

# 腸道菌叢與大腸直腸癌

文、圖 / 蕭仲呈<sup>1</sup> 陳姿君<sup>2</sup> 梁金銅<sup>3</sup>

國立台灣大學醫學院附設醫院外科部<sup>1</sup>

國立台灣大學醫學院附設醫院癌醫中心分院腫瘤外科<sup>2</sup>

國立台灣大學醫學院附設醫院大腸直腸外科<sup>3</sup>

## 前言

人類的胃腸道是接觸環境因子與抗原之間最大的器官，其面積達到250–400平方公尺。在人類終其一生之內，大約有60噸的食物和來自環境的大量微生物通過胃腸道，因此，過濾微生物並與之共存是一項重大挑戰。居住在腸胃道中的微生物群被稱為「微菌叢」(microbiota)，由細菌、古菌和真核生物組成，這些微生物在數千年的進化過程中與宿主建立了複雜且互利的關係。據估計，胃腸道中的微生物數量超過 $10^{14}$ 個細胞，大約是人體細胞數量的10倍。腸胃微生物的基因多樣性是人類的100倍。由於微生物數量龐大且與宿主密切結合，人與微生物群的系統被稱為「超級有機體」(super organism)<sup>(1)</sup>。

越來越多的研究顯示，大腸直腸癌的發生率以及進程與腸道微生物的組成密切相關。在正常狀況之下，腸道微生物組擔任腸道內抵禦其他病原體或感染的屏障，並通過影響宿主免疫系統來調節發炎反應。這些腸道微生物不僅與腫瘤形成相關，也與腸道發炎性疾患有關，還影響抗癌免疫反應的調節，因此它們與腫瘤的進展以及抗癌治療的療效關係十分密切。還有更多研究表明，腸道微生物組成可以作為生物指標用以預測免疫治療效果，並通過調控訊號傳遞路徑來提高免疫治療對大腸直腸癌治療的效果。在本篇綜合論述中，我們將討論腸道微生物叢在大腸直腸癌生長和進展中所扮演的角色，以及了解其與癌症治療方式的交互作用<sup>(2)</sup>。

## 腸道微生物的發展與組成

目前微菌叢的繁殖被認為始於出生之後，但研究顯示胎便並非如以往認為的如此無菌。利用兩種先進的培養的技術，對於早產兒三週內的胎便以及正常糞便進行分析，兩種培養方法結果均顯示胎便確實含有菌叢且其微生物菌叢與胎兒糞便的微生物菌叢十分不同。厚壁菌門(Firmicutes)是胎便中的主要門類，而變形菌門(Proteobacteria)在糞便中則更為豐富。從培養的結果中發現：胎便中以葡萄球菌屬為主，而糞便樣本中腸球菌及某些革蘭氏陰性細菌(如大腸桿菌、肺炎克雷伯氏菌或粘質沙雷氏菌)更為常見。因此，微菌叢有更高的機率始於胎兒階段而非出生之後<sup>(3)</sup>。

在人類早期發育階段，微生物菌叢的多樣性通常較低，主要由兩大門類組成：放線菌門(Actinobacteria)和變形菌門。在生命的第一年內，微生物的多樣性逐漸增加，微生物組的組成逐漸類似成人的獨特模式。到約莫2.5歲時，嬰兒的微生物組在組成、多樣性以及功能方面已接近於成人。雖然成年的腸道微生物組成相對穩定，但仍會受到一些事件的干擾。整體而言，健康的腸道微生物群主要由厚壁菌門和擬桿菌門(Bacteroidetes)構成，其次是放線菌門和疣微菌門(Verrucomicrobia)。從食道到直腸，隨著距離的增加，細菌的多樣性和數量會顯著增多，從食道和胃內容物中的每克 $10^{11}$ 個細菌增至結腸直腸內容物中的每克 $10^{12}$ 個細菌<sup>(4)</sup>。

