

结直肠癌肝转移患者肠道菌群中肌苷单磷酸脱氢酶 1 的筛选及其临床意义

李雅茹, 卢秀荣, 李锐彪, 任成波, 郝晓慧, 刘晓玉, 张志林

(河北北方学院附属第一医院, 河北 张家口 075061)

摘要: [目的] 探讨肠道菌群及其相关代谢物肌苷单磷酸脱氢酶 1 (inosine monophosphate dehydrogenase 1, IMPDH1) 在结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 肝转移中的临床意义。[方法] 选取 CRC 非肝转移 (CRCNLM) 及肝转移 (CRCLM) 患者各 9 例。采用 16S rDNA 测序检测患者粪便, 采用液质联用技术检测微生物样本中的代谢物, 并筛选出与肝转移相关的 Inosine 5'-Monophosphate。分析 TCGA 数据库 CRC 资料中 IMPDH1 的表达及其对临床预后的影响。[结果] 与 CRCNLM 比较, *P. Sphingomonas*, *F. Bacillus*, *A. Skermanella* 等在 CRCLM 患者中明显升高。经非靶向代谢组学和 Tax4Fun 功能富集分析, Inosine 5'-Monophosphate 等在肝转移组中升高, 且 Inosine 5'-Monophosphate 与 *F. Bacillus* 呈正相关 ($r=0.564$, $P<0.05$)。IMPDH1 是 Inosine 5'-Monophosphate 的关键代谢酶, 在 CRC 及其肝转移患者中显著升高。根据 ROC 曲线的 cut-off 值 (16.454 6) 分为 IMPDH1 高低表达组, IMPDH1 表达在 CRC 患者 TNM 分期组间差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。多因素结果显示, TNM 分期 (HR=1.041, 95%CI: 1.020~1.063)、IMPDH1 表达 (HR=1.007, 95%CI: 1.000~1.014) 是影响 CRC 预后的独立风险因素 ($P<0.05$)。随访 11.69 年后, IMPDH1 高低表达患者的总生存率分别为 15.2% 和 31.8% ($P=0.01$); 随访 6.86 年后, 在 CRC 肝转移患者中, IMPDH1 高低表达患者的总生存率及 1、3、5 年生存率分别为 0、59.2%、47.4%、0 和 12.3%、76.6%、58.5%、24.6%, 差异有统计学意义 ($P=0.03$)。[结论] *F. Bacillus* 及其相关代谢物 Inosine 5'-Monophosphate 的增加可能是导致 CRC 肝转移发生的原因之一, 后者的关键酶 IMPDH1 高表达可能也是导致 CRC 预后差的风险因子。

关键词: 结直肠肿瘤; 肝转移; 肠道菌群; 肌苷单磷酸; 肌苷单磷酸脱氢酶 1

中图分类号: R735.3; R73-37 文献标识码: A 文章编号: 1671-170X(2023)10-0860-09

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2023.10.B009

Screening of Inosine Monophosphate Dehydrogenase 1 in Intestinal Flora of Patients with Liver Metastasis from Colorectal Cancer and Its Clinical Significance

LI Yaru, LU Xiurong, LI Ruibiao, REN Chengbo, HAO Xiaohui, LIU Xiaoyu, ZHANG Zhilin

(The First Affiliated Hospital of Heibei North University, Zhangjiakou 075061, China)

Abstract: [Objective] To explore the clinical significance of intestinal flora and its related metabolite inosine monophosphate dehydrogenase 1 (IMPDH1) in liver metastasis of colorectal cancer (CRC). [Methods] The 16S rDNA sequencing and liquid mass spectrometry were applied to screen metabolites of intestinal flora in feces samples from 9 colorectal cancer patients with liver metastasis and 9 colorectal cancer patients without liver metastasis. The screening results showed that Inosine 5'-Monophosphate might be associated with liver metastasis in CRC patients. The data of IMPDH1 expression and its influence on clinical prognosis in CRC patients were obtained from TCGA database and analyzed. [Results] Compared with CRC patients without liver metastasis, the proportions of *P. Sphingomonas*, *F. Bacillus*, and *A. Skermanella* were significantly increased in CRC patients with liver metastasis. Tax4Fun function prediction and non-targeted metabolomics analysis showed that the IMPDH1 and other metabolites were increased in the CRC patients with liver metastasis, and IMPDH1 was positively correlated with the abundance of *F. Bacillus* ($r=0.564$, $P<0.05$). As a key metabolic enzyme of Inosine 5'-Monophosphate, IMPDH1 was significantly elevated in CRC patients with liver metastasis. According to the cut-off value of ROC (16.454 6), the CRC patients were divided into high and low expression groups of IMPDH1. The expression levels of IMPDH1 were significantly associated with TNM stages of CRC patients ($P<0.05$). Multivariate regression results showed that TNM stage (HR=1.041, 95%CI: 1.020~1.063) and IMPDH1 (HR=1.007, 95%CI: 1.000~1.014) were independent risk factors for the prognosis of CRC patients ($P<0.05$). After 11.69-year follow-up, the survival of CRC patients with high and low expression of IMPDH1 were 15.2% and 31.8%, respectively ($P=0.01$). Follow-up for 6.86-year, the overall, 1, 3, 5-survival of liver metastasis patients with high and low expression of IMPDH1 were 0, 59.2%, 47.4%, 0 and 12.3%, 76.6%, 58.5%, 24.6%, respectively ($P=0.03$). [Conclusion] The increase of *F. Bacillus* abundance and its related metabolite Inosine 5'-Monophosphate may be associated with liver metastasis of CRC patients. The high expression of IMPDH1 (a key metabolic enzyme of Inosine 5'-Monophosphate) may be a risk factor for poor prognosis of CRC patients.

