

· 实验研究 ·

基于宏基因组学探讨扶正消癌 I 号方对结直肠癌荷瘤裸鼠肠道菌群的影响

肖文娟¹, 张苗¹, 宋雅楠², 夏伟^{1,2*}

1. 上海中医药大学附属第七人民医院, 上海 200137; 2. 上海市浦东新区公利医院, 上海 200135

摘要 目的: 从肠道菌群角度研究扶正消癌 I 号方对结直肠癌(CRC)裸鼠肿瘤的抑制作用。方法: 构建 CRC 裸鼠模型, 将造模成功的 20 只裸鼠随机分为模型对照组和扶正消癌 I 号方低(17.47 g/kg)、中(34.94 g/kg)、高(69.89 g/kg)剂量组, 每组 5 只。模型对照组灌胃生理盐水, 扶正消癌 I 号方各剂量组灌胃对应浓度水煎液, 连续干预 2 周后处死裸鼠, 完整剥离瘤体并取部分肿瘤组织进行 HE 染色。基于瘤重、体积及病理结果筛选出疗效较好的中剂量组, 收集该组及模型对照组的盲肠内容物进行宏基因组测序分析。结果: 扶正消癌 I 号方各剂量组裸鼠的瘤重和体积均下降($P < 0.05$, $P < 0.01$)。HE 染色显示扶正消癌 I 号方低、中、高剂量组的肿瘤细胞密度降低, 且伴有不同程度坏死。宏基因组学测序显示, 与模型对照组相比, 扶正消癌 I 号方中剂量组的副萨特氏菌属、双歧杆菌属、粪杆菌属、耳蜗形梭菌、啮齿粪杆菌丰度显著增加($P < 0.05$), 变形杆菌属、柠檬酸杆菌属、摩根菌属、肠杆菌属、摩氏摩根菌、霍氏肠杆菌的丰度显著降低($P < 0.05$)。京都基因与基因组百科全书(KEGG)分析发现淀粉与蔗糖代谢通路在两组中差异显著($P < 0.05$), 其中 α -葡萄糖苷酶、UTP-葡萄糖-1-磷酸尿苷酸转移酶、磷酸葡萄糖变位酶、麦芽糖 α -D-葡萄糖基转移酶在该通路中明显下调($P < 0.05$)。结论: 扶正消癌 I 号方通过增加有益菌的丰度, 降低有害菌的丰度, 进而修复肠道屏障, 维持肠道内环境的稳态, 而下调淀粉和蔗糖代谢通路中的 α -葡萄糖苷酶可能是其发挥抗 CRC 的潜在途径。

关键词 结直肠癌; 扶正消癌 I 号方; 肠道菌群; 宏基因组学; α -葡萄糖苷酶

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-2392(2026)04-0007-09

DOI: 10.19664/j.cnki.1002-2392.260069

结直肠癌(Colorectal cancer, CRC)作为消化系统高发恶性肿瘤, 其全球发病率位列第三且致死率居癌症相关死亡第二位^[1]。该疾病的发生涉及多因素, 包括基因突变、表观遗传变化、炎症、免疫调节、代谢、激素紊乱和肠道菌群等^[2-5]。肠道菌群构成人体内数量最庞大且种类繁多的微生物生态系统^[6], 不仅参与营养吸收、酶及维生素合成、短链脂肪酸生成等关键生理过程, 更通过代谢调控网络维持宿主内环境稳定。当微生物-宿主-环境的稳态平衡遭到破坏时, 可能引

发系列肠道功能紊乱相关疾病, 如肠易激综合征、炎症性肠病及结直肠癌等^[7-9]。菌群失调往往伴随关键代谢通路的显著异常, 基于微生物组功能潜力的荟萃分析发现, 微生物介导的碳水化合物代谢重构及蛋白分解代谢异常与 CRC 进展存在显著相关性^[10]。这些发现提示, 通过干预肠道微生物代谢紊乱来恢复宿主代谢稳态, 可能是治疗 CRC 的一条有效途径。

基于中医正邪理论及临床实践观察, CRC 中医证型分布多集中于脾胃气虚、肝郁气滞、气血双虚、痰瘀互结。扶正消癌 I 号方系上海市第七人民医院肿瘤科经临床实践优化的经典复方, 其组方涵盖黄芪、太子参、炒白术等十三味中药, 体现扶正固本与解毒散结并治的中医治则。临床研究证实, 该方剂单用可改善晚期 CRC^[11]及胃癌^[12]患者的预后; 联合辅助化疗在中晚期胃癌^[13]、老年非小细胞肺癌^[14]和 CRC 晚期^[15]等阶段均显现协同增效作用, 显著降低治疗过程中相关

收稿日期: 2025-01-07 修回日期: 2025-09-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(82204845); 上海市浦东新区卫生系统重点学科建设项目(PWZxk2022-04); 上海市科学技术委员会科技创新行动计划(22ZR1447900)

作者简介: 肖文娟(1999-), 女, 硕士研究生, 主要从事肿瘤的中西医结合治疗研究。

* 通信作者: 夏伟(1976-), 男, 博士, 教授, 主要从事肿瘤核医学诊疗。

毒性反应发生率,提升患者生活质量和治疗依从性。分子机制研究揭示,该方通过下调血管内皮生长因子的表达,抑制结直肠癌肝转移模型肿瘤血管新生,阻滞肿瘤增殖进程^[16]。该方剂是否影响了肠道菌群的分布,进而调整了相关的代谢过程目前尚不明确。本研究运用宏基因组测序技术,系统解析扶正消癌 I 号方干预后结直肠癌荷瘤模型肠道菌群多样性特征及代谢功能变化,旨在从微生物-宿主代谢互作视角阐释其抗肿瘤作用机制,为拓展扶正消癌 I 号方抗肿瘤临床应用提供更充足的实验依据。

1 材料

1.1 动物

20 只 SPF 级 6 周龄雄性 BALB/c-nu 裸鼠,体重 18~20 g,购自杭州子源实验动物科技有限公司,实验动物合格证号:SCXK(浙)2019-0004。受试动物饲养于上海中医药大学附属第七人民医院动物房,给予饮食灭菌饮用水和辐照灭菌实验用免疫缺陷鼠饲料。本实验方案经上海市第七人民医院实验动物伦理委员会审核批准(批准号:2023-AR-009)。