## 腸胃道微生物的多樣性

在食道、十二指腸、空腸當中鏈球菌屬 (*Streptococcus*) 是主要的菌群<sup>(5)</sup>。在胃當中，幽門螺旋桿菌 (*Helicobacter pylori*) 是主要的細菌，並決定了胃內微生物群的整體結構<sup>(6)</sup>。結腸中主要的菌門包括厚壁菌門和擬桿菌門。除了厚壁菌門和擬桿菌門的屬群外，人類結腸還含有原發性病原體，例如空腸彎曲桿菌 (*Campylobacter jejuni*)、腸道沙門氏菌 (*Salmonella enterica*)、霍亂弧菌 (*Vibrio cholerae*) 和大腸桿菌 (*Escherichia coli*)，以及脆弱擬桿菌 (*Bacteroides fragilis*)，但其豐富度很低 (通常低於腸道微生物群總數的 0.1%)。這種在個體中不同部位的微生物多樣性又被稱作為「縱向的多樣性」。

另一方面，糞便/腸腔與黏膜的微生物組成則存在顯著差異。例如，類桿菌門的豐富程度在糞便/腸腔樣本中高於黏膜中。相比之下，厚壁菌門，特別是梭狀桿菌屬第十四門 (*Clostridium cluster XIVa*)，在黏液層中的豐富程度高於腸腔<sup>(7)</sup>。

## 微菌叢的功能

微菌叢的功能相當多樣：營養代謝、微生物的抵抗與腸道屏障、免疫功能。在營養能量代謝方面，在結腸中的菌叢與短鏈脂肪酸 (short chain fatty acid) 的合成有關。透過發酵尚未被近端腸道代謝的碳水化合物以及難以消化的低聚糖，進而合成乙酸、丙酸、以及丁酸。這些短鏈脂肪酸是人體相當重要的能量來源。另外、在脂肪的代謝當中腸內菌叢也扮演了一定程度的角色。研究顯示，腸道微生物群透過降低對於脂肪細胞中脂蛋白分解酯酶 (lipoprotein lipase) 活性的抑制，使得脂質代謝更為活躍。此外，已有研究證明擬桿菌脆弱菌 (*Bacteroides thetaiotaomicron*) 能經由增加胰脂肪酶 (pancrelipases) 進行脂質消化所需的輔脂酶 (colipase) 的表現，提高脂質水解的效率。在一些維生素的合成當中也少不了微菌叢的幫忙。常見的維他命 K 以及維他命 B 的合成均需要微菌叢的協助。

雙歧桿菌 (*Bifidobacteria*) 在不同的生物體內模型中被證明能減少發炎反應。研究顯示，它們

能增強黏膜的屏障功能，在壞死性小腸結腸炎的小鼠模型中發現這些菌叢能穩定緊密連接中的 claudin 2 (緊密連接蛋白第二型)、claudin 4 (緊密連接蛋白第四型) 和 occludin (封閉蛋白) 這些蛋白。此外，雙歧桿菌還具有抗氧化特性，參與維持腸道絨毛的完整性<sup>(8)</sup>。

在免疫功能方面，腸道菌叢在人體宿主的免疫反應中發揮許多作用。這種複雜的交互作用能夠支持免疫耐受性和免疫監視的運作，辨認並消除伺機性感染之細菌。此一表現透過無菌小鼠 (germfree) 為主的動物實驗得以證實。在動物研究中，已知缺乏腸胃道共生菌，會造成腸道免疫系統發育不良，且腸道黏膜的發育與完整性也會有所損傷<sup>(9)</sup>。人體的免疫細胞，如巨噬細胞、樹突細胞，具有特殊的受器，能夠辨識微生物上的特殊成分，進而誘發免疫反應。而腸胃道共生菌，與造成腸胃道感染的病原菌，兩者均具有類似的特殊微生物組成，但是腸胃道的免疫系統，只會對腸胃道的病原菌產生免疫反應，卻不會對腸胃道共生菌產生免疫反應。雖然目前對於此差別機轉未能完全清楚，不過可能和特化的腸胃道免疫結構有關。腸胃道的共生菌會被侷限在胃腸腔中，但是病原菌則會破壞黏膜並侵犯到黏膜下層，進而在該處誘發免疫反應。腸胃道也存在具抗原專一性的後天免疫細胞，包括了促進免疫反應的 TH17 細胞與抑制免疫反應的調節性 T 細胞 (Treg)，前者與腸胃道對抗病原菌感染有關，後者則會維持腸胃道免疫系統的恆定，避免過度發炎反應。利用特殊的動物模式，有些特定的病原菌會促進 TH17 細胞的產生，但有些共生菌則與調節性 T 細胞的發生有關。因此，若是某些因素改變腸胃道共生菌叢的組成，進而造成微生態失調 (dysbiosis)，會導致腸胃道免疫系統失調造成疾病，而這也是形成發炎性腸炎的可能機轉之一<sup>(9)</sup>。