Subject words: colorectal cancer; liver metastasis; intestinal flora; Inosine 5'-Monophosphate; inosine monophosphate dehydrogenase 1

基金项目: 2019 年河北省政府资助临床医学优秀人才培养项目

通信作者: 张志林, E-mail: zhangzhilin1976@126.com

收稿日期: 2023-05-22; 修回日期: 2023-07-08

肿瘤转移,即远离原发肿瘤的继发恶性生长的进展,是癌症相关死亡的主要原因。肿瘤转移是一个复杂的过程,包括原发肿瘤的浸润生长,肿瘤细胞的血液循环,及循环肿瘤在特定转移器官的种植。研究认为,肿瘤转移与肿瘤原位器官和转移靶器官的微环境密切相关^[1]。随着我国人民生活水平的提高及生活方式的改变,结直肠癌(colorectal cancer,CRC)的发病率呈快速上升趋势,其中,肝转移(liver metastasis,LM)的发生率可高达50%~70%,有15%~25%的患者在确诊时即发生肝转移^[2]。研究表明,早期CRC的5年生存率可达90%,一旦发生肝转移,5年生存率不到10%,中位生存期仅6~12个月^[3]。探讨CRC肝转移的机制具有重要的临床意义。

近年来,肠道菌群在CRC中的作用引起广泛关注。研究证实,各种肠道菌群及其代谢产物具有促炎、致癌的特性,对CRC的进程起着重要作用^[4-5]。肠道菌群产物如丁酸盐、H₂S、细菌毒素是导致CRC发生及进展的重要原因^[6]。丁酸盐可通过调控肿瘤细胞的能量代谢,诱导基因突变导致表观遗传修饰,维持上皮完整性、抑制炎症反应及癌症的发生^[7]。此外,细胞膜中具有生物活性的脂质还能调节转递耐药的转运蛋白的活性。其中,生物活性的脂质包括胆固醇或胆固醇衍生物、磷脂和溶血磷脂、二十烷类和鞘脂都在癌症的发生及进展中起着重要作用^[8]。例如,Escherichia Coli 衍生代谢物大肠杆菌素可诱导DNA 烷化及其双链断裂,双链修复缺失导致基因不稳定,甚至CRC的发生^[9];对甲酚硫酸盐可影响结肠上皮细胞的细胞周期激酶和DNA 损伤^[10];Clostridium. Scindens 通过调控肠肝循环,即胆汁酸循环,影响肝转移瘤内NKT细胞的数量而导致CRC肝转移^[11]。本研究重点在于观察CRC肝转移与非肝转移间肠道菌群及其代谢的差异,筛选出肌苷单磷酸脱氢酶1(inosine monophosphate dehydrogenase 1, IMPDH1),通过分析其在TCGA中的表达及其与临床病理特征的关系,探讨其在CRC及其肝转移中的临床意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取和收集2021年1月1日至8月30日在河北北方学院附属第一医院收治并经病理确诊18例

CRC患者的便标本,包括9例CRC肝转移(CRCLM)和9例CRC非肝转移(CRCNLM)。纳入标准:所有患者可通过手术病理或内镜活检病理诊断明确;病历、影像学资料及随访资料完整。排除标准:既往其他恶性肿瘤病史或肿瘤伴随的副瘤综合征;合并基础代谢病(高血压、冠心病等)、免疫性疾病、消化道炎症疾病、肝病、情志障碍及饮酒吸烟;素食及近3个月抗生素治疗;生存期<3个月;患者病历资料不完整。9例CRC肝转移患者,年龄48~78岁,中位年龄64岁;男性6例,女性3例;结肠腺癌(colon adenoma, COAD)4例,直肠腺癌(rectal adenoma, READ)5例;中分化8例,低分化1例;TNM分期(AJCC第8版):9例均为Ⅳ期;T分期:T₁1例,T₂2例,T₃5例,T₄1例;淋巴结转移4例,淋巴结无转移5例。9例CRC非肝转移患者,年龄51~78岁,中位年龄63岁;男性7例,女性2例;结肠腺癌3例,直肠腺癌6例;中分化7例,低分化2例;TNM分期(AJCC第8版):Ⅰ期2例,Ⅱ期3例,Ⅲ期4例;T分期:T₁2例,T₂2例,T₃4例,T₄1例;淋巴结转移5例,淋巴结无转移4例。两组一般资料具有可比性,所有患者均签署同意书,本研究通过我院伦理委员会审核(审批号:K2021125)。

1.2 TCGA 数据库资料

本研究通过GEPIA网站(<http://gepia.cancer-pku.cn>)和TNMplot网站(<https://tnmplot.com>)分析IMPDH1在CRC和癌旁组织中的表达差异;并经TCGA数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)下载COAD的临床和mRNA数据,共592例,缺失28例,最终筛选出564例。其中,年龄31~90岁,平均年龄(65.83±12.52)岁,中位年龄67.5岁,按照平均年龄,分为>66岁(296例)和≤66岁(268例)组;男性305例,女性259例;AJCC第7版分期:Ⅰ期101例,Ⅱ期209例,Ⅲ期168例,Ⅳ期86例;T分期:T₁18例,T₂99例,T₃387例,T₄60例;N分期:N₀320例,N₁140例,N₂104例;M分期:M₀479例,M₁85例。随访11年,存活100例。根据ROC曲线的截断值(16.4546),IMPDH1分为高表达(>16.4546)479例和低表达(≤16.4546)85例。

1.3 方法

1.3.1 16S rDNA 检测患者大便肠道菌群的差异

采用16S rDNA测序技术检测CRCLM和CRCNLM患者间的肠道菌群。选取经病理及其肝强化

MRI 确诊患者的粪便,采用 CTAB 或 SDS 法提取粪便样本 DNA,再利用琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的纯度和浓度,取适量的样本 DNA 于离心管中,使用无菌水稀释样本至 1 ng/ μ L,扩增备用。依据基因序列 515F(5'-GTG CCA GCM GCC GCG GTA A-3')和 806R (5'-GGA CTA CNN GGG TAT CTA AT-3')对 V3~V4 可变区进行 PCR 扩增,剪切回收目标条带。使用 Thermofisher 公司的 Ion Plus Fragment Library Kit 48 rxns 建库试剂盒进行文库的构建,构建好的文库经过 Qubit 定量,再用 Thermofisher 的 Ion S5TMXL 测序。Reads 序列通过 (<http://github.com/torognes/vsearch/>) 与物种注释数据库进行比对即检测嵌合体序列,并最终去除其中的嵌合体序列,剩下的为有效数据(Clean Reads)。利用 Uparse 软件(Uparse v7.0.1001,<http://www.drive5.com/uparse/>) 在 97%相似度下进行聚类,对聚类后的序列进行嵌合体过滤后可得到用于物种分类的 OUT。使用 LEfSe 软件将筛选值定义为 4 来分析 LEfSe。在保证 OTUs 注释信息源于 SILVA 数据库后,用 UProC 和 PAU-DA 方法注释的 KEGG 数据库原核生物全基因组功能信息对应到 SILVA 数据库中,实现 Tax4Fun 功能预测。