1.2 药物及制备

扶正消癌 I 号方由黄芪 15 g,太子参 15 g,炒白术 15 g,茯苓 15 g,山药 15 g,当归 15 g,白花蛇舌草 15 g,山慈菇 15 g,藤梨根 15 g,川芎 10 g,麦冬 10 g,地黄 10 g,炙甘草 5 g 组成(以上剂量为成人一日服用药量)。中药饮片均由上海中医药大学附属第七人民医院中药房提供,简要制备过程:头煎加 500 mL 双蒸水浸泡 2 h,武火煮沸后改文火煎煮 20 min 左右,倒出一煎的上层药液;二煎加水 400 mL,同法煎煮倒出上层液,将两次药液混合后用厚纱布过滤,置于旋转蒸发仪上 80 ℃ 水浴浓缩至 100 mL,即生药给药量为 1.7 g/mL,分装,4 ℃ 冷藏备用。

1.3 主要试剂与仪器

小鼠结肠癌细胞 CT-26 株(伊莱博生物科技有限公司,货号:LGZC199);石蜡(国药集团上海有限公司,货号:69018961);甲醛(国药集团上海有限公司,货号:10010018);二甲苯(国药集团上海有限公司,10023418);无水乙醇(国药集团上海有限公司,货号:10092680);氨水(国药集团上海有限公司,货号:10002118);苏木素(珠海贝索生物技术有限公司,货号:714094);伊红(珠海贝索生物技术有限公司,货号:BA4099);中性树脂(北京索莱宝科技有限公司, G8590);DNA 文库构建试剂盒购自蓝景科信(北京)技术有限公司(货号:NOVA-5188-13);NovaSeq 基因测序试剂盒(美国 Illumina 公司,货号:20028312)。

石蜡切片机(湖北徕克医疗仪器有限公司,型号:

SQ2125);摊片机(湖北徕克医疗仪器有限公司,型号:PPTHK-21B);正置显微镜(日本 Nikon 公司,型号:ECLIPSE Ni);显微图像分析系统(日本 Nikon 公司,型号:DS-Ri2);恒温烘箱(上海恒一科学仪器有限公司,型号:DHG-9023A);超声波破碎仪(美国 Covaris 公司,型号:M220);荧光分光光度计(美国 Thermo Fisher Scientific 公司,型号:Q33238);生物分析仪(美国 Agilent 公司,型号:2100);基因测序仪(美国 Illumina 公司,型号:NovaSeq6000)。

2 方法

2.1 造模、分组及给药

适应性饲养 1 周后,取对数生长期的 CT-26 细胞株,在无菌条件下制备成 2.5×10^7 /mL 细胞悬液,取 0.2 mL 接种于裸鼠右侧腋窝皮下。瘤体生长至肉眼可见、皮下可触及的程度,视作造模成功。将造模成功的 20 只裸鼠随机分为模型对照组、扶正消癌 I 号方低、中、高剂量组,每组 5 只。按照成人(体质量 60 kg)临床上扶正消癌 I 号方每日用量 170 g 计算,则小鼠等效剂量为 34.94 g/(kg·d)。将该剂量设为中剂量组剂量,则低、高剂量组剂量分别为 17.47 g/(kg·d)、69.89 g/(kg·d),模型对照组每天给予等体积质量分数为 0.9% 的氯化钠溶液灌胃,连续干预 2 周。

2.2 标本采集

裸鼠经麻醉后,颈椎脱臼处死后沿腹中线剖开裸鼠腹腔,完整地取下肠道组织,然后持灭菌镊子在结肠下 1/3 段直接夹取肠道粪便 1~2 g 装入灭菌的冻存管中,放置 -80 ℃ 冰箱储存。此外,酒精消毒腋下肿瘤部位后,用无菌手术器械剖出肿瘤组织。切取新鲜的瘤体组织块的厚度约为 0.2~0.3 cm,投入 10% 福尔马林固定液中固定。

2.3 移植瘤生长情况的记录及肿瘤病理

待裸鼠成瘤后每两天测一次肿瘤长短径,计算肿瘤体积(长径×短径×短径×1/2)。治疗结束后处死小鼠并剥离肿瘤组织对其称重,按照(1-治疗组平均瘤重/模型对照组平均瘤重)×100% 计算肿瘤生长抑制率。将部分肿瘤组织置于福尔马林中固定,用流水冲洗、脱水后浸蜡 1~2 h,随后制成厚 4 μm 的连续石蜡切片,行 HE 染色观察肿瘤病理的变化。

2.4 裸鼠粪便总 DNA 提取与宏基因组建库

用粪便基因组 DNA 提取试剂盒对每个裸鼠粪便样本进行总 DNA 提取,随后用 1% 琼脂糖凝胶电泳和 Quantus 2.0 荧光计进行 DNA 完整性分析和浓度测定。将已检的 DNA 样品用 Covaris M220 超声破碎仪随机打断成约 350 bp 片段,依次进行末端修复、加 A 尾、加测序接头、纯化及 PCR 扩增,完成文库构建。质

量达到建库要求的样本,采用上海美吉生物医药科技有限公司 Illumina NovaSeq 平台测序。

2.5 宏基因组学测序

通过 Fast (v0. 20. 0) 评估测序原始数据质量,用 Trimmomatic (v0. 36) 处理原始下机数据,去接头、滤低质及模糊碱基 reads,经碱基识别转原始图像为 FASTQ 格式,再经 Fast 评估得到 Clean 数据。使用 MEGAHIT (v1. 1. 2) 对 Clean 数据组装成 contigs,经参数调整选最优组装结果。用 Prodigal (v2. 6. 3) 预测开放阅读框,选长度≥100 bp 的基因并翻译成氨基酸序列。用 CD - HIT (v4. 5. 7) 去冗余得到非冗余基因集。用 bowtie2 (v2. 2. 9) 将基因集与非冗余蛋白质数据库 (Non - Redundant Protein Database, NR)、京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 等数据库比对,获取基因的物种和功能注释、丰度信息。据此开展物种与功能组成、差异及样本比较分析,并对结果可视化展示。

表 1 各组小鼠肿瘤体积变化 ($\bar{x} \pm s, n = 5, \text{mm}^3$)

