

大肠息肉患者肠道菌群的特征分析

付新年¹, 马 驰¹, 王鑫鑫¹, 马笑盈¹, 罗江焰¹, 郑 盛², 杨 涓^{2*}

¹大理大学 云南大理

²大理大学第二附属医院 云南昆明

【摘要】目的 对大肠息肉患者肠道菌群的结构特征进行初步分析, 了解大肠息肉患者肠道菌群特征。**方法** 收集 2022 年 09 月至 2023 年 12 月就诊于大理大学第二附属医院符合纳排标准大肠息肉患者及同期健康体检者的粪便样本, 通过 16SrDNA 基因测序法对肠道菌群测序数据进行分析。**结果** 与健康对照组相比, 初发性肠息肉和复发性肠息肉的肠道菌群多样性及丰度均下降。在门水平, 初发组和复发组的变形菌门相对丰度升高, 拟杆菌门相对丰度降低; 在属水平, 初发组和复发组患者肠道大肠杆菌-志贺菌属、链球菌属和瘤胃球菌属相对丰度升高, 普拉梭菌属和琼脂杆菌属相对丰度降低。复发组中肠球菌、链球菌、放线菌、罗姆布茨菌和 Parasutterella 菌为优势菌群。**结论** 复发性肠息肉患者肠道菌群多样性及丰度显著减少, 肠球菌属、放线菌属和罗姆布茨菌属为优势菌群, 这对预防大肠息肉复发具有重要意义。

【关键词】 大肠息肉; 肠道菌群; 16SrDNA 测序法; 复发性肠息肉; 拟杆菌门

【基金项目】 云南省教育厅科学研究基金项目 (2024Y920)

【收稿日期】 2025 年 1 月 6 日

【出刊日期】 2025 年 2 月 7 日

【DOI】 10.12208/j.ijcr.20250065

Characteristic analysis of intestinal flora in patients with large intestine polyp

Xinnian Fu¹, Chi Ma¹, Xinxin Wang¹, Xiaoying Ma¹, Jiangyang Luo¹, Sheng Zheng², Juan Yang^{2*}

¹Dali University, Dali, Yunnan

²The Second Affiliated Hospital of Dali University, Kunming, Yunnan

【Abstract】Objective To analyze the structural characteristics of intestinal flora in patients with colorectal polyps, and to understand the characteristics of intestinal flora in patients with colorectal polyps. **Methods** Stool samples of patients with large intestine polyps meeting the ataxic standard and healthy physical examination subjects were collected from September 2022 to December 2023 in the Second Affiliated Hospital of Dali University, and the intestinal flora sequencing data were analyzed by 16SrDNA gene sequencing method. **Results** Compared with the healthy control group, the diversity and abundance of intestinal flora decreased in both primary and recurrent intestinal polyps. At the phylum level, the relative abundance of Proteobacteria increased in the initial and recurrent groups, while the relative abundance of Bacteroidetes decreased. At the genus level, the relative abundances of Escherichia coli Shigella, Streptococcus and Rumen cocci increased in the initial and recurrent groups, while the relative abundances of Praxobacter and Agarose decreased. Enterococcus, streptococcus, actinomyces, Rombuzia and Parasutterella were dominant groups in the recurrence group. **Conclusion** The diversity and abundance of intestinal flora decreased significantly in patients with recurrent intestinal polyps, and Enterococcus, actinomyces and Rombuzia were the dominant flora, which is of great significance for the prevention of recurrence of colorectal polyps.

【Keywords】 Large intestine polyp; Intestinal flora; 16SrDNA sequencing method; Recurrent intestinal polyps; Bacteroidota

第一作者简介: 付新年, 大理大学硕士研究生在读, 研究方向: 消化病学;

*通讯作者: 杨涓, 副主任医师, 研究方向: 消化病学。

大肠息肉是消化系统常见疾病, 近年来肠息肉发病率和复发率呈上升趋势, 迄今为止, 对息肉患者侵入性最小且最有效的治疗方法是结肠镜切除术。尽管息肉切除术已被证明可以降低结直肠癌的发病率^[1]和死亡率^[2], 但高复发率仍然是息肉完全愈合进展的最大障碍^[3]。而且重复结肠镜息肉切除术可能会增加穿孔和出血等并发症的风险^[4]。肠道细菌在结直肠息肉复发中的作用, 特别是参与复发性肠息肉的发展仍不确定, 仍然知之甚少。研究发现, 大肠息肉的发生发展与肠道菌群密切相关^[5]。肠道菌群失调可导致肠道免疫功能异常、有害产物积累、肠黏膜炎症反应, 以及肠上皮细胞损伤, 这些均是结直肠息肉发生发展的重要原因^[6]。本研究通过 16SrDNA 基因测序法分析初发型肠息肉和复发型肠患者肠道菌群的特征变化, 这可能对预防大肠息肉复发有重要意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料收集

