

食管微生态与食管癌发生发展关系的研究进展

李政奇, 陈志浩, 王贵齐

(国家癌症中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院, 北京 100021)

摘要:食管癌发病机制复杂,与饮食、遗传、环境等诸多因素有关。近年来,随着宏基因组学研究的兴起及高通量测序技术的发展,食管微生态的研究已经成为研究食管癌病因学的热点之一。目前已经有不少的研究探讨了食管微生态与食管癌发生发展的关系及其发挥的作用与可能机制。该文就相关研究进展进行综述。

关键词:食管癌;微生态;宏基因组;病因学;机制

中图分类号:R735.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-0242(2017)11-0899-05

doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2017.11.A011

Progress on Relationship Between Esophageal Microbiota and Esophageal Carcinoma

LI Zheng-qi, CHEN Zhi-hao, WANG Gui-qi

(National Cancer Center/Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China)

Abstract: The pathogenesis of esophageal cancer is complex, in which genetic, dietary, environment and other factors may be involved. In recent years, with the rising of metagenomics and the development of high-throughput sequencing technique, microbiota have become a hotspot in the study of the etiology of esophageal cancer. This article reviews the research progress on the relationship between esophageal microbiota and the development and progression of esophageal carcinoma, and the related mechanisms.

Key words: esophageal carcinoma; microbiota; metagenomics; etiology; mechanism

人体消化道有多种定植菌,这些定植菌聚集在一起组成的整体叫做微生态^[1]。传统的细菌培养法无法对消化道微生态菌群种类进行准确鉴定。近年来随着宏基因组学研究的兴起及高通量测序技术的发展,消化道内菌群鉴定水平得到很大的提高。现有的研究已经证实,消化道局部微生态构成改变会导致疾病的发生^[1-3],如肠道微生态失调与结直肠癌^[3],幽门螺杆菌与胃癌^[4]等有关。目前有很多研究报道食管微生态改变与食管癌发生发展的关系,本文对这一研究领域作一综述。

收稿日期:2017-02-06;修回日期:2017-05-21

基金项目:“十三五”国家重点研发计划项目(重大慢性非传染性疾病防控研究)(2016YFC1302800);中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2016-12M-1-001)

通讯作者:王贵齐, E-mail: wangguiqi@126.com

1 正常食管的微生态

Yang 等^[5]研究表明,食管黏膜上皮的微生物可以分为两类,第一类(type I)以革兰阳性菌为主,其主要分布于正常人的食管;第二类(type II)以革兰阴性菌为主,其主要存在于 Barrett 食管(Barrett esophagus, BE)或食管炎的患者中。Liu 等^[6]应用 16S rDNA 序列分析技术进一步研究远端食管微生物菌群,其样本取自 6 名没有食管疾病的正常人、胃食管反流病患者(gastroesophageal reflux disease, GERD)、BE 患者,取样点在胃食管交界上方 1cm 处。结果显示正常人组有 11 属的细菌含量大于 3%(Table 1)^[6],与 Pei 等^[7]研究结果相符。其研究结果共同表明:首先,食管存在微生态;第二,食管微生态与口腔微生

Table 1 The type and content of the main bacteria in esophagus among the normal subjects, GERD patients and BE patients (%)^[6]

Bacterias	Normal group	GERD	BE
Proteobacteria	49	43	20
Firmicutes	40	33	55
Bacteroidetes	8	10	14
Actinobacteria	3	2	2
Fusobacteria	0	10	9
TM7	0	2	0

态的菌群组成是类似的,二者占主导地位的前6种细菌是相同的。通过此研究,可以初步得出结论:食管菌群改变可能与食管相关疾病有一定的关系。

2 食管微生态与 ESCC

食管癌有两种主要类型:食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)和食管腺癌(esophageal adenocarcinoma, EAC)。ESCC 已被证实的危险因素有:烟草、酒精、较低的社会地位、慢性萎缩性胃炎^[8]、口腔卫生不良、高温饮食、人乳头状瘤病毒(HPV)感染等^[9]。因此有关食管微生态与 ESCC 发病机理的相关研究也基于这些危险因素展开。各项研究结果的共同点是:ESCC 中菌群的 β 多样性较正常人下降。但关于 ESCC 菌群的 α 多样性的改变尚有争议。