组别	1 d	3 d	5 d	7 d	9 d	11 d	13 d	15 d
模型对照组	110.98 ± 23.94	179.80 ± 29.73	235.42 ± 57.28	327.51 ± 83.71	453.46 ± 130.77	586.74 ± 180.26	752.27 ± 266.22	904.33 ± 332.58
扶正消癌								
I号方低剂量组	205.67 ± 206.96	152.40 ± 50.16	217.80 ± 81.54	307.22 ± 117.32	403.67 ± 159.01	531.96 ± 190.32	682.68 ± 244.25	829.71 ± 297.79
扶正消癌								
I号方中剂量组	74.47 ± 23.52	107.06 ± 35.95	151.61 ± 58.50	207.20 ± 87.60	272.13 ± 126.48	370.02 ± 197.62	459.88 ± 242.97 *	556.99 ± 294.42 * *
扶正消癌								
I号方高剂量组	78.03 ± 8.60	112.95 ± 14.51	159.52 ± 22.83	218.83 ± 28.45	293.54 ± 38.82	386.98 ± 54.89	478.15 ± 69.35 *	557.93 ± 82.15 * *

注:与模型对照组比较,* $P < 0.05$,* * $P < 0.01$ 。

剥离瘤体后对 4 组瘤体称重,扶正消癌 I 号方低、中、高剂量组瘤体质量较模型对照组均有降低的趋势,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$);抑瘤率方面,扶正消癌 I 号方中剂量组抑瘤率最高 (32.07%),低、高剂量组抑瘤率分别为 4.85% 和 22.12%,见表 2。

表 2 各组瘤体质量及肿瘤生长抑制率 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	瘤体质量/g	抑瘤率/%
模型对照组	1.37 ± 0.34	-
扶正消癌 I 号方低剂量组	1.30 ± 0.60	4.85
扶正消癌 I 号方中剂量组	0.93 ± 0.50	32.07
扶正消癌 I 号方高剂量组	1.06 ± 0.29	22.12

3.2 肿瘤组织病理观察

HE 染色结果如图 1 所示,模型对照组肿瘤细胞呈现活跃的增殖状态,细胞异型性明显,表现为形态不规则、排列致密,且未见特征性坏死区域。与之形成对

2.6 统计学方法

采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,单因素方差分析用于多组间比较,Turkey 检验用于每两个样本间比较。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 荷瘤裸鼠的瘤体体积及质量

如表 1 所示,与模型对照组相比,扶正消癌 I 号方低、中、高剂量组的肿瘤体积增长有减弱的趋势,虽无统计学意义 ($P > 0.05$),但仍在一定程度上反映了扶正消癌 I 号方的抑癌作用。进一步组间比较发现,在治疗第 13 天时,中、高剂量组肿瘤体积较模型对照组明显减少 ($P_{\text{中}} = 0.015\ 2, P_{\text{高}} = 0.026\ 3$);治疗第 15 天时,中、高剂量组肿瘤体积较模型对照组显著减少 ($P_{\text{中}} = 0.002\ 2, P_{\text{高}} = 0.002\ 3$)。

比的是,随着给药剂量的增加,肿瘤实质区域逐渐缩小,细胞排列疏松且胞质空泡化明显;核形态表现为核膜皱缩、染色质边集及核固缩现象;间质区域可见进行性扩大的片状坏死灶。

3.3 肠道菌群多样性分析

综合荷瘤裸鼠瘤体质量、体积数据以及病理结果,筛选出疗效较优的扶正消癌 I 号方中剂量组,将其与模型对照组共同纳入后续宏基因组学分析。

3.3.1 Alpha 多样性分析

Alpha 多样性分析通常用香农指数、辛普森指数等评估样本的微生物群落的多样性。香农指数值越大,多样性越高;辛普森指数值越小,多样性越高。如表 3 所示,在属水平上,两组物种的香农指数、辛普森指数数值大小不等,但差异没有统计学意义 ($P > 0.05$);在种水平上,与模型对照组比较,扶正消癌 I 号方中剂量组的香农指数降低、辛普森指数增大,差异

具有统计学意义($P < 0.05$)。

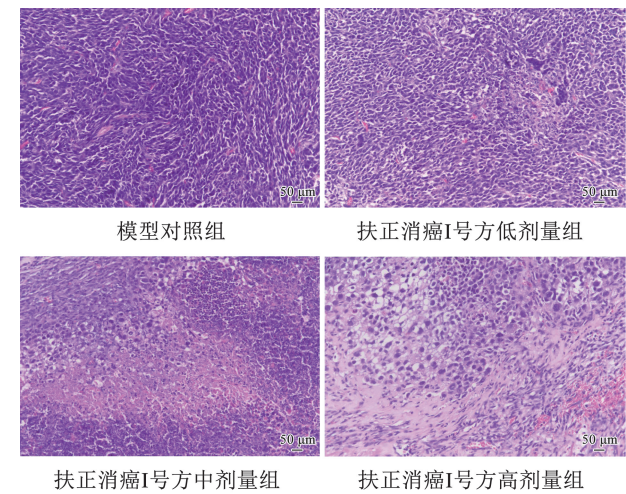
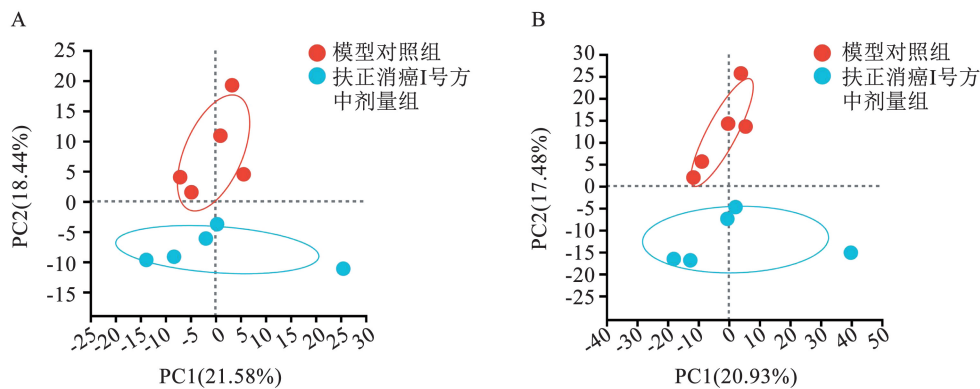


图 1 各组裸鼠肿瘤组织病理结果(HE, ×200)



注:A. 属水平;B. 种水平。横坐标、纵坐标百分比表示主成分对样品差异的贡献值,点与点之间的距离表示差异程度。

图 2 主成分分析

表 4 两组间菌群的 Beta 多样性比较($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	属水平				种水平			
	Permutations	F 值	P 值	q 值	Permutations	F 值	P 值	q 值
模型对照组	999	1.442	0.041	0.041	999	1.616	0.025	0.025
扶正消癌 I 号方中剂量组								