1.3.2 液质联用技术检测两组患者粪便的代谢差异
将患者粪便溶于异丙醇、乙腈和水,形成正负离子采集模式并上机于 Waters ACQUITY UPLC I-Class 超高效液相色谱仪和 Waters XevoG2-XS Qtof 高分辨率质谱仪。将液质联用技术(liquid chromatography-mass spectrometry,LC-MS) 检测获得的原始数据,提取样本中的分子特征峰,通过 mzCloud、mz-Vault 及 MassList 数据库对其进行匹配鉴定并获得总代谢物的信息,再通过 Compound Discoverer 3.1 (CD 3.1)软件进行数据预处理。选取正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA) 模型可以得到 R2Y 和 Q2Y,对模型的优劣进行判别,两者越接近 1,且 R2Y> Q2Y 时模型越好。差异代谢物的筛选主要参考主成分的变量投影重要度(variable importance in the projection,VIP)、差异倍数(fold change,FC)和 *P* 值,根据上述模型对代谢物进行 VIP 打分,VIP 分值越高的代谢物对分组的功能越大;FC 代表每个代谢物在两组所有代谢物定量值均值的比较,设定阈值为 VIP>1,FC>1.2,*P*<0.05。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 24.0 统计软件(IBM,Chicago,Illinois,USA) 和 GraphPad Prism 8.02 软件(GraphPad Software Inc.,San Diego,California,USA) 进行数据分析。计量资料采用均数 $\pm$ 标准差表示,计数资料采用百分率表示;采用 *t* 检验比较肿瘤组织和癌旁组织 IMPDH1 的表达;采用 Wilcoxon 秩和检验或卡方检验分析 IMPDH1 表达与临床病理特征的关系;采用 R 软件包 Survival 的 survfit 函数分析 IMPDH1 高低表达组生存率的差异,利用 Log-Rank 方法评估了两组间的差异;Cox 回归分析其风险比;采用相关矩阵热图分析差异代谢物与肠道菌群 16S OTUs 属水平上差异菌属相对丰度值的相关性。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组患者一般资料比较

有无肝转移患者 TNM 分期差异有统计学意义(*P*=0.029),而年龄[(62.7 $\pm$ 9.2)岁 vs (61.6 $\pm$ 9.6)岁,*t*=0.251,*P*=0.805]、性别、肿瘤位置、病理分级、T 分期及 N 分期比较,差异均无统计学意义(*P*>0.05)(Table 1)。

Table 1 General data of two groups[n(%)]

Index	CRCLM	CRCNLM	<i>P</i>
Gender			
Male	6(66.7)	7(77.8)	1.000
Female	3(33.3)	2(22.2)	
Tumor location			
Colon	4(44.4)	3(33.3)	1.000
Rectum	5(55.6)	6(66.7)	
Pathological differentiation			
Intermediate differentiation	8(88.9)	7(77.8)	1.000
Poorly differentiation	1(11.1)	2(22.2)	
TNM stage			
I + II	0	5(55.6)	0.029
III + IV	9(100.0)	4(44.4)	
T stage			
T ₁ +T ₂	3(33.3)	4(44.4)	1.000
T ₃ +T ₄	6(66.7)	5(55.6)	
N stage			
N ₀	4(44.4)	5(55.6)	1.000
N ₁ +N ₂	5(55.6)	4(44.4)	

Notes:CRCLM:colorectal cancer with liver metastasis;CRCNLM: colorectal cancer with non liver metastasis

2.2 菌群物种丰度及差异分析

通过与数据库 Silva 138 进行比对并注释,主成分分析(principal component analysis,PCA)显示即使两组患者有重合的菌群菌落,但两者的菌群组成成分仍有差异。在属水平,共鉴定出 115 个差异菌,将差异菌按菌群丰度 >0.001 , $P\leq 0.05$ 进行两两比较,结果显示:与 CRCNLM 相比较,*Proteobacteria*. *Sphingomonas* (*P. Sphingomonas*)、*Firmicutes*. *Bacillus* (*F. Bacillus*)、*A. Skermanella* 在 CRCLM 中明显升高。通过 LEfSe 分析及 Taxonomic 可视化,提示当 LDA 评分 >4 的差异菌如 *P.Sphingomonas*、*A. Phycoccus* 在 CRCLM 中明显增加。Tax4Fun 结果提示差异菌功能

多富集于代谢改变(Figure 1)。

2.3 两组患者肠道菌群的代谢差异分析

根据两组肠道菌群差异基因的功能预测,提示 CRCLM 多伴有代谢异常。经非靶向代谢组学分析,本研究发现代谢物表达量与样品类别拟合良好,使用 PLS-DA 提示拟合模型稳定可靠。从火山图和热图可知,正离子模式显示代谢物差异有 67 个,上调 12 个,为 Methylimideazoleacetic acid、Cannabidiolic acid、2-Aminobenzensulfonamide 等;下调 55 个,为 Ferulic acid、L-Saccharopine、D-Erythrose 4-phosphate、Formonoetin 等。负离子模式显示代谢物差异有 45 个,上调 12 个,为 Phenylacetaldehyde、3-Hydroxybu-