大多数的研究认为^[1,10,11]:食管黏膜微生物丰度(即微生物总量)的降低与食管鳞状上皮不典型增生有关。其机制可能是肥胖、糖尿病、炎性肠病等食管癌危险因素首先导致食管微生物丰度的降低,进一步导致鳞状上皮不典型增生。而这些研究也证实了在鳞状上皮不典型增生患者中其食管的菌群种类个体差异也较正常人下降,其机制可能是不良的饮食习惯或者地域因素造成了食管病变患者相似的食管表面环境,进而使得其食管表面微生物群落构成基本相似。

2.1 烟草对食管微生态的影响

烟草是 ESCC 主要危险因素之一^[12]。现有研究主要从烟雾中的化学成分入手,研究其激活机体相关炎症反应通路引起食管上皮细胞癌变的机理^[13]。Kumar 等^[14]与 Morris 等^[15]研究证实了烟草会改变口腔微生态、呼吸道微生态定植菌成分,引起牙周疾病

与肺疾病。基于以上研究基础,Vogtmann 等^[10]在对河南林州 278 例 ESCC 男性患者进行回顾性研究,对比了曾经吸烟戒烟者、未戒烟者、不曾吸烟者食管内微生物的物种多样性。结果显示未戒烟者食管内菌群的 α 多样性较不曾吸烟者和已戒烟者增加,而 β 多样性较不曾吸烟者和已戒烟者降低。而不曾吸烟者和已戒烟者在两种菌群的多样性中没有统计学差异。但相关研究未能说明烟草导致的食管微生态改变是否会引起食管上皮细胞癌变以及可能机制。

2.2 慢性萎缩性胃炎患者食管微生态变化

多项研究已经证实慢性萎缩性胃炎是 ESCC 的危险因素,但机制尚不明确^[16]。Yu 等^[1]发现,上消化道微生物丰度的降低是食管黏膜与胃黏膜癌的共同危险因素。McColl 等^[17]的研究认为,慢性萎缩性胃炎患者的胃黏膜环境更适宜产生亚硝基的细菌生长,进而导致食管上皮的癌变。Nasrollahzadeh 等^[11]基于食管癌高发地区伊朗戈勒斯坦省(Golestan province)的研究则发现了具体菌种:ESCC 或中度食管炎患者中厚壁菌门中梭菌目(*Clostridiales*)和丹毒丝菌目(*Erysipelotrichales*)的含量较健康人显著增加。但目前尚无研究可以阐述清楚其具体致癌机制,今后的研究可以从分子机制层面继续探索。

2.3 口腔卫生不良对食管微生态的影响

口腔卫生不良是 ESCC 的另一风险因素。牙周病、牙齿的缺如会增加患 ESCC 的风险,而刷牙次数越多,患 ESCC 的可能性越小^[18,19]。有研究表明导致牙周病的微生物同时具有将乙醇转化成致癌物乙醛的作用,而刷牙可以将口腔内滋生细菌的食物残渣和牙齿表面的细菌清除;由于牙齿缺如,患者常常无法对食物进行完全咀嚼而下咽,对食管黏膜是一种有害刺激^[18,20]。Chen 等^[2]使用 16S rRNA 测序法,检测 87 例 ESCC 患者,65 例不典型增生,以及 85 例健康对照组的唾液样本。结果表明,ESCC 患者的唾液中细菌多样性较正常对照组和不典型增生组下降,尤其是口动菌属(*Lautropia*)、Bulleidia 菌属、卡氏菌属(*Catonella*),而普氏菌属、链球菌属、牙卟啉单胞菌属的含量占比则相对较大。

Gao 等^[21]研究进一步表明,牙卟啉单胞菌属的感染是食管上皮癌变的主要因素,且 ESCC 的 TNM 分期越高,该菌属的感染量越大,因而可作为 ESCC 的生物标记。但该结论尚未得到其他研究者的证实,可以预见的是,如果能够确认牙卟啉单胞菌属可作