收集 2022 年 09 月至 2023 年 12 月就诊于大理大学第二附属医院符合纳入排除标准的大肠息肉患者 75 例, 同时收集健康体检者 37 例作为健康对照组。所有研究对象均自愿加入研究, 本研究经过医院伦理委员会审查通过(编号: 2023KY194)。

1.2 纳入及排除标准

纳入标准: ①年龄 18-75 岁; ②经结肠镜及病理学检查明确诊断为大肠息肉者; ③同意并签署知情同意书留取粪便者。排除标准: ①采样前 4 周内使用过抗生素、益生菌或益生元的患者; ②明确诊断肠道恶性肿瘤和(或)其他系统肿瘤、炎症性肠病、免疫缺陷及精神疾病患者; ③孕妇、儿童及不能配合者。

1.3 分组及测序方法

将大肠息肉患者分为肠息肉初发组(指首次行肠息肉切除术者)和肠息肉复发组(指在同一部位行第二次及其以上息肉切除术者)。

采集研究对象行肠道准备前的粪便标本 200mg 放入无菌采样管并 2h 之内放在 -80℃ 以下的液氮中保存, 统一送至上海百趣公司检测。提取粪便样本总 DNA, 根据 16SrDNA 序列片段 V3-V5 区设计引物进行 PCR 扩增, 扩增引物为 341F (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3') 与 805R (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3'), 利用 NovaSeq 6000 测序平台进行高通量测序; 得到的原始数据利用 overlap 将双端数据进行拼接, 并进行质控、嵌合体过滤, 获得高质量的测序结果, 测序结果经过 Reads 拼接、DADA2 去噪和物种注释等步骤,

最终得到样品物种信息。

1.4 统计学的方法

使用 SPSS 27.0 软件进行统计分析, 对于计量资料服从正态分布采用均数加减标准差 ($\bar{x} \pm S$) 表示, 偏态分布则用中位数 M 表示; 两两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验, 多组间比较采用 Kruskal-Wallis 检验; 计数资料采用卡方检验。P<0.05 被认为具有统计学意义。

2 结果

2.1 测序质量分析

采用 16SrDNA 高通量测序方法, Shannon 指数和 Simpson 指数稀释曲线显示测序数据量已饱和, 当前测序深度已足够反映大肠息肉患者及健康对照组肠道菌群多样性及丰度。见图 1。

2.2 肠道菌群 Alpha 多样性分析

根据 Chao1 指数、observed_otus 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数来反映菌群丰富度、多样性和均匀度。结果显示, 初发组和复发组的肠道菌群多样性及丰度较健康组均有所下降且差异显著, 其中以复发组菌群差异最为显著 (P<0.01)。见图 2。

2.3 肠道菌群 Beta 多样性分析

基于 bray_curtis 距离矩阵图结果显示 PCoA1+PCoA2=22.32%, 初发者和复发组之间的菌群组成结构相似, 但与健康组菌群组成结构有差异, 差异有统计学意义 (P=0.001)。

2.4 物种差异分析

根据物种丰度表和物种注释表, 选取初发组、复发组和健康组平均相对丰度排名前 30 物种, 分别在门和属级水平上分析比较, 并进行 Mann-Whitney U 检验, 筛选出 P 值<0.05 的差异物种。

2.4.1 门水平物种分析

在门水平 (Phylum) 上, 三组人群均以厚壁菌门 (Firmicutes)、变形菌门 (Proteobacteria)、拟杆菌门 (Bacteroidota)、放线菌门 (Actinobacteriota) 和疣微菌门 (Verrucomicrobiota) 为主, 占总体的 90% 以上。其中, 与健康组相比, 初发组和复发组的变形菌门相对丰度升高, 拟杆菌门相对丰度降低, 以复发组下降明显。见图 4。