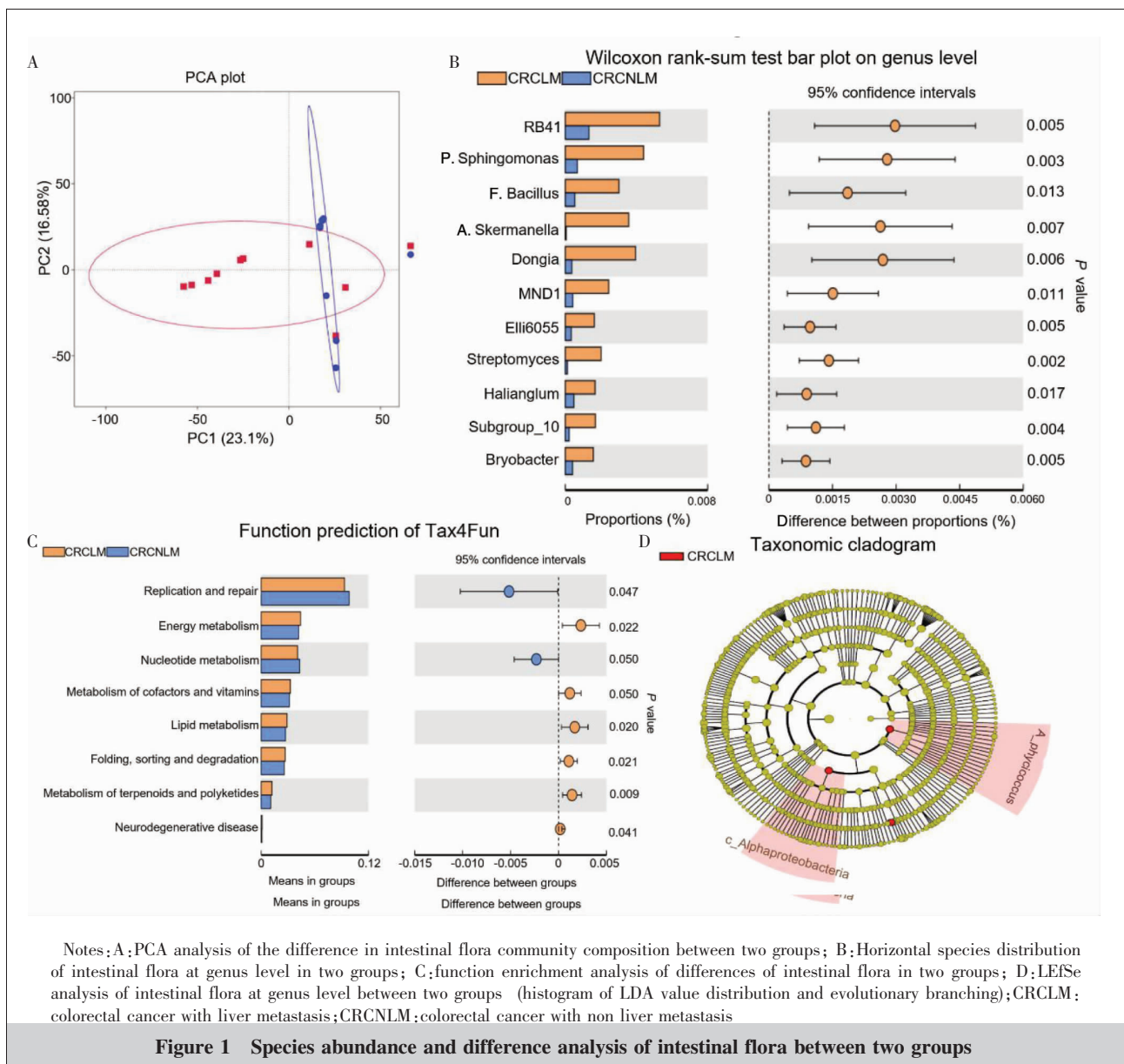


Figure 1 Species abundance and difference analysis of intestinal flora between two groups

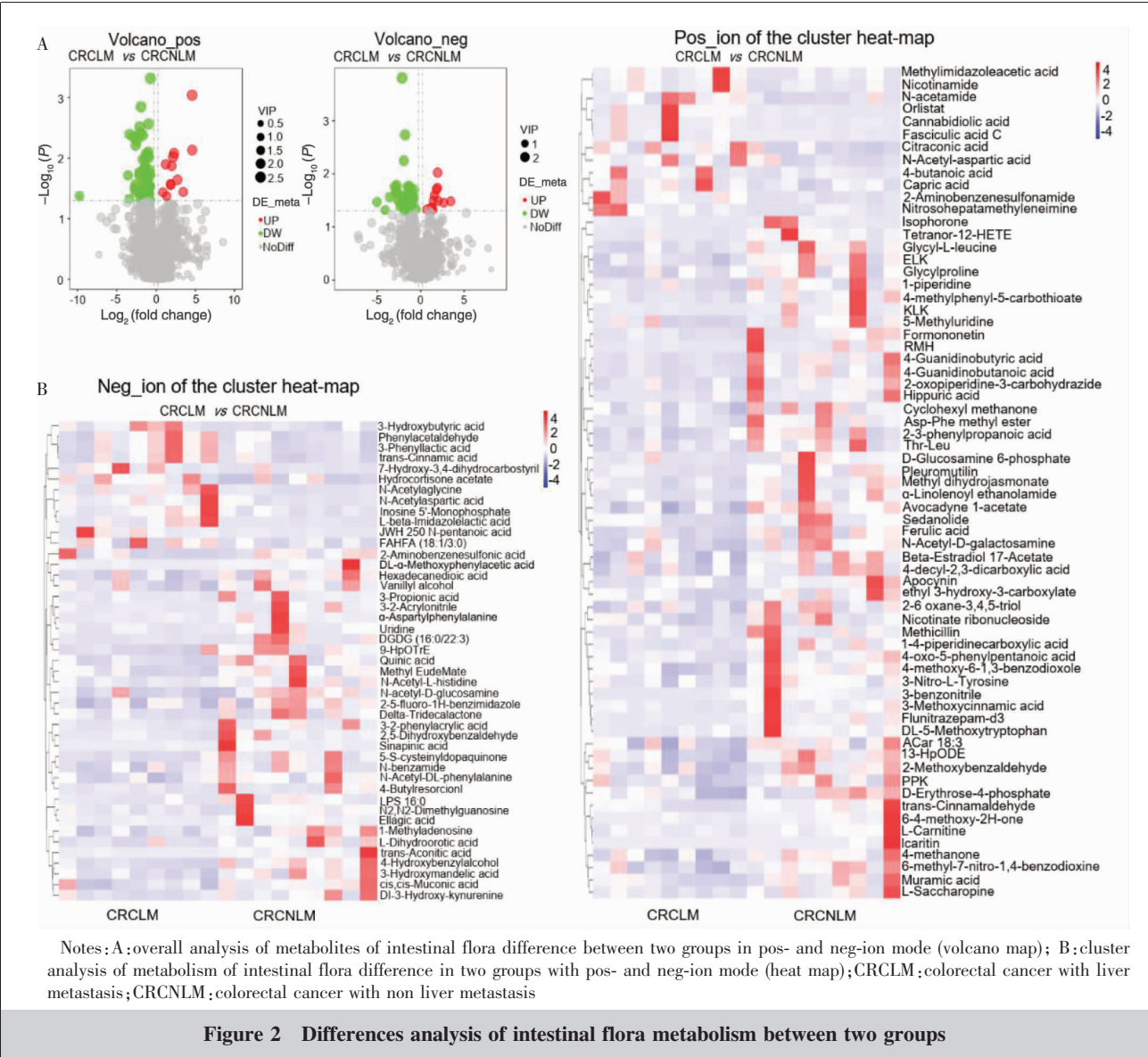
tyric acid、肌苷单磷酸 (Inosine 5'-Monophosphate) 等; 下调 33 个, 为 Quinic acid、2,5-Dihydroxybenzaldehyde、Vanillyl alcohol 等(Figure 2)。