## 微菌叢與大腸直腸癌

作為胃腸道中最豐富的微生物，腸道細菌的失調 (dysbiosis)，已被證實多面向促進了大腸直腸癌的發展和惡化。腸道菌群失調和腸道通透性增加會誘發結腸炎症，並可能促使大腸直腸

癌的產生。有兩篇大規模的統合分析研究(768人<sup>(10)</sup>、969人<sup>(11)</sup>)以大腸直腸病人的糞便微生物基因進行大數據分析，發現這群病人的大便當中富含特定的微生物種。包含來自口腔病原體，包括具核梭桿菌(*Fusobacterium nucleatum*)、微小微單孢菌(*Parvimonas micra*)、口炎消化鏈球菌(*Peptostreptococcus stomatis*)等。此外，這些口腔病原體在大腸直腸癌早期病變(如腺瘤)中也有所增加，說明腸道菌群失調可能是大腸直腸癌的早期變化之一。甚至有些研究還發現，不同期別的大腸直腸癌病人，其腸道菌群組成有所差異。

儘管大腸直腸癌形成的確切機制尚未完全了解，但慢性發炎已被認為是惡性腫瘤發生的誘因之一。據統計，約20%的結腸惡性腫瘤是由慢性發炎所導致的。在癌變過程中，癌細胞產生的發炎細胞激素(inflammatory cytokine)和趨化因子(chemokines)吸引未成熟骨髓細胞以及促發炎輔助T細胞聚集。這種有利腫瘤的生長的微環境由生長因子、血管生成因子、組織重塑酵素，以及抑制抗腫瘤T細胞反應等多項因子組成，進而促進腫瘤進展<sup>(12)</sup>。

### 大腸直腸癌相關腸道細菌及其機制

首先，是牛鏈球菌(*Streptococcus bovis*)，它是腸道內的常見的原生菌叢，有篇以回溯性研究為主體的統合分析指出，由*Streptococcus bovis*所引起的感染性心內膜炎，是罹患大腸直腸癌的表徵之一。當然，*S. bovis*的蛋白質結構被認為和大腸直腸癌產生的發炎因子以及促癌因子有高度的相關性。研究發現其通過發炎訊號途徑(如IL-1、COX-2和IL-8)參與大腸直腸癌的形成<sup>(13)</sup>。

具核梭桿菌，則是透過下列幾種機轉，造成大腸直腸癌的產生。第一，促腸胃道粘膜發炎因子，使得腸胃道處於慢性發炎的狀態。第二，能夠使被腫瘤浸潤的免疫細胞聚集在腸胃道粘膜上，促成腫瘤形成以及惡化。第三，*F. nucleatum*會產生出一種獨特的蛋白—*Fusobacterium adhesin A (FadA)*，此一蛋白在與上皮細胞黏著因子(E-cadherin)結合後，會誘使連環蛋白 $\beta$ -1 ( $\beta$ -catenin)訊號傳遞路徑的活化，進一步促使腫瘤細胞的惡化<sup>(14)</sup>。

糞腸球菌(*Enterococcus faecalis*)則是透過產生的超氧化物以及羥基自由基，進而導致腸胃道上皮細胞的DNA損傷及增加染色體不穩定性，增加大腸直腸癌風險。

沙門氏桿菌(*Salmonella*)和空腸彎曲桿菌這兩類細菌則是透過釋放毒素造成DNA損傷，提高大腸直腸癌的發生率。沙門氏桿菌會分泌typhoid toxin，而*Campylobacter jejuni*則是分泌致病因子細胞腫脹毒素(cytolethal distending toxin)。此兩種毒素分別會提高DNase(去氧核糖核酸酶)的活化而造成雙股DNA的裂解及損傷。造成DNA損傷的同時，這些毒素也促使細胞週期中的檢查點失能(checkpoint response dysfunction)。透過這兩種方法促使大腸直腸黏膜細胞產生癌變。