2.4.2 属水平物种分析

在属水平 (Genus) 上, 三组之间表现出显著的菌群物种差异, 初发组和复发组患者肠道大肠杆菌-志贺菌属 (Escherichia-Shigella)、链球菌属 (Streptococcus) 和瘤胃球菌属 (Ruminococcus_gnavus_group) 相对丰度

高于健康组, 普拉梭菌属 (*Faecalibacterium*) 和琼脂杆菌属 (*Agathobacter*) 相对丰度低于健康组, 其中在复发组患者中相对丰度更低。

此外, 复发组中肠球菌属 (*Enterococcus*)、放线菌属 (*Actinomyces*) 和罗姆布茨菌属 (*Romboutsia*) 相对丰度高于初发组。见图 5。

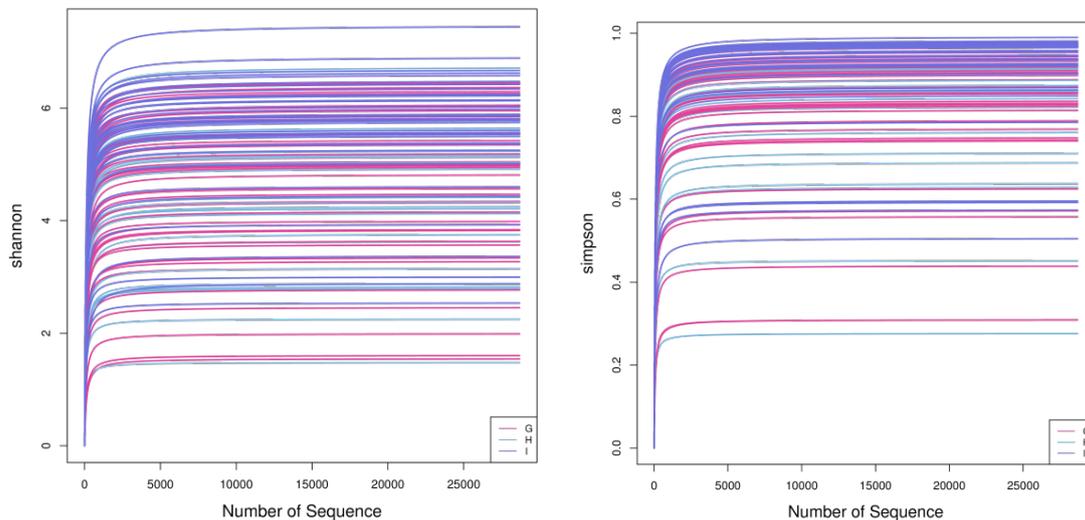


图 1 初发组 (G)、复发组 (H) 和健康组 (I) 的 Shannon 指数和 Simpson 指数稀释曲线

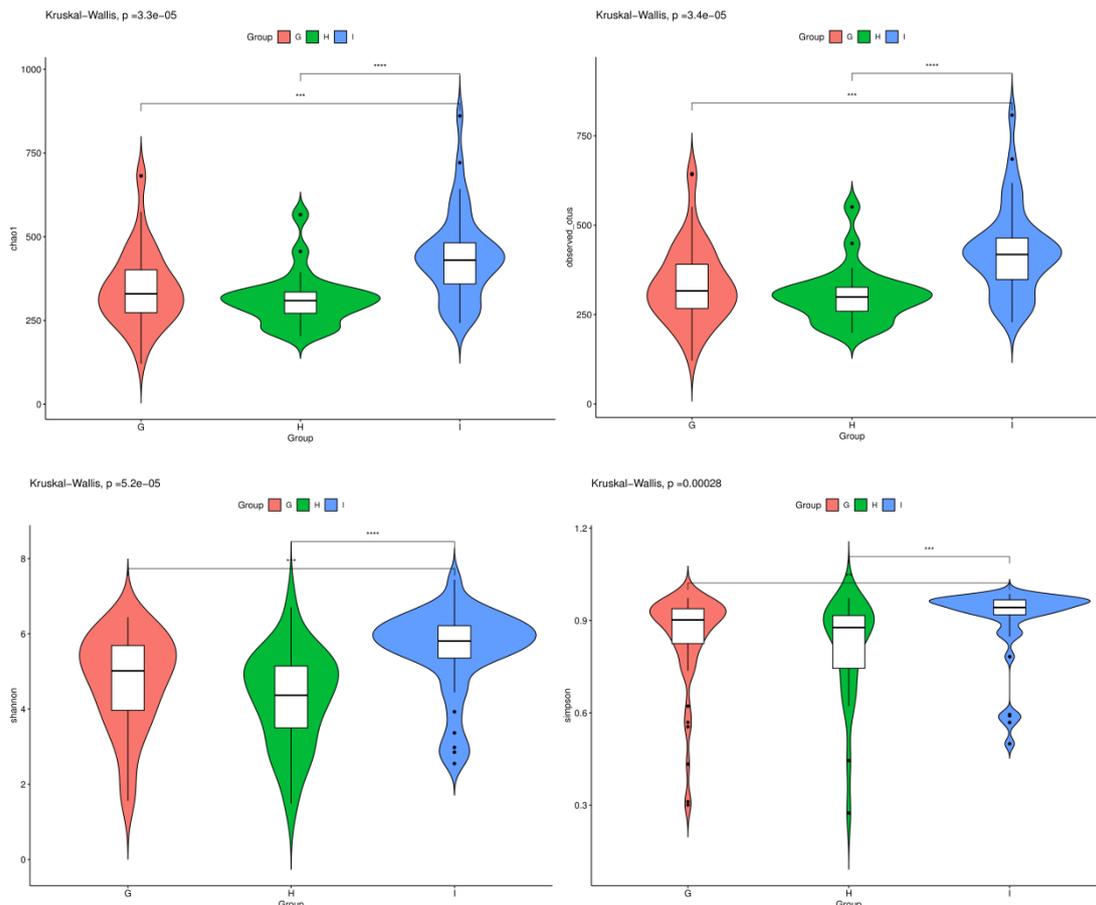


图 2 初发组 (G)、复发组 (H) 和健康组 (I) 的 α 多样性指数差异分析图

注: **表示差异显著, ****表示差异极显著, ns 表示表示无显著差异。

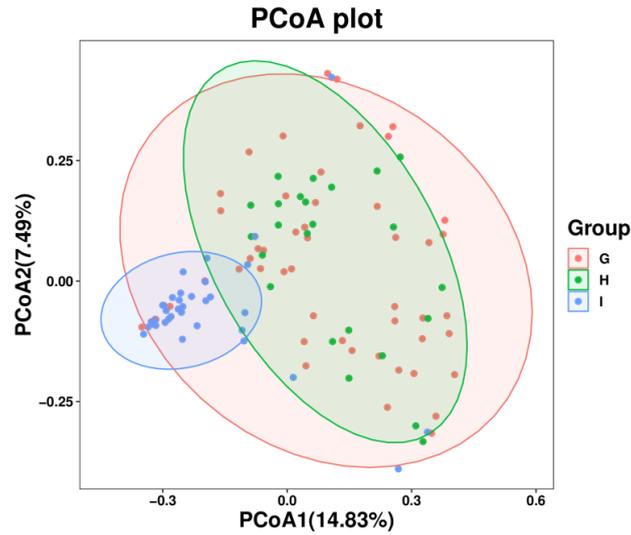


图3 初发组 (G)、复发组 (H) 和健康组 (I) 的 bray_curtis 距离矩阵图