2.4 两组患者肠道菌群差异基因与差异代谢物的相关性分析

分析肠道菌群 16S OTUs 属水平上前 24 差异菌属与前 20 差异代谢物的相关性,正负离子模式的结果显示, *P. Microvirga* 与 Methylimideazoleacetic acid、2-Aminobenzenesulfonamide 呈正相关; *F. Bacillus* 与 N-Acetyl aspartic acid、N-Acetylglycine、Inosine 5'-Monophosphate 呈正相关 ($r=0.712、0.561、0.564、P$ 均 <0.05); *P. Massillia* 与 3-Hydroxybutyric acid 呈正相关,而与 1-Methyladenosine 呈负相关(Figure 3)。

2.5 IMPDH1 在 CRC 和癌旁组织中的表达差异

本研究发现 Inosine 5'-Monophosphate 在 CRCLM 中显著升高, 与多种菌属相关。在 GEPIA 网站中, COAD 和 READ 患者分别为 275 例和 92 例, 正常者分别为 41 例和 10 例, 差异有统计学意义 ($P<0.05$) (Figure 4A)。TNMplot 网站包括 377 例正常者和 1 549 例 CRC 患者(伴有肝转移 99 例), 结果显示, IMPDH1 表达在肝转移患者中最高, 其次是 CRC 患者, 均显著高于正常患者 ($P<0.01$) (Figure 4B)。ROC 曲线分析显示 IMPDH1 诊断 CRC 的灵敏度和特异度分别为 87.5% 和 73.0%, ROC 曲线下面积 (area under curve, AUC) 为 0.564, 截断值为 16.454 6 (Figure 4C)。IMPDH1 的升高预示着 CRC 的发生及进展。



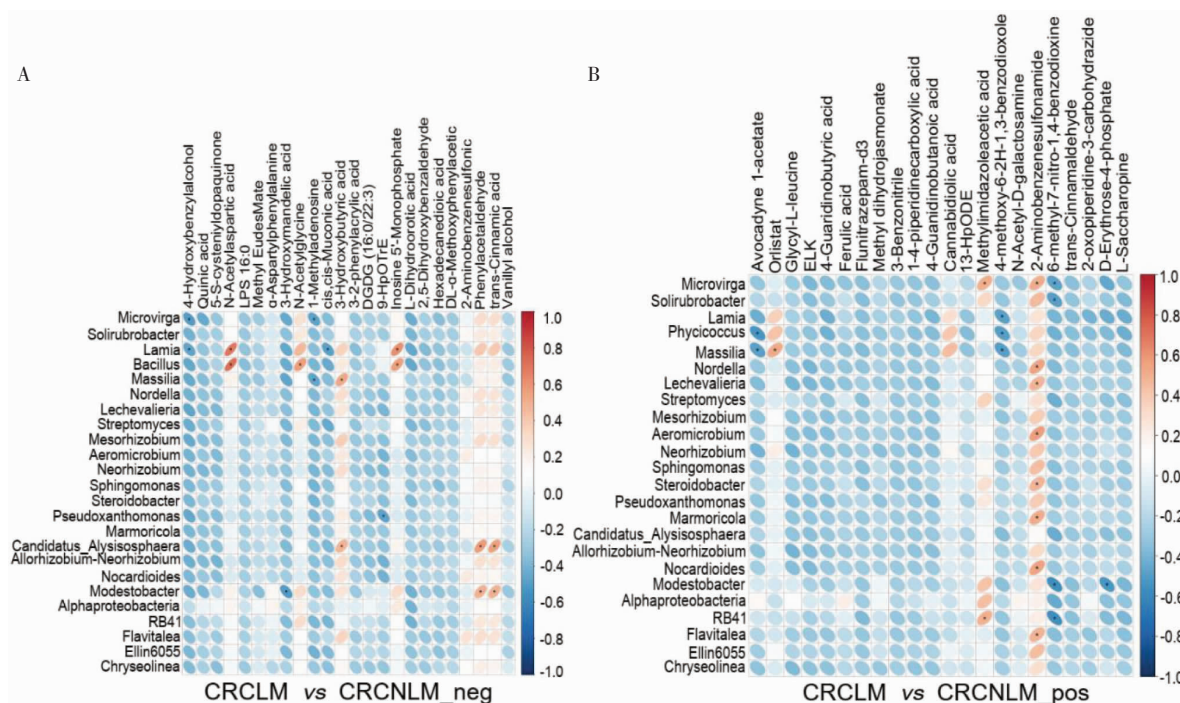
2.6 IMPDH1 表达对 CRC 预后的单因素和多因素分析

根据 ROC 曲线的截断值将 CRC 分为 IMPDH1 高低表达组,其中 479 例 CRC 患者高表达 IMPDH1,表达率为 84.92%。IMPDH1 高低表达在 TNM 分期、T 分期、N 分期和 M 分期中差异均有统计学意义($P<0.05$)(Table 2)。单因素分析显示,TNM 分期、T 分期、N 分期、M 分期和 IMPDH1 表达均是