为 ESCC 的生物标记,那么对于 ESCC 的早期筛查、诊断、治疗有很高的临床价值。

2.4 HPV 与 ESCC

口咽部的鳞状细胞癌与 HPV 的关系已经被有关研究所证实^[22]。由于口咽部的鳞状上皮细胞与食管鳞状上皮细胞在组织学以及人白细胞抗原(HLA)上的相似性,有理由认为 HPV 与 ESCC 的发生发展有关系^[23]。多数研究表明,食管癌样本中 HPV DNA 含量高于正常组织,其中高风险的 HPV16 型和 18 型占据主导地位^[22],Rajendra 等^[24]的研究还在 7% 淋巴结转移的食管癌中发现了 HPV DNA 序列。

尽管很多研究报道了在 ESCC 中存在 HPV 的感染,但其报道的感染率差别很大,从 0~90% 不等^[25]。Halec 等^[26]的研究结果并没有发现 ESCC 标本中 HPV DNA、HPV mRNA 或者 p16^{INK4a} 的上调。并在讨论中对 14 项类似研究进行了 Meta 分析,其结果不支持 HPV 是 ESCC 的一项发病因素的论断。Sitas 等^[27]检测了 1500 例食管癌患者的血清样本,结果表明: HPV16 E6, HPV33 L1, HPV6 E6, HPV6 L1, 以及 HPV11 L1 与 ESCC 都没有统计学上的关联。因此关于 HPV 感染与食管癌发生发展的关系还需要进一步探索。

3 食管微生态与 EAC

研究认为 EAC 的发病过程为 GERD—BE—低级别上皮内瘤变—高级别上皮内瘤变—EAC^[28,29]。因此关于食管微生态对 EAC 发生发展的研究主要集中在 GERD 和 BE 患者中微生态的改变情况。

3.1 GERD、BE 患者中食管微生态的改变与可能的致病机制

2009 年 Yang 等^[5]研究首先揭示了 GERD 与 BE 患者中食管微生态以革兰氏阴性菌为主。Gall 等^[29]采用宏基因组测序法进一步揭示 BE 患者中占主导地位的菌种类为链球菌(厚壁菌门)和普氏菌(拟杆菌门),且二者的比例与患者的腰臀比正相关。肥胖已经被多数研究证实与 GERD、BE 的发生有关^[30],而厚壁菌门较拟杆菌门的细菌能更高效地代谢短链脂肪酸、摄取食物中的能量,造成宿主肥胖。因此该研究提示厚壁菌门细菌的增加可能是使宿主发生 GERD、BE 进一步发展为 EAC 的危险因素。

Kauppila 等^[9]的研究从分子机制上阐述革兰氏

阴性菌的致病机制。革兰氏阴性菌表面脂多糖(lipopolysaccharides, LPS), 会激活 NF- κ B, 引起 IL-8 的表达增高, 这是正常食管向 BE 转化中的关键一步。Yang 等^[5]进一步研究表明 LPS 还可以使诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和环氧合酶(COX)表达增加, 导致食管下段括约肌压力下降, 延缓胃排空导致 GERD 发病率增加, 引起食管慢性炎症并在表皮细胞的恶化、异型增生中发挥重要作用。

3.2 弯曲菌(*Campylobacter*)与 EAC

2013 年的一项关于 EAC 不同阶段(GERD、BE、EAC)食管微生态的研究表明,在 GERD 和 BE 患者中,除了弯曲菌,其他所有属的细菌都较正常对照组下降,尤其是 *Campylobacter. Concisus* 种^[31]。类似的结论被其他研究所证实^[5]。

进一步的研究表明,出现在食管中的弯曲菌种是(但不限于)*C. concisus*、*C. rectus*、*C. curvus*、*C. showae* 和 *C. ureolyticus*, 而不是空肠弯曲菌^[32], 这些细菌可以固定在宿主细胞表面,形成生物膜,分泌毒素,甚至侵袭宿主细胞,对宿主细胞产生破坏,引起疾病发生。