具毒性的脆弱擬桿菌原本以產生*B. fragilis toxin*造成腹瀉與引起發炎性腸疾患而聞名。這個菌株能透過活化transcription 3 (STAT3)以及Th17(輔助反應T細胞)反應致使大腸直腸腫瘤的形成<sup>(15)</sup>。

### 微菌叢與大腸直腸癌的進程與預後

具核梭桿菌表現較高的大腸直腸癌病人與預後較差有著相關性。其存在顯著增加了腫瘤壞死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、連環蛋白- $\beta$ 和核因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)的表現。此外，免疫化學分析顯示，*F. nucleatum*的存在與KRAS和BRAF基因的表現有相關<sup>(16)</sup>(圖1)。

與*F. nucleatum*相似，*B. fragilis*的高表現也與KRAS和BRAF的高表現相關，表明其可能在大腸直腸癌的基因突變和腫瘤進展中發揮重要作用。

消化鏈球菌(*Peptostreptococcus anaerobius*)的表面蛋白Putative Cell Wall Binding Repeat 2 (PCWBR2)在小鼠模型中對於結腸直腸癌的惡化有著一定程度的重要性<sup>(17)</sup>。PCWBR2此表面蛋白透過與整合素 $\alpha$ 2/ $\beta$ 1(integrin  $\alpha$ 2/ $\beta$ 1)的結合來啟動癌化訊號路徑PI3K-Akt signaling pathway。這個路徑最終導致腫瘤細胞的增殖、抑制宿主本身的細胞凋亡訊號，進而使大腸直腸癌惡化<sup>(17)</sup>。

研究指出，大腸桿菌的數量與腸胃道處於發炎狀態以及含氧自由基的多寡有著密切的相關性，含氧自由基濃度提高則與大腸直腸腫瘤浸潤的增加有關。此外，大腸桿菌分泌名為colibactin

