞稳态等途径,实现抗炎、抗癌、辅助免疫治疗等效果^[71-73]。众多研究证实中药或其有效成分如葛根苓连汤^[74]、乌梅丸^[75]、黄芩苷^[76]、人参皂苷 Rh₄^[77] 等均可通过调节肠道菌群结构、重塑微生态平衡,从而实现抑癌作用。然而,目前许多研究仍仅停留在揭示中药与菌群调节之间的相关性,尚缺乏足够证据证明菌群是中医药发挥疗效的关键媒介。中药成分复杂、作用靶点多样,机制验证需依托组学整合分析、单菌单药干预实验等多维手段。并且肠道菌群受饮食、环境、基因等多因素影响,常规动物模型的可重复性和外推性仍有限。

GF 动物模型作为研究“宿主-菌群-药物”三者互作关系的理想工具,在肿瘤微生态及中医药机制研究中展现出独特优势。一方面,GF 动物模型可排除外源菌群干扰,揭示中药活性成分直接作用机制;另一方面,联合 FMT 或特定菌群定殖模型可系统分析特定菌群在中药干预过程中的桥梁作用。此外,GF 动物模型还可用于验证药物对免疫系统发育、黏膜屏障修复和代谢稳态的整体调控功能,是评估中医药肠道靶向作用的关键平台。然而 GF 动物模型因与常规动物存在显著生理、免疫和代谢差异,限制了其研究结论向人类转化的普适性。GF 动物免疫系统发育不全,且缺乏微生物代谢影响,导致其免疫反应和代谢通路难以反映人体真实情况。此外,该模型无法充分模拟人体肠道菌群的复杂性和动态互动,菌群移植后可能难以维持原始组成和功能。并且无菌设施成本高昂、操作繁琐,实验标准不统一,且结直肠癌涉及菌群、宿主遗传、免疫、代谢等多层次复杂互动,需更系统化的研究方法。因此,亟需开发更贴近人体的模型并与常规动物交叉验证。

随着肠道微生物学、分子生物学及人工智能等技术的发展,中医药在结直肠癌防治中的深入应用与转化,仍需加强探索。首先,应加强中药活性成分与肠道菌群相互作用的系统解析。当前研究多集中于单一成分、有限菌属,未来可通过宏基因组测序、代谢组学与网络药理学联合分析,揭示中药成分如何被肠道菌群转化利用,以及中药如何重塑菌群结构与功能。其次,构建标准化、个体化的动物模型与临床研究平台至关重要。目前开发的 GF 动物模型与人源化菌群移植模型为研究中医药与菌群交互提供了高度可控的工具,但仍需与患者队列、真实世界数据相结合,推动研究从动物实验走向临床转化。此外,应关注新兴治疗策略在中医药联合

治疗中的应用潜力。近年来肠道菌群被证实可显著影响免疫检查点抑制剂、化疗、放疗等治疗效果,为中医药联合现代治疗方案提供了新契机。未来可围绕“中药+免疫治疗”“中药+肠道靶向递药系统”等开展系统研究,形成协同增效新范式。

参考文献

- [1] SAWICKI T, RUSZKOWSKA M, DANIELEWICZ A, et al. A review of colorectal cancer in terms of epidemiology, risk factors, development, symptoms and diagnosis [J]. Cancers (Basel), 2021,13(9):2025.
- [2] ENG C, YOSHINO T, RUIZ-GARCIA E, et al. Colorectal cancer [J]. Lancet, 2024,404(10449):294.
- [3] MCCABE M A, MAURO A J, SCHOEN R E. Novel colorectal cancer screening methods-opportunities and challenges [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2025,22(8):581.
- [4] MAURI G, PATELLI G, CRISAFULLI G, et al. Tumor "age" in early-onset colorectal cancer [J]. Cell, 2025,188(3):589.