3.4 肠道菌群组成特征

菌种组成是鉴别不同菌落类型的基本特征。两组裸鼠肠道菌群优势菌属构成及相对丰度见图 3A。模型对照组优势菌属包括:拟杆菌属(*Bacteroides*) 14.92%,普雷沃氏菌属(*Prevotella*) 8.19%,另支菌属(*Alistipes*) 6.4%,阿克曼氏菌属(*Akkermansia*) 5.25%,*Candidatus_Homeothermus* 属 5.05%。扶正消癌 I 号方中剂量组优势菌属包括:拟杆菌属(*Bacteroides*) 11.75%,普雷沃氏菌属(*Prevotella*) 10.42%,*Candidatus_Homeothermus* 属 7.76%,另支菌属(*Alistipes*) 6.09%,丹毒梭状芽孢杆菌属(*Erysipelatoclostridium*) 4.68%。

表 3 两组间菌群的 Alpha 多样性比较($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	属水平		种水平	
	香农指数	辛普森指数	香农指数	辛普森指数
模型对照组	1.60 ± 0.29	0.45 ± 0.86	0.67 ± 0.12	0.79 ± 0.05
扶正消癌 I 号方中剂量组	1.41 ± 0.18	0.49 ± 0.05	0.48 ± 0.84 *	0.86 ± 0.03 *

注:与模型对照组比较,* $P < 0.05$ 。

3.3.2 Beta 多样性分析

Beta 多样性可用主成分分析(Principal Component Analysis, PCA)来衡量各组样本间的差异和距离,同时可用 PERMANOVA 对不同组之间的距离差异做统计检验。如图 2 所示,两组样本在属和种水平上明显分离。如表 4 所示,在属和种水平上,两组肠道菌群的组成差异显著($P < 0.05$)。

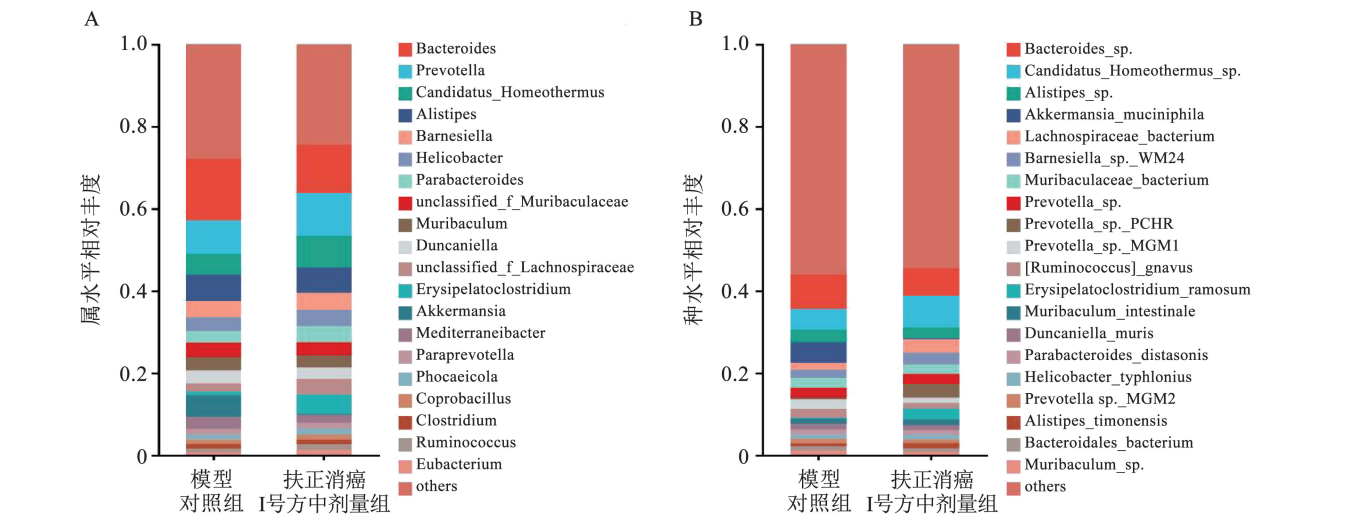
如图 3B 所示,模型对照组优势物种包括:拟杆菌(*Bacteroides*_sp.) 8.38%,*Candidatus_Homeothermus*_sp. 5.05%,嗜黏蛋白阿克曼氏菌(*Akkermansia_muciniphila*) 5%,另支菌(*Alistipes*_sp.) 3.03%,Muri 菌(*Muribaculaceae_bacterium*) 2.45%;扶正消癌 I 号方中剂量组优势物种包括:*Candidatus_Homeothermus*_sp. 7.76%,拟杆菌(*Bacteroides*_sp.) 6.74%,普氏菌(*Prevotella*_sp._PCHR) 3.29%,毛螺旋菌(*Lachnospiraceae_bacterium*) 3.26%,*Barnesiella*_sp._WM24 2.83%。

3.5 组间差异物种分析

本研究采用秩和检验对两组裸鼠肠道微生物菌群属和种水平相对丰度进行统计分析。在属水平上

(表 5), 扶正消癌 I 号方中剂量组的双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*)、粪杆菌属 (*Faecalibaculum*)、副萨特氏菌属 (*Parasutterella*) 的相对丰度高于模型对照组; 肠杆菌属 (*Enterobacter*)、柠檬酸杆菌属 (*Citrobacter*)、变形杆菌属 (*Proteus*)、摩根菌属 (*Morganella*) 相对丰度低于模型对照组。在种水平上(表 6), 扶正消癌 I 号

方中剂量组耳蜗形梭菌 (*Clostridium_cocleatum*)、啮齿粪杆菌 (*Faecalibaculum_rodentium*) 相对丰度高于模型对照组; 霍氏肠杆菌 (*Enterobacter_hormaechei*)、摩氏摩根菌 (*Morganella_morganii*) 相对丰度低于模型对照组。以上菌群在两组间比较, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。