弯曲菌会导致健康人或患者体内 IL-18 升高, IL-18 是与癌症生物学密切相关的前炎症因子。除此之外, *C. concisus* 感染后会导致转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)下调,影响 NF- κ B 和 STAT3 信号通路、SHH - BMP4 信号轴、核苷酸齐聚反应域 2(nucleotide oligomerization domain 2, NOD2) 等多种在 EAC 发生发展中起重要作用的细胞因子通路^[24,33]。基于上述研究成果, Kaakoush 等^[31]认为弯曲菌可能是 EAC 的主要致病菌,但该观点尚未得到专家共识,接下来的研究可以从研究弯曲菌产生的毒素的致癌作用,以及根除弯曲菌对阻止食管黏膜癌变的效果入手,进一步探索其致癌作用及机制。

3.3 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)与 EAC

现有研究已经证实了 Hp 感染与胃腺癌之间的关系^[34,35], 调查表明世界上有超过一半的人感染过 Hp, 且其主要感染者分布在发展中国家^[35]。近些年来由于卫生环境的改善以及 Hp 根治疗法的应用,其感染率呈下降趋势,而 EAC 的发病率呈上升趋势^[4,36]。针对该现象,现已开展了不少研究去解释其机制。Liu 等^[28]总结了 4 届 Masstricht IV/佛罗伦萨共识报告,指出宿主感染 CagA 阳性的 Hp 后会降低 GERD 的严重度,达到阻止食管黏膜癌变的效果。

Fassan^[34]的研究表明患有 BE 的患者罹患萎缩性胃炎的概率显著低于对照组。该结论也得到了—项基于 18 项关于萎缩性胃炎与 EAC 危险因素研究的 Meta 分析的支持^[8]。Xu 等^[35]研究表明, Hp 会引起 IL-8 的产生, 导致 IL-1 β 以及肿瘤坏死因子- α 的升高, 对胃泌酸细胞造成破坏, 造成胃酸产生减少, 由此降低 BE 和 GERD 的发生率, 并最终降低 EAC 的发生率。Hp 感染后引起的免疫应答调节也可能是降低 EAC 发病的一个原因, 因为胃黏膜对 Hp 的免疫反应可能会对引起食管癌的某些致病菌产生交叉免疫, 降低其含量; Hp 存在会影响胃或食管其他微生物的生长, 进而改变食管微生态的细菌组成, 阻止 EAC 的发展^[37]。

然而, 一项 Meta 分析表明 Hp 的感染与 GERD 及其并发症的发生并无联系^[38]。因此 Hp 与 EAC 的关系还需要进一步的研究。

4 总结与展望

现阶段的研究已基本确定正常食管微生态的细菌组成, 并且确定病变食管的微生态组成发生了改变, 其中主要以微生态菌种类型减少为主。这些研究尝试从已知的食管癌高危因素对食管癌微生态的影响、微生态成分改变引起的宿主炎症反应等角度去解释食管微生态的改变与食管癌发生发展的关系。但不同研究结果还存在细微的差别, 食管微生态成分的改变与食管病变或癌变的因果关系以及具体机制尚不确定, 也未能找到特定的引起食管癌变的菌种。未来的研究应进一步采用宏基因组学, 扩大样本例数, 绘制同一批患者食管多位点微生物图谱, 并在寻找致病菌种和致病机制方面进一步探索, 以求为食管癌的早期防治提供新的方向和思路。

参考文献:

- [1] Yu G, Gail MH, Shi J, et al. Association between upper digestive tract microbiota and cancer—predisposing states in the esophagus and stomach [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2014, 23(5): 735–741.
- [2] Chen X, Winckler B, Lu M, et al. Oral microbiota and risk for esophageal squamous cell carcinoma in a high-risk area of China[J]. *PLoS One*, 2015, 10(12): 1–16.
- [3] Zhang YZ, Li ZS, Cai QC. Relationship between gut mi-

crobiota and colorectal cancer[J]. *Chinese Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2016, 2: 121–125.[张永镇, 李兆申, 蔡全才. 肠道菌群与大肠癌关系研究进展[J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2016, 2: 121–125.]