- [5] YUAN Q, LIU J, WANG X, et al. Deciphering the impact of dietary habits and behavioral patterns on colorectal cancer [J]. Int J Surg, 2025,111(3):2603.
- [6] XING G, CUI Y, GUO Z, et al. Progress on the mechanism of intestinal microbiota against colorectal cancer [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2025,15:1565103.
- [7] ZITVOGEL L, DEROSA L, ROUTY B, et al. Impact of the onco biome network in cancer microbiome research [J]. Nat Med, 2025,31(4):1085.
- [8] SCHOULTZ I, CLAESSEON M J, DOMINHUEZ-BELLO M G, et al. Gut microbiota development across the lifespan: disease links and health-promoting interventions [J]. J Intern Med, 2025,297(6):560.
- [9] DREMOVA O, MIMMLER M, PAESLACK N, et al. Sterility testing of germ-free mouse colonies [J]. Front Immunol, 2023,14:1275109.
- [10] GONG X, LI X, BO A, et al. The interactions between gut microbiota and bioactive ingredients of traditional Chinese medicines: a review [J]. Pharmacol Res, 2020,157:104824.
- [11] HE J Y, XIAO F L, ZHENG Q Y, et al. Intestinal absorption characteristics and reciprocal interactions of Forsythiae Fructus and Lonicerae Japonicae Flos-containing Chinese herbal formulation with human gut microbiome [J]. Am J Chin Med, 2025,53(2):543.
- [12] 石伟雄,李雪,朱华,等. 无菌动物及其在微生物与宿主互作机制研究中的应用 [J]. 微生物学报, 2023,63(10):3773.
- [13] WILLIAMS S C. Gnotobiotics [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2014,111(5):1661.
- [14] 李永军,李兰娟. 无菌动物无菌检测的探讨 [J]. 中国实验动物学报, 2021,29(1):110.
- [15] WANG X, WU C, WEI H. Humanized germ-free mice for investigating the intervention effect of commensal microbiome on cancer immunotherapy [J]. Antioxid Redox Signal, 2022,37(16/18):1291.
- [16] WONG S H, ZHAO L, 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.
- [17] BURTIN F, MULLINS C S, LINNEBACHER M. Mouse models of colorectal cancer: past, present and future perspectives [J]. *World J Gastroenterol*, 2020,26(13): 1394.
- [18] WANG T, CHEN Z, ZHANG Y, et al. Recent advances in the development and application of colorectal cancer mouse models [J]. *Front Pharmacol*, 2025,16: 1553637.
- [19] QU S, ZHENG Y, HUANG Y, et al. Excessive consumption of mucin by over-colonized *Akkermansia muciniphila* promotes intestinal barrier damage during malignant intestinal environment [J]. *Front Microbiol*, 2023,14: 1111911.
- [20] HAN X, ZHANG B W, ZENG W, et al. Suppressed oncogenic molecules involved in the treatment of colorectal cancer by fecal microbiota transplantation [J]. *Front Microbiol*, 2024, 15: 1451303.
- [21] PRAMANA A, XU G B, LIANG S, et al. Gut microbiota dysbiosis in a novel mouse model of colitis potentially increases the risk of colorectal cancer [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2025,328(6): G831.
- [22] YUAN C, ZHAO X, WANGMO D, et al. Tumor models to assess immune response and tumor-microbiome interactions in colorectal cancer [J]. *Pharmacol Ther*, 2022,231: 107981.
- [23] REN J, SUI H, FANG F, et al. The application of *Apc^{min/+}* mouse model in colorectal tumor researches [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2019,145(5): 1111.
- [24] WONG C C, YU J. Gut microbiota in colorectal cancer development and therapy [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2023,20(7): 429.
- [25] KIM J, LEE H K. Potential role of the gut microbiome in colorectal cancer progression [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 807648.
- [26] KAMAREDDINE L, NAJJAR H, SOHAIL M U, et al. The microbiota and gut-related disorders: insights from animal models [J]. *Cells*, 2020,9(11): 2401.