注: A. 属水平; B. 种水平。
图 3 裸鼠肠道优势菌在属和种水平的构成及相对丰度
表 5 属水平物种相对丰度比较 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	双歧杆菌属	粪杆菌属	副萨特氏菌属	肠杆菌属	柠檬酸杆菌属	变形杆菌属	摩根菌属
模型对照组	0.001 1 ± 0.000 6	0.001 1 ± 0.000 6	0.054 7 ± 0.022 7	0.157 5 ± 0.226 1	0.637 6 ± 0.970 0	1.262 0 ± 1.830 0	0.294 6 ± 0.400 8
扶正消癌 I 号方中剂量组	0.013 7 ± 0.015 7 *	0.012 7 ± 0.009 7 *	0.136 1 ± 0.038 0 *	0.000 2 ± 0.000 2 *	0.000 6 ± 0.000 5 *	0.002 7 ± 0.002 4 *	0.000 2 ± 0.000 1 *

注: 与模型对照组相比, * $P < 0.05$ 。

表 6 种水平物种相对丰度比较 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	耳蜗形梭菌	啮齿粪杆菌	霍氏肠杆菌	摩氏摩根菌
模型对照组	0.006 9 ± 0.004 5	0.001 1 ± 0.000 6	0.022 7 ± 0.033 3	0.042 9 ± 0.058 0
扶正消癌 I 号方中剂量组	0.117 5 ± 0.084 0 *	0.012 7 ± 0.009 7 *	0.000 1 ± 0.000 1 *	0.000 1 ± 0.000 1 *

注: 与模型对照组相比, * $P < 0.05$ 。

3.6 KEGG 功能分析

在 KEGG 通路中共展示 6 个板块的一级信号通路注释信息, 由图 4 可知, 显示新陈代谢通路的注释水平较高。二级信号通路中, 全局和总览图 (Global and overview maps)、碳水化合物代谢 (Carbohydrate metabolism)、氨基酸代谢 (Amino acid metabolism)、辅助因子和维生素的代谢 (Metabolism of cofactors and vitamins) 等通路的功能基因表达较显著。进一步组间差异分析发现 (图 5), 扶正消癌 I 号方中剂量组调节了淀粉和蔗糖代谢 (Starch and sucrose metabolism)、氨基酸的生物合成 (Biosynthesis of amino acids)、肽聚糖的生物合成 (Peptidoglycan biosynthesis)、半乳糖代谢 (Galactose metabolism) 等相关通路。其中淀粉和蔗糖代谢的

LDA > 3 且 $P < 0.05$, 说明该功能丰度对差异效果的影响较大, 表 7。

3.7 代谢通路组间差异分析

与模型对照组相比, 在扶正消癌 I 号方治疗后, 大量与淀粉和蔗糖代谢相关的微生物功能基因发生显著改变。基于 KEGG 注释结果, 针对淀粉和蔗糖代谢通路进行丰度差异酶的统计分析发现 (表 8), 编码 α -葡萄糖苷酶 (α -glucosidase, 3.2.1.20), UTP-葡萄糖-1-磷酸尿苷酸转移酶 (UTP-glucose-1-phosphate uridylyltransferase, 2.7.7.9), 磷酸葡萄糖变位酶 (phosphoglucumutase, 5.4.2.2), 麦芽糖 α -D-葡萄糖基转移酶 (maltose α -D-glucosyltransferase, 5.4.99.16) 等的基因显著下调 ($P < 0.05$)。