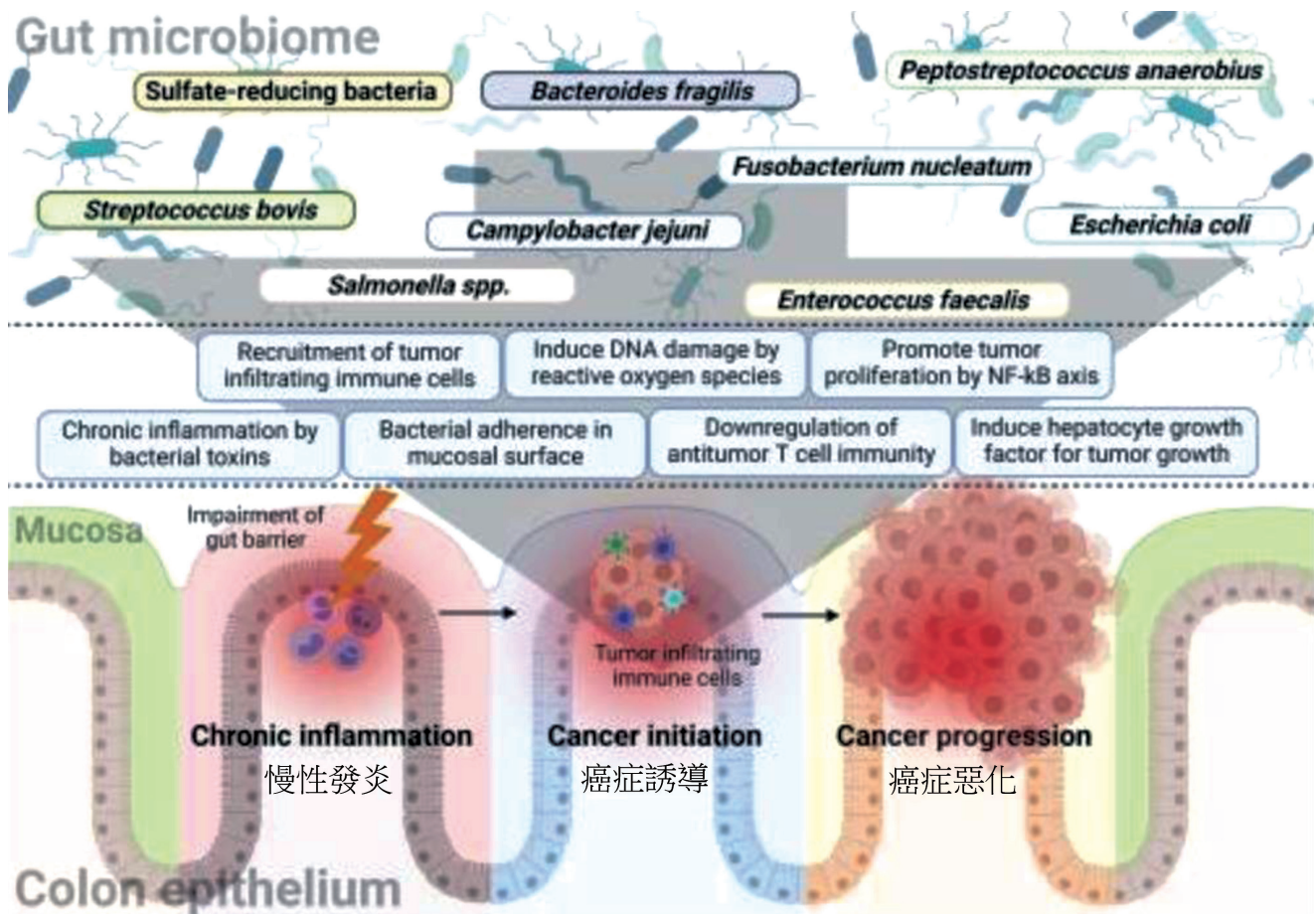


圖1 腸胃道各細菌叢與大腸直腸之關係<sup>(2)</sup>。

的酮基毒素，此毒素也已經被證實對於腫瘤的生長惡化有著相關性。

### 對腸道友善的消化道菌叢

相對而言，某些消化道菌叢的存在被認為對於大腸直腸癌的生長有抗癌效果。

普拉梭菌(*Faecalibacterium prausnitzii*)，作為一種益生菌，可生成疏水性微生物抗發炎分子，抑制腸道上皮細胞中的 NF-κB 訊號路徑活性。

鼠李糖乳酸菌 GG (*Lactobacillus rhamnosus* GG) 與雙歧桿菌 Bb12 (*Bifidobacterium lactis* Bb12) 能夠幫助具息肉病史的病人預防異常的上皮增殖，並改善腸道上皮的緊密連接屏障功能。

乳酸桿菌屬(*Lactobacilli*)以及雙歧桿菌屬，於小鼠模型中，證實有助於抑制腫瘤進展及腫瘤體積<sup>(18)</sup>。這兩類益生菌的存在被證實可以增加短

鏈脂肪酸(SCFA)的產生，進而誘導細胞凋亡並抑制腫瘤增殖。

### 消化道菌叢與大腸直腸癌的治療

腸道微生物群與結直腸癌密切相關，促使許多研究探討其對結腸直腸癌治療的影響。與各種治療方式相結合以增強臨床癌症治療的效果也是目前研究的重點。除了傳統的化學治療藥物和放射治療外，新興領域還包括腸道微生物群與免疫檢查點抑制劑(ICIs)結合的協同作用。

在化療方面，微生物叢有著參與抗癌藥物的代謝過程，在調節細胞毒性的功能。經過抗生素篩選特定菌叢的小鼠模型當中，鉑金類化療藥物處方功效會減弱。此外，另一常見的大腸直腸癌化療藥物gemcitabine，當遇到病人腫瘤細胞內含有γ-變形菌綱(Gammaproteobacteria)此一菌種時，

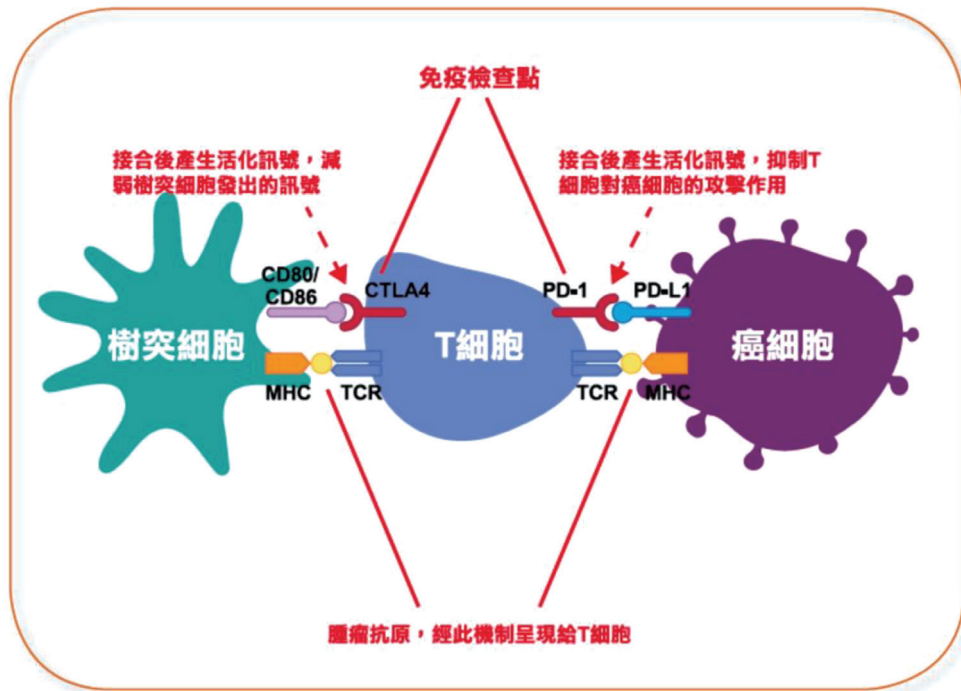


圖2 免疫治療相關機轉(引用自台灣癌症基金會網站)。

其化療效果會減弱，主因在於此細菌含有與細胞嘧啶脫氨酶(cytidine deaminase)結構相似的酵素，能夠將gemcitabine轉換為沒有活性的型態。

具核梭桿菌此菌叢除了與大腸直腸癌的產生有關以外，它的存在更是會影響化學治療成效。研究顯示，消化道內含有*F. nucleatum*越多，病人對於5FU以及oxaliplatin的治療效果變差。此株細菌透過刺激類鐸受體4(toll-like receptor 4)和骨髓分化因子88(Myd88)先天免疫信號干預細胞凋亡，進而活化自噬(autophagy)訊號，從而導致大腸直腸癌的化療耐藥性<sup>(19)</sup>。

放射治療後體內常駐的共生菌叢會減少，而致發炎性的細菌叢會增加。同時，放射線治療會削弱大腸直腸的粘膜屏障，增進害菌穿過腸道屏障的機會，引發額外的腸道炎症反應和其他組織的損傷。

在癌症免疫治療當中，癌細胞往往會透過活化細胞毒性T淋巴細胞相關抗原4(CTLA-4)這個免疫檢查點，進而阻斷樹突細胞傳遞訊號給T細胞，使得癌症細胞規避狙殺。研究結果指出，*Bacteroides*屬細菌數量較多的狀況之下，其接受CTLA-4抑制的抗腫瘤效果越好<sup>(20)</sup>。同時，也有

小鼠實驗說明雙歧桿菌與抗腫瘤效應相關，其機制是通過增強樹突狀細胞功能，從而提高CD8(+) T細胞的活化而提高腫瘤狙殺的效率。這些發現證實透過調節腸道微生物群(例如飲食改變、益生菌或糞便移植)來提高免疫治療的成效的可能性(圖2)。

## 結語

越來越多研究顯示，腸道菌叢對大腸直腸腫瘤具有顯著的影響。從發生率到治療成效，腸道菌叢都佔了舉足輕重的角色。透過此篇文獻回顧，我們可以了解到，*Streptococcus bovis*、*Fusobacterium nucleatum*、*Salmonella*、*Campylobacter jejuni*這些消化道菌叢分別透過不同機轉對於大腸直腸癌的發生率有著正增強的影響。在腫瘤的進展方面，消化道菌叢會透過調控基因(KRAS, BRAF)以及影響細胞複製檢查點(check point)的方法進而加速腫瘤的進展。經由了解微菌叢與大腸直腸癌的關係，我們可以利用已知的訊號傳遞路徑，進而優化目前的化學治療以及免疫治療的策略以提升大腸直腸癌的整體存活率以及無病存活率。

## 參考文獻

1. Thursby E, Juge N: Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J* 2017; 474: 1823-1836.
2. Kim J, Lee HK: Potential role of the gut microbiome in colorectal cancer progression. *Front Immunol* 2021; 12: 807648.
3. Moles L, Gómez M, Heilig H, et al.: Bacterial diversity in meconium of preterm neonates and evolution of their fecal microbiota during the first month of life. *PLoS One* 2013; 8: e66986.
4. O'Hara AM, Shanahan F: The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep* 2006; 7: 688-693.
5. Pei Z, Bini EJ, Yang L, et al.: Bacterial biota in the human distal esophagus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 4250-4255.
6. Blaser MJ: Hypothesis: the changing relationships of *Helicobacter pylori* and humans: Implications for health and disease. *J Infect Dis* 1999; 179: 1523-1530.
7. Van den Abbeele P, Belzer C, Goossens M, et al.: Butyrate-producing clostridium cluster XIVa species specifically colonize mucins in an in vitro gut model. *ISME J* 2013; 7: 949-961.
8. Di Vincenzo F, Del Gaudio A, Petit V, et al.: Gut microbiota, intestinal permeability, and systemic inflammation: A narrative review. *Intern Emerg Med* 2024; 19: 275-293.
9. Spiljar M, Merkle D, Trajkovski M: The immune system bridges the gut microbiota with systemic energy homeostasis: Focus on TLRs, mucosal barrier, and SCFAs. *Front Immunol* 2017; 8: 1353.
10. Wirbel J, Pyl PT, Kartal E, et al.: Meta-analysis of fecal metagenomes reveals global microbial signatures that are specific for colorectal cancer. *Nat Med* 2019; 25: 679-689.
11. Thomas AM, Manghi P, Asnicar F, et al.: Metagenomic analysis of colorectal cancer datasets identifies cross-cohort microbial diagnostic signatures and a link with choline degradation. *Nat Med* 2019; 25: 667-678.
12. Francescone R, Hou V, Grivnenikov SI: Microbiome, inflammation, and cancer. *Cancer J* 2014; 20: 181-189.
13. Biarc J, Nguyen IS, Pini A, et al.: Carcinogenic properties of proteins with pro-inflammatory activity from *Streptococcus infantarius* (formerly *S.bovis*). *Carcinogenesis* 2004; 25: 1477-1484.
14. Castellarin M, Warren RL, Freeman JD, et al.: *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genome Res* 2012; 22: 299-306.
15. Wu S, Rhee KJ, Albesiano E, et al.: A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses. *Nat Med* 2009; 15: 1016-1022.
16. Wei Z, Cao S, Liu S, et al.: Could gut microbiota serve as prognostic biomarker associated with colorectal cancer patients' survival? A pilot study on relevant mechanism. *Oncotarget* 2016; 7: 46158-46172.
17. Long X, Wong CC, Tong L, et al.: *Peptostreptococcus anaerobius* promotes colorectal carcinogenesis and modulates tumour immunity. *Nat Microbiol* 2019; 4: 2319-2330.
18. Lee HA, Kim H, Lee KW, et al.: Dead nano-sized *Lactobacillus plantarum* inhibits azoxymethane/dextran sulfate sodium-induced colon cancer in balb/c mice. *J Med Food* 2015; 18: 1400-1405.
19. Yu T, Guo F, Yu Y, et al.: *Fusobacterium nucleatum* promotes chemoresistance to colorectal cancer by modulating autophagy. *Cell* 2017; 170: 548-563.
20. Vétizou M, Pitt JM, Daillère R, et al.: Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota. *Science* 2015; 350: 1079-1084.