CRC 预后的风险因素($P<0.05$)。将单因素回归分析有意义的指标进行 Cox 多因素回归分析,结果显示,TNM 分期、IMPDH1 表达是影响 CRC 预后的独立风险因素,其中 IMPDH1 高表达 CRC 患者的死亡风险是低表达患者的 1.007 倍($P<0.05$)(Table 3)。

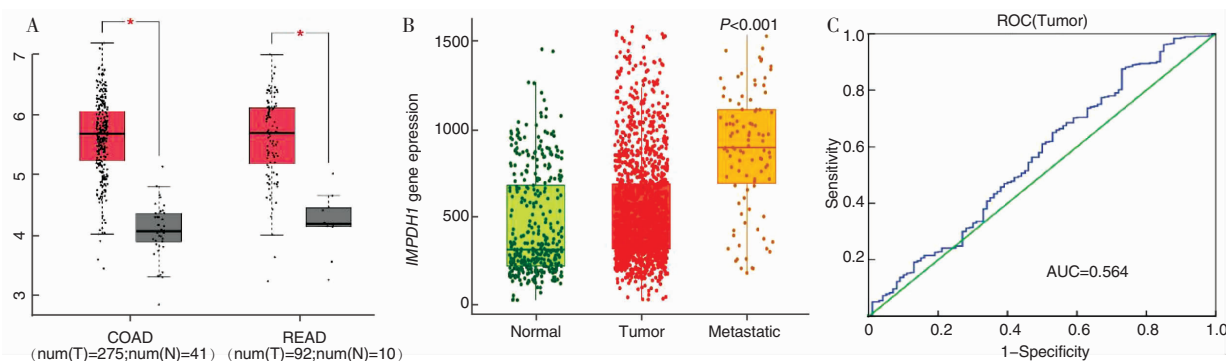
2.7 IMPDH1 表达对 CRC 及肝转移患者的生存影响

随访 4 268 d(11.69 年),生存率为 17.7%,中位



Notes: A: the correlation between the different bacteria genera and the different metabolites in two groups under negative ion mode; B: correlation between different bacteria genera and different metabolites in two groups with positive ion mode; CRCLM: colorectal cancer with liver metastasis; CRCNLM: colorectal cancer with non liver metastasis; *: $P<0.05$

Figure 3 Correlation analysis of intestinal flora differential genes and differential metabolites in two groups



Notes: A: data analysis results from the GEPIA website (*: $P<0.05$); B: data analysis results in TNM plot website; C: ROC curve analysis of IMPDH1 expression in CRC patients in TCGA database; COAD: colon adenoma; READ: rectal adenoma

Figure 4 Differential expression of IMPDH1 in CRC and normal patients

Table 2 Differences in clinicopathological characteristics of CRC patients with high and low IMPDH1 expression[n(%)]

Index	N	IMPDH1 mRNA expression		χ^2	P
		Low(n=85)	High(n=479)		
Age(years old)					
≤66	268	33(38.8)	235(49.1)	3.034	0.082
>66	296	52(61.2)	244(50.9)		
Gender					
Male	305	42(49.4)	263(54.9)	0.878	0.349
Female	259	43(50.6)	216(45.1)		
TNM stage					
I + II	310	60(70.6)	250(52.2)	9.869	0.002
III + IV	254	25(29.4)	229(47.8)		
T stage					
T ₁ +T ₂	117	75(88.2)	42(8.8)	277.277	<0.001
T ₃ +T ₄	447	10(11.8)	437(91.2)		
N stage					
N ₀	320	58(66.7)	262(54.9)	4.132	0.042
N ₁ +N ₂	244	29(33.3)	215(45.1)		
M stage					
M ₀	479	64(75.3)	415(86.6)	7.259	0.007
M ₁	85	21(24.7)	64(13.4)		

Table 3 Cox regression analysis of prognostic risk factors and overall survival in CRC patients

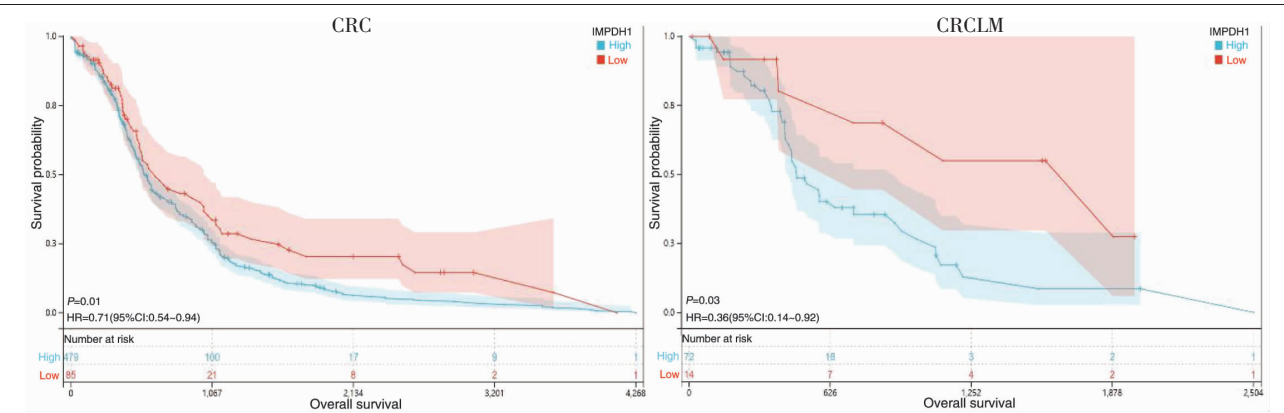
Risk factor	Univariate analysis			Multivariate analysis		
	HR	95% CI	P	HR	95% CI	P
Age	0.994	0.986~1.002	0.118			
Gender	0.824	0.532~1.276	0.386			
TNM stage	2.479	1.913~3.213	<0.001	1.041	1.020~1.063	<0.001
T stage	2.845	1.874~4.320	<0.001	1.909	0.819~2.009	0.074
N stage	2.197	1.681~2.872	<0.001	1.315	0.849~2.037	0.220
M stage	5.438	3.285~9.001	<0.001	2.205	0.783~5.234	0.146
IMPDH1 expression	2.018	1.010~2.064	0.039	1.007	1.000~1.014	0.045