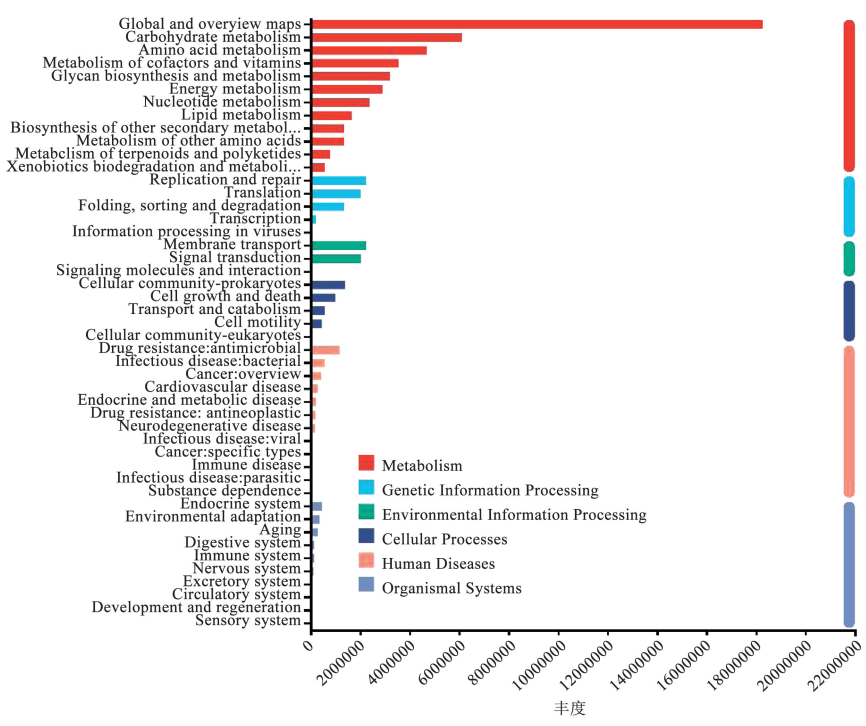


图 4 KEGG 通路注释结果

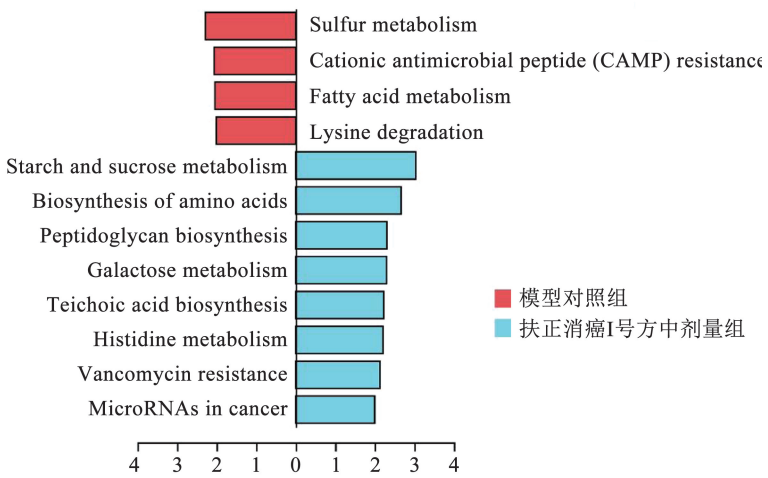


图 5 LDA 判别柱形图

表 7 LDA 判别结果表

组别	功能名称	平均值	LDA 值	P 值
扶正消癌 I 号方中剂量组	淀粉和蔗糖代谢	4.050 155	3.036 893	0.047 202
	氨基酸的生物合成	4.535 844	2.672 005	0.047 202
	肽聚糖生物合成	3.913 203	2.307 374	0.016 294
	半乳糖代谢	3.874 531	2.302 378	0.028 280
	磷壁酸生物合成	3.409 748	2.228 839	0.009 023
	组氨酸代谢	3.568 129	2.210 696	0.009 023
	耐万古霉素	3.501 309	2.137 724	0.028 280
	癌症中的微小 RNA	3.209 749	2.002 704	0.016 294
	硫代谢	3.486 912	2.279 593	0.028 280
模型对照组	阳离子抗菌肽 (CAMP) 耐药性	3.555 313	2.058 271	0.047 201
	脂肪酸代谢	3.645 896	2.037 415	0.009 023
	赖氨酸降解	3.009 723	2.005 456	0.009 023

表 8 KEGG 酶相对丰度比较($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	α - 葡萄糖苷酶	UTP - 葡萄糖 - 1 - 磷酸尿苷酸转移酶	磷酸葡萄糖变位酶	麦芽糖 α - D - 葡萄糖基转移酶
模型对照组	1.00 $\pm$ 0.58	1.00 $\pm$ 0.71	1.00 $\pm$ 0.48	1.00 $\pm$ 0.46
扶正消癌 I 号方中剂量组	0.50 $\pm$ 0.25 *	0.32 $\pm$ 0.15 *	0.53 $\pm$ 0.30 *	0.39 $\pm$ 0.26 *

注:与模型对照组比较, * $P < 0.05$ 。

4 讨论

基于中医整体观与动态平衡理论,恶性肿瘤的发生本质是机体稳态系统失代偿的全身性病理改变。现代研究显示,外邪侵袭、情志失调与饮食失节等多重致病因素协同作用,导致阴阳失衡状态,继而引发脏腑气机紊乱及气血津液代谢失调。在此过程中,气滞血瘀、痰湿互结、热毒内蕴等病理产物相互胶结,形成“痰瘀毒结”的恶性循环,最终演变为有形症积。CRC 在中医典籍中对应“肠覃”“脏毒”等病证范畴,其病位虽在大肠,然与脾失运化、肝失疏泄、肾气衰惫等脏腑功能失调密切相关。病理机制多由正气亏虚致卫外失固,湿热毒邪乘虚内陷,壅滞肠腑而酿生癌毒,临床治疗需遵循“扶正培本、化瘀解毒、健脾调肝”的复合干预策略^[17-18]。扶正消癌 I 号方是上海市第七人民医院肿瘤科治疗肠癌的长期经验总结,其组方架构严格遵循君臣佐使配伍原则:确立黄芪 - 太子参为君药对,发挥益气固表、培土生金之效;臣药群包含炒白术 - 茯苓 - 山药构成健脾和胃组合,配伍当归 - 白花蛇舌草 - 山慈菇 - 藤梨根形成养血活血与解毒散结双重作用模块;佐使药组由川芎 - 麦冬 - 地黄构建气机调畅与滋阴凉血协同体系,炙甘草则承担调和全方之责。全方共奏扶正祛邪、益气养血、抗癌解毒之功效,精准应对 CRC 湿热瘀毒、脾气亏虚的基本病机。临床上已证实扶正消癌 I 号方可显著延长晚期消化道肿瘤患者生存周期并提升生存质量^[11-12]。本研究发现扶正消癌 I 号方低、中、高剂量组瘤体质量、体积增长较模型对照组有减弱的趋势,且中、高剂量组在第 13、15 天瘤体体积显著降低。此外,HE 染色发现与模型对照组相比,扶正消癌 I 号方低、中、高剂量组肿瘤组织中呈现剂量依赖性的坏死现象。可见,扶正消癌 I 号方对 CRC 裸鼠有一定的抑瘤作用。

肠道菌群具有极为丰富的种类和庞大的规模,可编码的基因数量超过 300 万个且能合成数千种生物活性分子,在宿主代谢调控、神经内分泌调节及免疫稳态维持中发挥重要生理功能^[19]。多项研究^[20-22]证明肠道菌群对调控 CRC 进程的作用不容小觑。本研究从肠道菌群角度探讨扶正消癌 I 号方对 CRC 裸鼠肠道分布的影响,在肠道菌群多样性观察中,Alpha、Beta 及 PERMANOVA 检验分析表明扶正消癌 I 号方治疗前

后裸鼠的肠道菌群多样性存在显著差异。进一步分析差异菌群发现,与模型对照组相比,扶正消癌 I 号方中剂量组的副萨特氏菌属、双歧杆菌属、粪杆菌属、耳蜗形梭菌、啮齿粪杆菌丰度显著增加,变形杆菌属、柠檬酸杆菌属、摩根菌属、肠杆菌属、摩氏摩根菌、霍氏肠杆菌的丰度显著下降。其中,双歧杆菌属是目前公认的益生菌^[23],可定植黏附在人的肠上皮细胞,通过糖酵解等途径产生短链脂肪酸、共轭亚油酸、多酚等代谢产物,有效降低肠道 pH 值并抑制腐败细菌增殖,减少吲哚、甲酚、胺等有害物质的产生,对维持肠黏膜屏障的完整性和促进组织修复起到了有益的作用^[24-25]。啮齿粪杆菌则是通过视黄酸 - 嗜酸性粒细胞 - $INF\gamma$ 信号轴调控肠上皮稳态^[26],其代谢产物短链脂肪酸可抑制钙调磷酸酶、激活 NFATc3,从而控制蛋白质乙酰化和肿瘤细胞增殖^[27]。副萨特氏菌属虽缺乏糖代谢能力,但可通过琥珀酸盐合成参与胆汁酸和胆固醇代谢^[28],进而调节肠道免疫微环境。而变形杆菌属^[29]、柠檬酸杆菌属^[30]、肠杆菌属^[31]、霍氏肠杆菌^[32]、摩根菌属、摩氏摩根菌^[33]均属于条件致病菌,与泌尿系统感染及肠道炎症状态密切相关。综上所述,扶正消癌 I 号方可能通过重塑肠道菌群结构,促进益生菌介导的代谢网络,同时抑制条件致病菌驱动的炎癌转化进程,从而发挥抗结直肠癌作用。