- [4] Blaser MJ. Disappearing microbiota; *Helicobacter pylori* protection against esophageal adenocarcinoma [J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2008, 1(5): 308–311.
- [5] Yang L, Lu X, Nossa CW, et al. Inflammation and intestinal metaplasia of the distal esophagus are associated with alterations in the microbiome [J]. *Gastroenterology*, 2009, 137(2): 588–597.
- [6] Liu N, Ando T, Ishiguro K, et al. Characterization of bacterial biota in the distal esophagus of Japanese patients with reflux esophagitis and Barrett's esophagus [J]. *BMC Infect Dis*, 2013, 13(130): 1–7.
- [7] Pei Z, Bini EJ, Yang L, et al. Bacterial biota in the human distal esophagus [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(12): 4250–4255.
- [8] Islami F, Sheikhattari P, Ren JS, et al. Gastric atrophy and risk of oesophageal cancer and gastric cardia adenocarcinoma—a systematic review and meta-analysis[J]. *Ann Oncol*, 2011, 22(4): 754–760.
- [9] Kauppila JH, Selander KS. Toll-like receptors in esophageal cancer[J]. *Front Immunol*, 2014, 5(7): 1–4.
- [10] Vogtmann E, Flores R, Yu G, et al. Association between tobacco use and the upper gastrointestinal microbiome among Chinese men [J]. *Cancer Causes Control*, 2015, 26(4): 581–588.
- [11] Nasrollahzadeh D, Malekzadeh R, Ploner A, et al. Variations of gastric corpus microbiota are associated with early esophageal squamous cell carcinoma and squamous dysplasia[J]. *Sci Rep*, 2015, 5(8820): 1–6.
- [12] Uno K, Iijima K, Hatta W, et al. Direct measurement of gastroesophageal reflux episodes in patients with squamous cell carcinoma by 24-h pH-impedance monitoring [J]. *Am J Gastroenterol*, 2011, 106(11): 1923–1929.
- [13] Gong J, Chu Y, Xu M, et al. Esophageal squamous cell carcinoma cell proliferation induced by exposure to low concentration of cigarette smoke extract is mediated via targeting miR-101-3p/COX-2 pathway [J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(1): 463–471.
- [14] Kumar PS, Matthews CR, Joshi V, et al. Tobacco smoking affects bacterial acquisition and colonization in oral biofilms[J]. *Infect Immun*, 2011, 79(11): 4730–4738.
- [15] Morris A, Beck JM, Schloss PD, et al. Comparison of the respiratory microbiome in healthy nonsmokers and smokers