- [27] BHATTARAI Y, KASHYAP P C. Germ-free mice model for studying host-microbial interactions [J]. *Methods Mol Biol*, 2016, 1438: 123.
- [28] LIU Y, ZHANG J, YANG G, et al. Effects of the commensal microbiota on spleen and mesenteric lymph node immune function: investigation in a germ-free piglet model [J]. *Front Microbiol*, 2024,15: 1398631.
- [29] SUN J, ZHONG H, DU L, et al. Gene expression profiles of germ-free and conventional piglets from the same litter [J]. *Sci Rep*, 2018,8(1): 10745.
- [30] PARK J C, IM S H. Of men in mice: the development and application of a humanized gnotobiotic mouse model for microbiome therapeutics [J]. *Exp Mol Med*, 2020,52(9): 1383.
- [31] DAHARSH L, ZHANG J, RAMER-TAIT A, et al. A double humanized blt-mice model featuring a stable human-like gut microbiome and human immune system [J]. *J Vis Exp*, 2019, 150: 10.
- [32] ZHAO L, ZHANG X, ZHOU Y, et al. *Parvimonas micra* promotes colorectal tumorigenesis and is associated with prognosis of colorectal cancer patients [J]. *Oncogene*, 2022,41(36): 4200.
- [33] RALSER A, DIETL A, JAROSCH S, et al. *Helicobacter pylori* promotes colorectal carcinogenesis by deregulating intestinal immunity and inducing a mucus-degrading microbiota signature [J]. *Gut*, 2023,72(7): 1258.
- [34] DREWES J L, CHEN J, MARKHAM N O, et al. Human colon cancer-derived *Clostridioides difficile* strains drive colonic tumorigenesis in mice [J]. *Cancer Discov*, 2022,12(8): 1873.
- [35] REDDY B S, NARASAWA T, WEISBURGER J H, et al. Promoting effect of sodium deoxycholate on colon adenocarcinomas in germfree rats [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1976,56(2): 441.
- [36] BAI X, WEI H, LIU W, et al. Cigarette smoke promotes colorectal cancer through modulation of gut microbiota and related metabolites [J]. *Gut*, 2022,71(12): 2439.
- [37] DE FILIPPO C, CHIOCCIOLI S, MERIGGI N, et al. Gut microbiota drives colon cancer risk associated with diet: a comparative analysis of meat-based and pesco-vegetarian diets [J]. *Microbiome*, 2024,12(1): 180.
- [38] 涂懿璇. 黑米饮食对结直肠癌发展的干预效果及机制研究 [J]. 武汉: 华中农业大学, 2023.
- [39] YANG J, WEI H, LIN Y, et al. High soluble fiber promotes colorectal tumorigenesis through modulating gut microbiota and metabolites in mice [J]. *Gastroenterology*, 2024,166(2): 323.
- [40] RODRIGUES V F, ELIAS-OLIVEIRA J, PEREIRA I S, et al. *Akkermansia muciniphila* and gut immune system: a good friendship that attenuates inflammatory bowel disease, obesity, and diabetes [J]. *Front Immunol*, 2022,13: 934695.
- [41] LIU M J, YANG J Y, YAN Z H, et al. Recent findings in *Akkermansia muciniphila*-regulated metabolism and its role in intestinal diseases [J]. *Clin Nutr*, 2022,41(10): 2333.
- [42] ZHANG L, JI Q, CHEN Q, et al. *Akkermansia muciniphila* inhibits tryptophan metabolism via the AhR/ β -catenin signaling pathway to counter the progression of colorectal cancer [J]. *Int J Biol Sci*, 2023,19(14): 4393.
- [43] KANG X, NG S K, LIU C, et al. Altered gut microbiota of obesity subjects promotes colorectal carcinogenesis in mice [J]. *EBioMedicine*, 2023,93: 104670.