Notes: CRC; colorectal cancer; HR; hazard ratio; CI; confidence interval

生存时间 1 792 d (4.90 年),5、10 年生存率分别为 61.4%、18.0%。其中,随访 11.69 年后,IMPDH1 高表达患者总生存率为 15.2%,IMPDH1 低表达患者总生存率为 31.8%,中位生存时间分别为 2 792 d (7.64 年) 和 2 134 d (5.85 年),差异有统计学意义($P=0.01$)。为观察 IMPDH1 表达对 CRC 肝转移患者生存的影响,对 85 例肝转移患者进行研究,结果显示,85 例肝转移患者中有 72 例 (84.7%) IMPDH1 表达升高;随访 2 504 d (6.86 年)后,IMPDH1 高低表达肝转移患者的生存率分别为 0 和 12.3%,中位生存时间分别为 1 096 d (3.00 年) 和 426 d (1.17 年),1、3、5 年生存率分别为 59.2%、47.4%、0 和 76.6%、58.5%、24.6%,差异有统计学意义($P=0.03$)(Figure 5)。

3 讨 论

肝转移是影响 CRC 预后的重要因素,肝-肠轴的提出为研究 CRC 与肝脏之间的相互关系提供了理论依据。通过检测 CRCLM 和 CRCNLM 患者肠道菌群及其代谢之间的差异,本研究发现 *P. Citrobacter*、*P. Alphaproteobacteria* 等丰度在 CRCLM 中明显增加,主要富集于多种代谢途径。近年来研究发现,IMPDH1 是嘌呤核苷酸生物合成的关键酶,具有调节腺嘌呤和鸟嘌呤核苷酸合成间的作用,在肝癌



Notes: CRC; colorectal cancer; CRCLM; colorectal cancer with liver metastasis

Figure 5 Effect of IMPDH1 expression on overall survival in patients with CRC and CRCLM

中表达升高,并维持肝癌的生长和发展^[12]。非靶向代谢组学提示 CRCLM 中 Inosine 5'-Monophosphate 等代谢物升高,其中,Inosine 5'-Monophosphate 的关键代谢酶 IMPDH1 在 CRC 及其肝转移明显升高。IMPDH1 高表达的患者预后差,总生存率为 15.2%,显著低于 IMPDH1 低表达患者(31.8%)。在肝转移患者,IMPDH1 高表达的生存率也明显短于低表达的患者(0 vs 12.3%)。

肠道菌群是肠道微环境的一部分,参与 CRC 的发生及进展甚至 CRC 向肝脏转移,但其具体机制仍不明确。通过比较 CRCLM 和 CRCNLM 患者间的肠道菌群,发现 *P. Sphingomonas*、*F. Bacillus*、*A. Streptomyces* 丰度在 CRCLM 中明显增多。*P. Sphingomonas* 菌属由需氧、过氧化氢酶和氧化酶阳性的革兰阴性菌组成,易感染免疫抑制的患者的骨骼及软组织,造成菌血症或感染性休克^[13]。一项研究认为,*F. Bacillus* 属中 BY38、BY40、BY43 和 BY45 菌株以剂量依赖性方式抑制 CRC 细胞的增殖,其机制可能与诱导细胞凋亡有关^[14]。上述结果与本研究相悖,原因可能与选取观察人群不同有关。同时,也有体外研究发现,*A. Streptomyces* 提取的醚类有机代谢产物 ABRIINW111 具有抑制结肠癌细胞 SW480 增殖的作用^[15]。然而 *A. Streptomyces* 在 CRC 细胞迁移中的作用及机制仍不清楚。

肠道菌群可通过次级代谢物的产生,特别是代谢限速酶的重编程显著影响肿瘤的细胞转化,加速 CRC 的形成^[16]。本研究肠道菌群的代谢组学分析发现 CRCLM 差异菌群的功能基因主要富集于多种代谢途径,包括糖代谢和脂类代谢,如 Phenylacetaldehyde、trans-Cinnamic acid、3-Hydroxybutyric acid、Inosine 5'-Monophosphate 等代谢物的上调。Inosine 5'-Monophosphate 作为细胞外信号分子,可通过调控免疫细胞分泌不同的炎症因子而参与炎症反应^[17]。通过分析差异菌群与差异代谢物间的关系,发现 *A. Lamia*、*A. Phycoccus* 可能通过 Inosine 5'-Monophosphate 的产生促进 CRC 肝转移。研究表明,Inosine 可协助免疫检查点抑制剂对抗癌症,这可能与 Th1 直接激活有关,或通过调控 T 细胞特异性 A_{2A} R 信号促进 Th1 的活化,因此,有望开发其作为免疫治疗的辅助治疗^[18]。另外,研究发现,Inosine 5'-Monophosphate 的关键酶 IMPDH1 在 CRC 粪便标本中显著升高,可作

为 CRC 预后差的潜在标志物^[19]。通过参考 TCGA 和 GEO、EGA 等数据库的资料,本研究发现,IMPDH1 在 CRC 及其肝转移患者中表达显著升高。进一步研究发现,IMPDH1 表达在不同 TNM 分期组中差异显著。在肾透明细胞癌中,研究者也发现 IMPDH1 高表达患者具有更差的总生存期和更短的无病生存期,机制可能是 IMPDH1 与转移相关基因 *Y-box* 结合蛋白形成一个自我调节的正反馈回路,促进肾癌转移^[20]。本研究也发现,IMPDH1 高表达患者具有更差的生存期,并易转移。通过探索 168 种代谢限速酶在人类癌症中的全局表达模式、基因组改变及临床相关性的研究,IMPDH1 与癌基因 *MYC* 呈正相关,体内外研究显示,其无促进 CRC 的生长,机制可能是 *MYC* 通过 IMPDH1/2 轴介导 GTP 代谢重编程进而促进肿瘤发生及进展^[21]。总之,肠道菌群产物通过多种机制在预防和治疗 CRC 肝转移中发挥重要作用,目前 IMPDH1 与 CRC 肝转移间关系的机制研究有限。本研究也存在一些局限,如缺少真实事件中的数据明确 IMPDH1 与临床病理特征的关系及其机制探讨等。