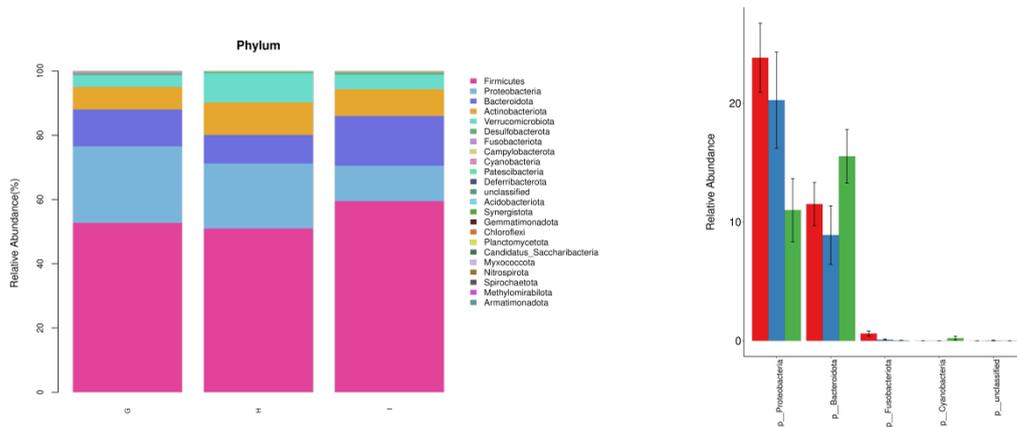


图4 初发组 (G)、复发组 (H) 和健康组 (I) 门水平菌群物种差异分析图

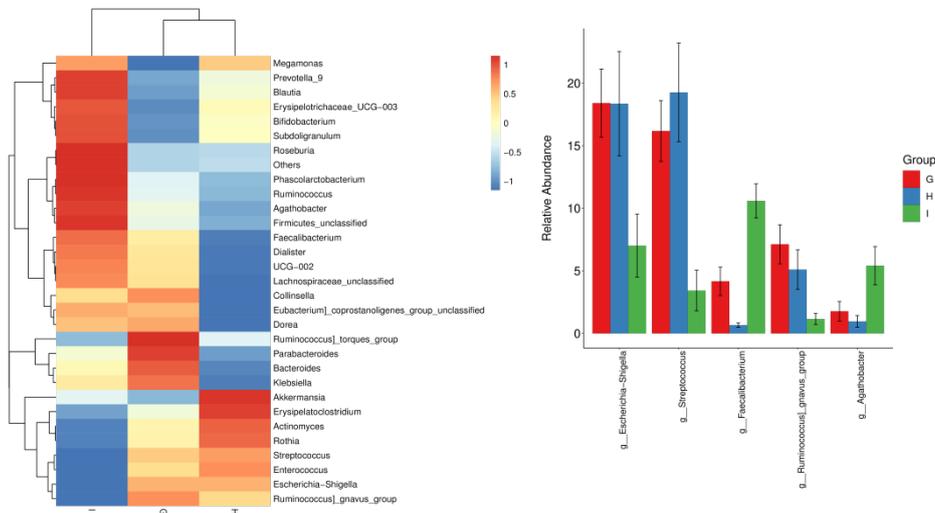


图5 初发组 (G)、复发组 (H) 和健康组 (I) 属水平菌群物种差异分析图

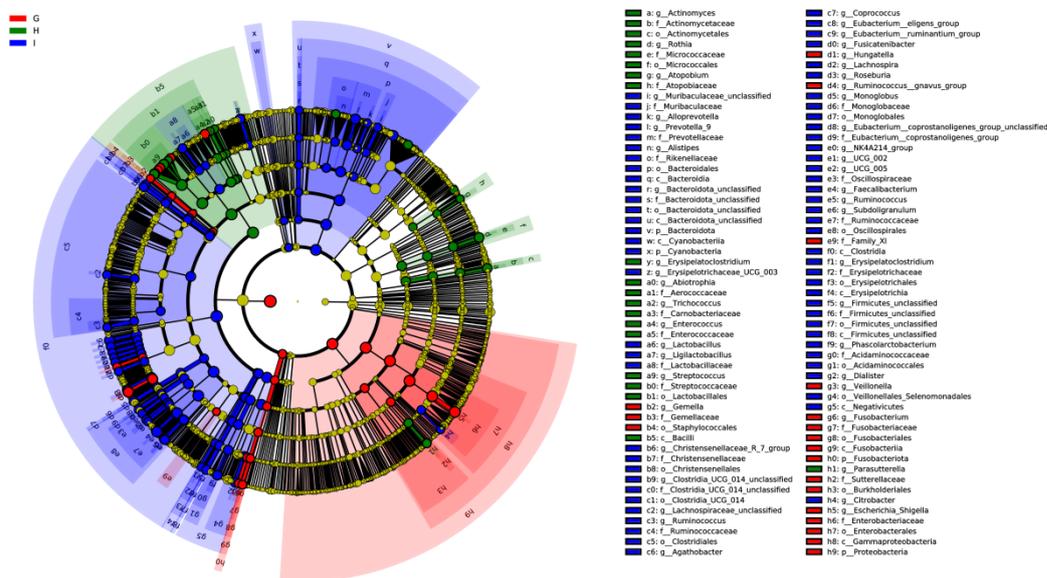


图6 初发组(G)、复发组(H)和健康组(I)的LefSe 差异分析图

2.5 肠道菌群 LefSe 分析

利用 Kruskal-Wallis 秩和检验筛选组间差异物种, 使用线性判别分析(LDA)发现每组的标志物种, 柱状图及进化分支图结果显示, 在初发者中孪生球菌属(Gemella)、变形菌门亚群如变形菌纲(Gammaproteobacteria)、伯克氏菌目(Burkholderiales)、萨特氏菌科(Sutterellaceae)和大肠杆菌-志贺菌属、梭杆菌属(Fusobacterium)相对丰度较复发组和健康组有显著性差异, 为优势菌群; 在复发组中肠球菌、链球菌、放线菌、罗姆布茨菌和 Parasutterella 菌较初发者和健康组有显著性差异, 为优势菌群。见图6。

3 讨论