宏基因组测序技术不仅可以注释肠道菌群的种类和数量,还可以预测肠道菌群的功能。本研究中,通过 KEGG 代谢通路注释发现,碳水化合物代谢相关通路在治疗组呈现显著富集,其中淀粉与蔗糖代谢通路被鉴定为扶正消癌 I 号方干预 CRC 的关键靶标通路。进一步对该通路的差异酶活性分析发现,与模型对照组相比, α - 葡萄糖苷酶、UTP - 葡萄糖 - 1 - 磷酸尿苷酸转移酶,磷酸葡萄糖变位酶,麦芽糖 α - D - 葡萄糖基转移酶在治疗组中显著下调。 α - 葡萄糖苷酶作为糖代谢关键酶,其生理功能在于特异性水解 α - 葡萄糖苷键。正常生理情况下,食物中的碳水化合物由唾液腺和胰腺分泌的 α - 淀粉酶水解成低聚糖,然后再由小肠中的 α - 葡萄糖苷酶分解成可吸收的葡萄糖^[34]。CRC 发生时,即使氧气供应十分充足,肿瘤细胞也依旧优先借助糖酵解途径来获取能量。这种不同于常规的异常代谢模式,使得肿瘤细胞对葡萄糖代谢产生了

过度的依赖。当肿瘤细胞代谢所需的葡萄糖底物不足时,肿瘤细胞的增殖活性便会受到抑制。因此,抑制葡萄糖代谢可能是 CRC 发生的保护因素^[35]。扶正消癌 I 号方通过改善肠道菌群的紊乱状态,特异性下调 α -葡萄糖苷酶等碳水化合物代谢相关酶的表达水平,进而抑制寡糖向单糖的转化效率,从而抑制 CRC 的发生发展。

本研究系统揭示了扶正消癌 I 号方通过肠道菌群调控发挥抗结直肠癌作用的多维机制。核心发现表明,该复方可显著重塑 CRC 模型肠道菌群结构,促进益生菌群增殖并抑制条件致病菌群定植;通过修复肠上皮、增强黏液屏障功能及调控短链脂肪酸代谢网络,实现肠道稳态重建;特异性调节淀粉-蔗糖代谢通路关键酶活性,抑制 α -葡萄糖苷酶介导的糖代谢亢进,有效阻断肿瘤能量代谢模式。然而,肠道菌群与 CRC 之间的作用非常复杂,后续仍需扩大样本量,进一步通过粪便微生物移植技术深入研究扶正消癌 I 号方发挥疗效的具体机制。

参考文献:

- [1] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74 (3): 229 - 263.
- [2] ROSHANDEL G, GHASEMI - KEBRIA F, MALEKZADEH R. Colorectal cancer: epidemiology, risk factors, and prevention [J]. Cancers (Basel), 2024, 16 (8): 1530.
- [3] WONG S H, YU J. Gut microbiota in colorectal cancer: mechanisms of action and clinical applications [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019, 16 (11): 690 - 704.
- [4] GOPALAKRISHNAN V, HELMINK B A, SPENCER C N, et al. The influence of the gut microbiome on cancer, immunity, and cancer immunotherapy [J]. Cancer Cell, 2018, 33 (4): 570 - 580.
- [5] 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.
- [6] MICHAUDEL C, SOKOL H. The gut microbiota at the service of immunometabolism [J]. Cell Metab, 2020, 32 (4): 514 - 523.
- [7] KOSUMI K, MIMA K, BABA H, et al. Dysbiosis of the gut microbiota and colorectal cancer: the key target of molecular pathological epidemiology [J]. J Lab Precis Med, 2018, 3: 76.
- [8] NISHIDA A, INOUE R, INATOMI O, et al. Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease [J]. Clin J Gastroenterol, 2018, 11 (1): 1 - 10.
- [9] GOMAA E Z. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review [J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2020, 113 (12): 2019 - 2040.
- [10] THOMAS A M, MANGHI P, ASNICAR F, et al. Metagenomic analysis of colorectal cancer datasets identifies cross-cohort microbial diagnostic signatures and a link with choline degradation [J]. Nat Med, 2019, 25 (4): 667 - 678.
- [11] 侯安继, 刘源, 胡艳, 等. 扶正消癌 I 号方治疗晚期结直肠癌疗效观察 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20 (11): 2908 - 2910.
- [12] 侯安继, 顾魏峰, 孙行家, 等. 扶正消癌 I 号方结合最佳支持疗法治疗晚期胃癌近期疗效观察 [J]. 上海中医药杂志, 2014, 48 (5): 51 - 52, 59.
- [13] 胡艳, 侯安继, 张红卫, 等. 扶正消癌 I 号方联合 OFL 方案治疗中晚期胃癌的临床观察 [J]. 新中医, 2011, 43 (2): 104 - 106.
- [14] 胡艳, 高红芳, 周莉, 等. 扶正消癌 I 号方对 GP 方案治疗老年非小细胞肺癌减毒增效的临床研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2010, 37 (1): 107 - 109.
- [15] 胡艳, 侯安继, 周维, 等. 扶正消癌 I 号方对 FOLFOX4 方案治疗晚期结直肠癌减毒增效的临床研究 [J]. 上海中医药杂志, 2009, 43 (2): 30 - 32.
- [16] 张艳丽, 张红卫, 杜鹃, 等. 扶正消癌 I 号方对小鼠肠癌肝转移血管内皮生长因子的表达的影响 [J]. 世界中医药, 2016, 11 (6): 1066 - 1069.
- [17] 魏小曼, 程海波. 基于癌毒病机理论的大肠癌治则治法 [J]. 中华中医药杂志, 2020, 35 (12): 6182 - 6184.
- [18] 陈蓉, 李少华, 龚丽燕, 等. 李伯藩治疗大肠癌经验 [J]. 中医杂志, 2020, 61 (7): 578 - 580.
- [19] VALDES A M, WALTER J, SEGAL E, et al. Role of the gut microbiota in nutrition and health [J]. BMJ, 2018, 361: k2179.
- [20] X U F Q, LI Q Q, WANG S Y, et al. The efficacy of prevention for colon cancer based on the microbiota therapy and the antitumor mechanisms with intervention of dietary *Lactobacillus* [J]. Microbiol Spectr, 2023, 11 (5): e0018923.
- [21] YANG J, WEI H, ZHOU Y F, et al. High-fat diet promotes colorectal tumorigenesis through modulating gut microbiota and metabolites [J]. Gastroenterology, 2022, 162 (1): 135 - 149. e2.
- [22] BELL H N, REBERNICK R J, GOYERT J, et al. Reuterin in the healthy gut microbiome suppresses colorectal cancer growth through altering redox balance [J]. Cancer Cell, 2022, 40 (2): 185 - 200.
- [23] ALESSANDRI G, VAN SINDEREN D, VENTURA M. The genus *Bifidobacterium*: from genomics to functionality of an important component of the mammalian gut microbiota running title: bifidobacterial adaptation to and interaction with the host [J]. Comput Struct Biotechnol J, 2021, 19: 1472 - 1487.
- [24] TOUMI R, ABDELOUHAB K, RAFA H, et al. Beneficial role of the probiotic mixture Ultrabiotique on maintaining the integrity of intestinal mucosal barrier in DSS-induced experimental colitis [J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2013, 35 (3): 403 - 409.
- [25] YAN S, YANG B, ROSS R P, et al. *Bifidobacterium longum* subsp. longum YS108R fermented milk alleviates DSS induced colitis via anti-inflammation, mucosal barrier maintenance and gut microbiota modulation [J]. J Funct Foods, 2020, 73: 104153.
- [26] GRACE CAO Y, BAE S N, VILLARREAL J, et al. *Faecalibaculum rodentium* remodels retinoic acid signaling to govern eosinophil-dependent intestinal epithelial homeostasis [J]. Cell Host Microbe, 2022, 30 (9): 1295 - 1310. e8.
- [27] ZAGATO E, POZZI C, BERTOCCHI A, et al. Endogenous murine microbiota member *Faecalibaculum rodentium* and its human homologue