- [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2013, 187(10): 1067–1075.
- [16] Islami F, Sheikhattari P, Ren JS, et al. Gastric atrophy and risk of oesophageal cancer and gastric cardia adenocarcinoma—a systematic review and meta-analysis[J]. Ann Oncol, 2011, 22(4): 754–760.
- [17] McColl KE. Helicobacter pylori and oesophageal cancer—not always protective[J]. Gut, 2007, 56(4): 457–459.
- [18] Dar NA, Islami F, Bhat GA, et al. Poor oral hygiene and risk of esophageal squamous cell carcinoma in Kashmir[J]. Bri Cancer, 2013, 109(5): 1367–1372.
- [19] Sato F, Oze I, Kawakita D, et al. Inverse association between toothbrushing and upper aerodigestive tract cancer risk in a Japanese population [J]. Head Neck, 2011, 33(11): 1628–1637.
- [20] Chen X, Yuan Z, Lu M, et al. Poor oral health is associated with an increased risk of esophageal squamous cell carcinoma—a population-based case-control study in China[J]. Int J Cancer, 2017, 140(3): 626–635.
- [21] Gao S, Li S, Ma Z, et al. Presence of Porphyromonas gingivalis in esophagus and its association with the clinicopathological characteristics and survival in patients with esophageal cancer [J]. Infect Agents and Cancer, 2016, 11(1): 1–9.
- [22] Al-Haddad S, El-Zimaity H, Hafezi-Bakhtiari S, et al. Infection and esophageal cancer [J]. Ann N Y Acad Sci, 2014, 1325: 187–196.
- [23] Wang WL, Wang YC, Chang CY, et al. Human papillomavirus infection on initiating synchronous esophageal neoplasia in patients with head and neck cancer [J]. Laryngoscope, 2016, 126(5): 1097–1102.
- [24] Rajendra S, Wang B, Snow ET, et al. Transcriptionally active human papillomavirus is strongly associated with Barrett's dysplasia and esophageal adenocarcinoma [J]. Am J Gastroenterol, 2013, 108(7): 1082–1093.
- [25] Ding GC, Ren JL, Chang FB, et al. Human papillomavirus DNA and P16 (INK4A) expression in concurrent esophageal and gastric cardia cancers [J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(46): 5901–5906.
- [26] Halec G, Schmitt M, Egger S, et al. Mucosal alpha-papillomaviruses are not associated with esophageal squamous cell carcinomas; lack of mechanistic evidence from South Africa, China and Iran and from a world-wide meta-analysis[J]. Int J Cancer, 2016, 139(1): 85–98.
- [27] Sitas F, Egger S, Urban MI, et al. InterSCOPE study: associations between esophageal squamous cell carcinoma and human papillomavirus serological markers [J]. J Natl Cancer Inst, 2012, 104(2): 147–158.
- [28] Liu TY, Dang YN, Zhuang Y, et al. The study progress on the relationship between gastrointestinal microecology and gastroesophageal reflux disease, Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma[J]. Chinese Journal of Digestion, 2016, 36(3): 211–213. [刘庭玉, 党旖旎, 庄雅, 等. 消化道微生态与胃食管反流病、Barrett食管与食管腺癌的关系研究现状[J]. 中华消化杂志, 2016, 36(3): 211–213.]
- [29] Gall A, Fero J, McCoy C, et al. Bacterial composition of the human upper gastrointestinal tract microbiome is dynamic and associated with genomic instability in a Barrett's esophagus cohort[J]. PLoS One, 2015, 10(6): 1–24.
- [30] Long E, Beales IL. The role of obesity in oesophageal cancer development[J]. Therap Adv Gastroenterol, 2014, 7(6): 247–268.
- [31] Kaakoush NO, Castaño-Rodríguez N, Man SM, et al. Is Campylobacter to esophageal adenocarcinoma as Helicobacter is to gastric adenocarcinoma?[J]. Trends Microbiol, 2015, 23(8): 455–462.
- [32] Kaakoush NO, Mitchell HM. Campylobacter concisus—a new player in intestinal disease [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2012, 2: 4.
- [33] O'Sullivan KE, Phelan JJ, O'Hanlon C, et al. The role of inflammation in cancer of the esophagus [J]. Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2014, 8(7): 749–760.
- [34] Fassan M, Rugge M, Parente P, et al. The role of Helicobacter pylori in the spectrum of Barrett's carcinogenesis [J]. Cancer Prev Res (Phila), 2009, 2(1): 94.
- [35] Xu W, Liu Z, Bao Q, et al. Viruses, other pathogenic microorganisms and esophageal cancer [J]. Gastrointest Tumors, 2015, 2(1): 2–13.
- [36] Thrift AP. The epidemic of oesophageal carcinoma; where are we now?[J]. Cancer Epidemiol, 2016, 41: 88–95.
- [37] Lesmana M. Helicobacter pylori and gastro-esophageal reflux disease (GERD)[J]. Univ Med, 2016, 29(1): 46–55.
- [38] Wang XT, Zhang M, Chen CY, et al. Helicobacter pylori eradication and gastroesophageal reflux disease: a Meta-analysis[J]. Chinese Journal of Internal Medicine, 2016, 55(9): 710–716. [王霄腾, 张梦, 陈超英, 等. 根除幽门螺杆菌与胃食管反流病关系的 Meta 分析[J]. 中华内科杂志, 2016, 55(9): 710–716.]