大量研究表明肠道菌群在大肠息肉发生发展中起着重要作用, 肠道菌群是人体内最复杂和最大的微生物生态系统, 被称为是体内的一个“新系统”和“新器官”^[7], 目前大肠息肉患者的复发率越来越高, 复发率与息肉数量、大小、绒毛结构和发育不良程度成正比, 但也与年龄和结直肠癌家族史有关。一项前瞻性研究发现大肠息肉患者5年的复发率由5%逐年上升至12.5%; 最高的比率出现在过去两年。未切除息肉患者的5年累积肿瘤病变风险为73%, 内镜切除息肉患者为20%^[8]。因此研究肠息肉初发者和复发者与健康这肠道菌群之间的关系, 对大肠息肉的预防、诊断和治疗有重要意义。

本研究采用16SrDNA基因测序法对75例大肠息肉患者及同期37例健康体检者肠道菌群进行了差异分析。Alpha多样性指数分析结果显示, 初发性肠息肉和复发性肠息肉的肠道菌群多样性及丰度较健康组均有所下降, 这与既往研究报道一致^[9], 其中以复发组菌群差异最为显著。

从菌群结构上看, 初发性息肉、复发性息肉与健康对照组均以厚壁菌门、变形菌门、拟杆菌门、放线菌门和疣微菌门为主, 占总体的90%以上。其中, 与健康组相比, 肠息肉初发者和复发者的变形菌门相对丰度升高, 拟杆菌门相对丰度降低。相关研究表明^[10], 结直肠癌组拟杆菌门和弯曲杆菌门水平显著降低, 变形菌门水平升高, 本研究中肠息肉复发者拟杆菌门下降最明显, 有害菌群明显增加, 这说明肠道菌群失调可能与肠息肉复发有关。在属水平上, 肠息肉初发者和复发者均表现出显著的菌群物种差异, 相较于健康对照组, 肠息肉初发者和复发者肠道大肠杆菌-志贺菌属、链球菌属和瘤胃球菌属相对丰度升高, 普拉梭菌属和琼脂杆菌属相对丰度降低, 其中在复发患者中相对丰度更低。