- [44] YANG J, WEI H, ZHOU Y, et al. High-fat diet promotes colorectal tumorigenesis through modulating gut microbiota and metabolites [J]. *Gastroenterology*, 2022,162(1): 135.
- [45] SOUZA E, CAMPOS C, REIS D C, et al. Beneficial effects resulting from oral administration of *Escherichia coli* Nissle 1917 on a chronic colitis model [J]. *Benef Microbes*, 2020,11(8): 779.
- [46] ANSARI I, RADDATZ G, GUTEKUNST J, et al. The microbiota programs DNA methylation to control intestinal homeostasis and inflammation [J]. *Nat Microbiol*, 2020,5(4): 610.
- [47] SOBHANI I, BERGSTEN E, COUFFIN S, et al. Colorectal cancer-associated microbiota contributes to oncogenic epigenetic signatures [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019,116(48): 24285.
- [48] XIA X, WU W K K, WONG S H, et al. Bacteria pathogens drive

- host colonic epithelial cell promoter hypermethylation of tumor suppressor genes in colorectal cancer [J]. *Microbiome*, 2020, 8(1): 108.
- [49] 蔡梦梦. 基于肠道菌群探索复方肠泰颗粒抗结直肠癌作用机制研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2022.
- [50] 周洪立, 陈海彬, 庄育培, 等. 补地参连方调节肠道菌群及肿瘤相关巨噬细胞表型转换发挥抗结直肠癌效应 [J]. *南京中医药大学学报*, 2025, 41(4): 442.
- [51] 庄育培, 周洪立, 梁雨薇, 等. 仙连解毒方调节肠道菌群与 CD8⁺ T 细胞免疫反应抗结直肠癌效应 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, 31(19): 115.
- [52] GOU H, SU H, LIU D, et al. Traditional medicine Pien Tze Huang suppresses colorectal tumorigenesis through restoring gut microbiota and metabolites [J]. *Gastroenterology*, 2023, 165(6): 1404.
- [53] YE C, WU C, LI Y, et al. Traditional medicine Xianglian pill suppresses high-fat diet-related colorectal cancer via inactivating TLR4/MyD88 by remodeling gut microbiota composition and bile acid metabolism [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 333: 118411.
- [54] 周晔祿, 赵玲, 贾茹, 等. 湿热证大肠癌患者肠道菌群对 AOM/DSS 小鼠肠癌发生的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2022, 37(5): 2842.
- [55] 朱祥祥, 侯新新, 张兆洲, 等. 湿热证患者肠道菌群加重肠黏膜炎性免疫反应促大肠癌发生的作用机制 [J]. *上海中医药杂志*, 2024, 58(3): 65.
- [56] SUI H, ZHANG L, GU K, et al. YYFZBJS ameliorates colorectal cancer progression in Apc^{Min/+} mice by remodeling gut microbiota and inhibiting regulatory T-cell generation [J]. *Cell Commun Signal*, 2020, 18(1): 113.
- [57] 柴妮. 薏苡附子败酱散对炎症相关性结直肠癌的作用及机制研究 [D]. 上海: 上海中医药大学, 2020.
- [58] CHEN H, YE C, CAI B, et al. Berberine inhibits intestinal carcinogenesis by suppressing intestinal pro-inflammatory genes and oncogenic factors through modulating gut microbiota [J]. *BMC Cancer*, 2022, 22(1): 566.
- [59] YAN S, CHANG J, HAO X, et al. Berberine regulates short-chain fatty acid metabolism and alleviates the colitis-associated colorectal tumorigenesis through remodeling intestinal flora [J]. *Phytomedicine*, 2022, 102: 154217.
- [60] CHEN H, YE C, WU C, et al. Berberine inhibits high fat diet-associated colorectal cancer through modulation of the gut microbiota-mediated lysophosphatidylcholine [J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(7): 2097.