- protect from intestinal tumour growth[J]. Nat Microbiol, 2020, 5(3): 511–524.
- [28] JU T T, KONG J Y, STOTHARD P, et al. Defining the role of *Parasutterella*, a previously uncharacterized member of the core gut microbiota[J]. ISME J, 2019, 13(6): 1520–1534.
- [29] HAMILTON A L, KAMM M A, NG S C, et al. *Proteus* spp. as putative gastrointestinal pathogens [J]. Clin Microbiol Rev, 2018, 31(3): e00085–17.
- [30] LIANG Q C, VALLANCE B A. What's for dinner? How *Citrobacter rodentium*'s metabolism helps it thrive in the competitive gut[J]. Curr Opin Microbiol, 2021, 63: 76–82.
- [31] GASTON M A. *Enterobacter*: an emerging nosocomial pathogen[J]. J Hosp Infect, 1988, 11(3): 197–208.
- [32] YEH T K, LIN H J, LIU P Y, et al. Antibiotic resistance in *Enterobacter hormaechei*[J]. Int J Antimicrob Agents, 2022, 60(4): 106650.
- [33] LIU H, ZHU J M, HU Q W, et al. *Morganella morganii*, a non-negligent opportunistic pathogen[J]. Int J Infect Dis, 2016, 50: 10–17.
- [34] ZHANG B W, LI X, SUN W L, et al. Dietary flavonoids and acarbose synergistically inhibit α -glucosidase and lower postprandial blood glucose[J]. J Agric Food Chem, 2017, 65(38): 8319–8330.
- [35] BARTRAM H P, SCHEPPACH W, HEID C, et al. Effect of starch malabsorption on fecal bile acids and neutral sterols in humans: possible implications for colonic carcinogenesis [J]. Cancer Res, 1991, 51(16): 4238–4242.

Metagenomics – Based Study on Effects of Fuzheng Xiao' ai Formula I on Intestinal Flora in Colorectal Tumor – Bearing Nude Mice

XIAO Wenjuan¹, ZHANG Miao¹, SONG Yanan², XIA Wei^{1,2}

1. The Seventh People's Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200137, China;

2. Gongli Hospital of Pudong New District, Shanghai 200135, China

Abstract Objective: To study the inhibitory effect of Fuzheng Xiao' ai Formula I on colorectal cancer tumors in nude mice from the perspective of intestinal flora. Methods: The CRC nude mouse model was constructed and 20 successfully modeled nude mice were randomly divided into the model control group and low dose (17.47 g/kg), medium dose (34.94 g/kg), and high dose (69.89 g/kg) groups of Fuzheng Xiao' ai Formula I, with 5 mice in each group. The model control group was gavaged with normal saline, and each dose of Fuzheng Xiao' ai Formula I was gavaged with the corresponding concentration of decoction. After 2 consecutive weeks of intervention, the nude mice were sacrificed, the tumor bodies were completely dissected, and some tumor tissues were taken for HE staining. Based on the tumor weight, volume and pathological results, the medium dose group with better efficacy was screened out. Meanwhile, the cecal contents of this group and the model control group were collected for metagenomic sequencing analysis. Results: The tumor weight and volume of nude mice in each dose group of Fuzheng Xiao' ai Formula I decreased. HE staining showed that the density of tumor cells in the low, medium, and high dose groups of Fuzheng Xiao' ai Formula I decreased, accompanied by different degrees of necrosis. Metagenomic sequencing showed that compared with the model control group, the abundances of *Parabacteroides*, *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium*, *Clostridium auriscati*, and *Faecalibaculum rodentium* in the medium dose group significantly increased ($P < 0.05$), and the abundances of *Proteus*, *Citrobacter*, *Morganella*, *Enterobacter*, *Morganella morganii*, and *Enterobacter hormaechei* significantly decreased ($P < 0.05$). Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes analysis found that the starch and sucrose metabolism pathway was significantly different between the two groups ($P < 0.05$), among which α -glucosidase, UTP-glucose-1-phosphate uridylyltransferase, phosphoglucosmutase, and maltose α -D-glucosyltransferase were significantly downregulated in this pathway ($P < 0.05$). Conclusion: Fuzheng Xiao' ai Formula I repairs the intestinal barrier and maintains the homeostasis of the intestinal environment by increasing the abundance of beneficial bacteria and reducing the abundance of harmful bacteria. Down-regulating α -glucosidase in the starch and sucrose metabolism pathway may be a potential way for it to exert anti-colorectal cancer effects.

Key words Colorectal cancer; Fuzheng Xiao' ai Formula I; Intestinal flora; Metagenomics; α -Glucosidase