越来越多的研究探索了个体的肠道微生物群, 并确定了与致癌作用相关的各种不同菌群, 包括大肠杆菌-志贺菌属、拟杆菌属、梭杆菌属、埃希菌属和链球菌属等^[11]。普拉梭杆菌属可消除肠道毒性并促进肿瘤免疫^[12],

粪便中的琼脂杆菌属与结直肠癌患者的预后呈正相关^[13]；它们是产生丁酸盐和丙酸盐的主要群体之一，研究发现肠道菌群的代谢物短链脂肪酸（包括乙酸、丙酸和丁酸等）与结直肠息肉密切相关^[14]，丁酸盐和丙酸盐通过激活结肠细胞和免疫细胞中的 G 蛋白偶联受体发挥正调节作用，丁酸盐可通过下调转录因子 NF- κ B、抑制白介素-6 和白介素-12 等促炎性因子的表达及促进抗炎因子的表达来控制炎症反应；还可通过上调编码肠道紧密连接蛋白的基因，维持肠道通透性^[15]。短链脂肪酸还可调节结肠细胞的增殖和分化，增加黏蛋白 2 的表达并调节免疫和氧化应激反应，从而保护结肠上皮发挥抗癌和抗炎作用^[16]。研究进一步证实^[17]，肠道菌群失调会导致短链脂肪酸浓度的改变，可能影响肠息肉患者复发率的增加。此外，本研究还发现肠息肉复发患者中肠球菌属、放线菌属和罗姆布茨菌属相对丰度高于肠息肉初发患者，为优势菌群，有望成为大肠息肉初发早期的风险预测因子，及时预防肠息肉复发，还可以研究相关肠道菌群药物干预防止肠息肉复发，但目前对此类研究甚少仍需大量研究加以证实。