- [61] WEI J, ZHENG Z, HOU X, et al. Echinacoside inhibits colorectal cancer metastasis via modulating the gut microbiota and suppressing the PI3K/AKT signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 318(Pt A): 116866.
- [62] WU X, GU Z, CHEN Y, et al. Application of PD-1 blockade in cancer immunotherapy [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2019, 17: 661.
- [63] KONG X, LI Q, WANG D, et al. Mechanism of Qizhen decoction-mediated maturation of DC cells to activate the IL12/JAK2/STAT4 pathway to sensitise PD-1 inhibitors in the treatment of colorectal cancer [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 320: 117399.
- [64] 卜志超. 芪贞汤联合阿克曼菌治疗结直肠癌机制研究 [D]. 天津: 天津中医药大学, 2021.
- [65] WEN J, WANG S, SUN K, et al. Chang-Wei-Qing combined with PD-1 inhibitor alleviates colitis-associated colorectal tumorigenesis by modulating the gut microbiota and restoring intestinal barrier [J]. *Biol Proced Online*, 2024, 26(1): 32.
- [66] WANG T, WU L, WANG S, et al. Chang Wei Qing decoction enhances the anti-tumor effect of PD-1 inhibitor therapy by regulating the immune microenvironment and gut microbiota in colorectal cancer [J]. *Chin J Nat Med*, 2023, 21(5): 333.
- [67] ZOU Y, WANG S, ZHANG H, et al. The triangular relationship between traditional Chinese medicines, intestinal flora, and colorectal cancer [J]. *Med Res Rev*, 2024, 44(2): 539.
- [68] WANG N, FANG J Y. *Fusobacterium nucleatum*, a key pathogenic factor and microbial biomarker for colorectal cancer [J]. *Trends Microbiol*, 2023, 31(2): 159.
- [69] YANG H, GAN Y, JIANG S, et al. Genomic alterations in *bacteroides fragilis* favor adaptation in colorectal cancer microenvironment [J]. *BMC Genomics*, 2025, 26(1): 269.
- [70] JANS M, VERECKE L. Physiological drivers of PKS⁺ *E. coli* in colorectal cancer [J]. *Trends Microbiol*, 2025, 6: S842.
- [71] AMAR Y, GRUBE J, KOBERLE M, et al. *Bifidobacterium breve* DSM 32583 and *Limosilactobacillus fermentum* CECT5716 postbiotics attenuate *S. aureus* and IL33-induced Th2 responses [J]. *Microbiol Res*, 2024, 289: 127913.
- [72] HICKEY A, STAMOU P, UDAYAN S, et al. *Bifidobacterium breve* exopolysaccharide blocks dendritic cell maturation and activation of CD4⁺ T cells [J]. *Front Microbiol*, 2021, 12: 653587.
- [73] GAVZY S J, KENSISKI A, LEE Z L, et al. *Bifidobacterium* mechanisms of immune modulation and tolerance [J]. *Gut Microbes*, 2023, 15(2): 2291164.
- [74] LV J, JIA Y, LI J, et al. Gegen Qinlian decoction enhances the effect of PD-1 blockade in colorectal cancer with microsatellite stability by remodelling the gut microbiota and the tumour microenvironment [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(6): 415.
- [75] JIANG F, LIU M, WANG H, et al. Wu Mei Wan attenuates CAC by regulating gut microbiota and the NF- κ B/IL6-STAT3 signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 125: 109982.
- [76] LI L, CUI X, LIN Z, et al. Advances in the role of baicalin and baicalein in colon cancer: mechanisms and therapeutic potential [J]. *Discov Oncol*, 2025, 16(1): 860.
- [77] BAI X, DUAN Z, DENG J, et al. Ginsenoside Rh₄ inhibits colorectal cancer via the modulation of gut microbiota-mediated bile acid metabolism [J]. *J Adv Res*, 2025, 72: 37.

责任编辑 陈琍