综上所述,CRC 肝转移患者多存在代谢异常,其中 Inosine 5'-Monophosphate 显著升高,其代谢酶 IMPDH1 在 CRC 及其肝转移患者中明显升高,高表达 IMPDH1 患者预后差,并且容易发生肝转移。

参考文献:

- [1] Dalal N, Jalandra R, Bayal N, et al. Gut microbiota-derived metabolites in CRC progression and causation [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2021, 147(11): 3141–3155.
- [2] Kashyap D, Sharma A, Tuli HS, et al. Molecular targets of celastrol in cancer: recent trends and advancements [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2018, 128: 70–81.
- [3] Konopke R, Roth J, Volk A, et al. Colorectal liver metastases: an update on palliative treatment options [J]. *J Gastrointest Liver Dis*, 2012, 21(1): 83–91.
- [4] Han S, Zhuang J, Wu Y, et al. Progress in research on colorectal cancer-related microorganisms and metabolites [J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12: 8703–8720.
- [5] Zhang H, Chang Y, Zheng Q, et al. Altered intestinal microbiota associated with colorectal cancer [J]. *Front Med*, 2019, 13(4): 461–470.
- [6] Dai Z, Zhang J, Wu Q, et al. The role of microbiota in the development of colorectal cancer [J]. *Int J Cancer*, 2019, 145

- (8):2032–2041.
- [7] Chang SC, Shen MH, Liu CY, et al. A gut butyrate-producing bacterium *Butyrivibrio pullicaecorum* regulates short-chain fatty acid transporter and receptor to reduce the progression of 1,2-dimethylhydrazine-associated colorectal cancer[J]. *Oncol Lett*, 2020, 20(6):327.
 - [8] Spassieva S, Bieberich E. The gut-to-breast connection-interdependence of sterols and sphingolipids in multidrug resistance and breast cancer therapy [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2011, 11(9):882–890.
 - [9] Wilson MR, Jiang Y, Villalta PW, et al. The human gut bacterial genotoxin colibactin alkylates DNA [J]. *Science*, 2019, 363(6428):eaar7785.
 - [10] Al Hinai EA, Kullamethee P, Rowland IR, et al. Modelling the role of microbial p-cresol in colorectal genotoxicity [J]. *Gut Microbes*, 2019, 10(3):398–411.
 - [11] Jia B. Commentary: gut microbiome-mediated bile acid metabolism regulates liver cancer via NKT cells [J]. *Front Immunol*, 2019, 10:282.
 - [12] Jia X, Liu Y, Cheng Y, et al. Inosine monophosphate dehydrogenase type1 sustains tumor growth in hepatocellular carcinoma[J]. *J Clin Lab Anal*, 2022, 36(5):e24416.
 - [13] El Beaino M, Fares J, Malek A, et al. Sphingomonas paucimobilis-related bone and soft-tissue infections: a systematic review[J]. *Int J Infect Dis*, 2018, 77:68–73.
 - [14] Zhao MF, Liang GD, Zhou YJ, et al. Novel *Bacillus* strains from the human gut exert anticancer effects on a broad range of malignancy types [J]. *Invest New Drugs*, 2020, 38(5):1373–1382.
 - [15] Faramarzi Azimi Maragheh B, Fatourachi P, Mohammadi SM, et al. *Streptomyces levis* ABRINW111 Inhibits SW480 cells growth by apoptosis induction[J]. *Adv Pharm Bull*, 2018, 8(4):675–682.
 - [16] Alhinai EA, Walton GE, Commane DM. The role of the gut microbiota in colorectal cancer causation [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(21):1–12.
 - [17] Lovász M, Németh ZH, Gause WC, et al. Inosine monophosphate and inosine differentially regulate endotoxemia and bacterial sepsis [J]. *FASEB J*, 2021, 35(11):e21935.
 - [18] Lee MH. Harness the functions of gut microbiome in tumorigenesis for cancer treatment [J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2021, 41(10):937–967.
 - [19] Chen YN, Shih CY, Guo SL, et al. Potential prognostic and predictive value of UBE2N, IMPDH1, DYNC1LI1 and HRASLS2 in colorectal cancer stool specimens[J]. *Biomed Rep*, 2023, 18(3):22.
 - [20] Ruan H, Song Z, Cao Q, et al. IMPDH1/YB-1 positive feedback loop assembles cytoophidia and represents a therapeutic target in metastatic tumors [J]. *Mol Ther*, 2020, 28(5):1299–1313.
 - [21] Quail DF, Joyce JA. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis[J]. *Nat Med*, 2013, 19(11):1423–1437.

《肿瘤学杂志》关于论文中基金项目标注的要求

获得基金/课题、计划等资助的论文应在论文首页地脚以“基金项目:”作为标识,注明基金项目名称(标准的书面全称,避免使用不规范的口头缩略语),并在圆括号内注明其项目编号(基金项目批准文号)。

基金项目名称应按照国家有关部门规定的正式名称填写,多项基金应依据基金级别依次列出,其间以“;”隔开。同一基金涉及多个项目,其间以“,”隔开连排,句末不加标点。示例如下:

基金项目:国家自然科学基金(81774233,81602088);“十一五”国家高技术研究发展计划(2006AA05Z102);浙江省教育科学规划课题(2020SCG307)

凡是标注基金项目的论文,在投稿时应同时邮寄体现基金项目名称标准全称及批准文号的相关通知复印件(全文),或扫描件其电子文档以附件形式上传至投审稿系统。