综上所述，本研究通过 16SrDNA 测序法检测了肠息肉初发患者和复发患者与肠道菌群失调之间的关系。复发性肠息肉患者肠道菌群多样性及丰度显著减少，肠球菌属、放线菌属和罗姆布茨菌属为优势菌群，这对预防大肠息肉复发具有重要意义。

参考文献

- [1] Ladabaum U, Dominitz J A, Kahi C, et al. Strategies for colorectal cancer screening[J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(2): 418-432.
- [2] Zauber A G, Winawer S J, O'Brien M J, et al. Colonoscopic polypectomy and long-term prevention of colorectal-cancer deaths[J]. *New England Journal of Medicine*, 2012, 366(8): 687-696.
- [3] Wang Q P, He X X, Xu T, et al. Polyp recurrence after colonoscopic polypectomy[J]. *Chinese Medical Journal*, 2020, 133(17): 2114-2115.
- [4] Chaoui I, Demedts I, Roelandt P, et al. Endoscopic mucosal resection of colorectal polyps: results, adverse events and two-year outcome[J]. *Acta Gastro-Enterologica Belgica*, 2022, 85.
- [5] Zhong X, Wang Y, Xu J, et al. Gut microbiota signatures in tissues of the colorectal polyp and normal colorectal mucosa, and faeces[J]. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2023, 12: 1054808.
- [6] Zhang X, Jin WW, Wang HG. Correlation between the neuroendocrine axis, microbial species, inflammatory response, and gastrointestinal symptoms in irritable bowel syndrome[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2024, 30(35): 3985-3995.
- [7] Guo X, Okpara ES, Hu W, et al. Interactive relationships between intestinal Flora and Bile acids[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(15): 8343.
- [8] Stoian M, Becheanu G, Balescu I, et al. Recurrence and Carcinogenic Rates of Colorectal Polyps[J]. *Chirurgia (Bucharest, Romania: 1990)*, 2024, 119(1): 21-35.
- [9] Hale VL, Chen J, Johnson S, et al. Shifts in the fecal microbiota associated with adenomatous polyps[J]. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 2017, 26(1): 85-94.
- [10] Zeng X, Jia H, Zhang X, et al. Supplementation of kefir ameliorates azoxymethane/dextran sulfate sodium induced colorectal cancer by modulating the gut microbiota[J]. *Food & Function*, 2021, 12(22): 11641-11655.
- [11] 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]. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2023, 42(3): 305-322.
- [12] Gao Y, Xu P, Sun D, et al. Faecalibacterium prausnitzii abrogates intestinal toxicity and promotes tumor immunity to increase the efficacy of dual CTLA4 and PD-1 checkpoint blockade[J]. *Cancer Research*, 2023, 83(22): 3710-3725.
- [13] Martini G, Ciardiello D, Dallio M, et al. Gut microbiota correlates with antitumor activity in patients with mCRC and NSCLC treated with cetuximab plus avelumab[J]. *International Journal of Cancer*, 2022, 151(3): 473-480.
- [14] Hertz S, Anderson JM, Nielsen HL, et al. Fecal microbiota is associated with extraintestinal manifestations in inflammatory bowel disease[J]. *Annals of Medicine*, 2024, 56(1): 2338244.
- [15] Oh TJ, Sul WJ, Oh HN, et al. Butyrate attenuated fat gain through gut microbiota modulation in db/db mice following dapagliflozin treatment[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1):

20300.

2020, 21(19):7359.

[16] Liu G,Tang J,Zhou J,et al.Short-chain fatty acids play a positive role in colorectal cancer[J].Discover Oncology, 2024,15(1):425.

[17] Pop OL,Vodnar DC,Diaconeasa Z,et al.An overview of gut microbiota and colon diseases with a focus on adenomatous colon polyps[J]. International journal of molecular sciences,

版权声明: ©2025 作者与开放获取期刊研究中心 (OAJRC) 所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS