

肿瘤内细菌的特征及其与肿瘤治疗的关联和影响

林淦¹, 黄嘉元¹, 何裕隆^{1,2}, 张华², 牟相宇^{1*}

1. 中山大学医学院 感染免疫中心, 广东 深圳 518107

2. 中山大学附属第七医院 消化医学中心, 广东 深圳 518107

【摘要】 恶性肿瘤是当今医学界面临的一项重大挑战,是影响人类生命健康的重要因素。肠道菌群对肿瘤的发生、发展和药物疗效具有一定影响。随着基因测序技术和生物信息学的发展,研究者们相继在多种肿瘤中发现了细菌。常见的瘤内细菌有梭杆菌(*Fusobacterium*)、拟杆菌(*Bacteroides*)、普雷沃氏菌(*Prevotella*)等。作为肿瘤微环境中的组成部分,瘤内细菌可能对于肿瘤的增殖、转移以及耐药性产生影响,潜在的机制包括激活致癌通路、调节免疫反应、代谢药物等。本文针对瘤内细菌的新近研究展开综述,总结瘤内细菌特征与组成,探讨瘤内细菌与肿瘤的关联和作用,并为开发新的肿瘤治疗手段提供参考。

【关键词】 瘤内细菌; 肿瘤; 肿瘤微环境

Characteristics of intratumoral bacteria and their effects on tumor treatment

Lin Gan¹, Huang Jiayuan¹, He Yulong^{1,2}, Zhang Hua², Mou Xiangyu^{1*}

1. Cancer for Infection and Immunity Studies, School of Medicine, Sun Yat-Sen University, Shenzhen 518107, Guangdong, China

2. Department of Digestive Medicine, The Seventh Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Shenzhen 518107, Guangdong, China

*Corresponding author: Mou Xiangyu, E-mail: mouxy5@ms.sysu.edu.cn

【Abstract】 Malignant tumor is a serious medical challenge and an important factor affecting the health of humans. Tumor occurrence, development and drug efficacy are influenced by gut microbiota. Researchers have detected bacteria in various tumor consecutively. Common intratumoral bacteria genera include *Fusobacterium*, *Bacteroides* and *Prevotella*. As a composition of tumor microenvironment, intratumoral bacteria may influence tumor proliferation, metastasis and drug resistance. The potential mechanisms include activation of carcinogenic pathway, regulation of immune response, and drug metabolism. In this review, latest studies of intratumoral bacteria are summarized, including the characteristics and composition of intratumoral bacteria, and the association between intratumoral bacteria and tumors. This review provides a reference for the development of novel anti-cancer treatments targeting intratumoral bacteria.

【Key words】 Intratumoral bacteria; Tumor; Tumor-microenvironment

肿瘤是当今医学界面临的一项严峻挑战,也是影响人类生命健康的重要因素。据统计,2020年全球共有1930万新增肿瘤病例和1000万肿瘤死亡病例^[1]。其中,中国恶性肿瘤患者的确诊率和死亡率均较高,其确诊人数占全球总数的24%,死亡人数占全球总数的30%,恶性肿瘤已经成为我国居民死亡的主要原因之一^[2]。

人体肠道内聚集着大量微生物,这些微生物共同构成

肠道菌群,对人类的疾病和健康状态产生着深远的影响^[3-4]。肠道菌群与肿瘤的发生和发展密切相关,不仅会影响抗肿瘤药物的疗效和毒性,还会影响肿瘤免疫治疗的效果,调节肠道菌群能够促进抗肿瘤药物的治疗效果^[5-9]。肿瘤微环境由肿瘤细胞、免疫细胞、肿瘤基质细胞以及非细胞成分组成,是肿瘤形成和发展的关键因素^[10]。随着基因测序技术的不断进步,研究者们发现肿瘤微环境中同样存在着微生物群,这些微生物是肿瘤微环境的重要组成部分^[11-12]。这些瘤内微生物通过激活致癌通路、调节免疫反应、代谢

* 通信作者: 牟相宇, E-mail: mouxy5@ms.sysu.edu.cn

药物等方式影响肿瘤的发生和药物治疗效果^[12]。2020年Nejman D等^[13]对7种不同类型肿瘤及其邻近组织的1526个样本进行了系统的研究,证实了细菌存在于多种肿瘤中,第一次系统地揭示了瘤内细菌的组成及其特征。本文旨在从瘤内细菌的特征与组成角度出发,综述瘤内细菌对肿瘤发生、转移以及耐药性的影响和关联,以期能与与瘤内细菌相关的研究提供参考,并为开发新的癌症治疗策略提供思路。

1 瘤内细菌的特征与组成

1.1 瘤内细菌的特征 瘤内细菌可能来源于邻近或远端的健康组织,并且与健康组织的菌群存在差异。研究表明,鼻咽癌肿瘤中的微生物来源于鼻咽微生物群^[14];口腔微生物群中的具核梭形杆菌(*Fusobacterium nucleatum*)可以通过血液循环形成定植并影响结直肠癌肿瘤组织^[15]。另有研究比较了正常组织与肿瘤组织中菌群的差异,例如,洗博鸿等^[16]发现,和正常食管组织相比,食管鳞癌肿瘤组织中牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)、具核梭形杆菌两种菌的丰度明显增加;Thompson KJ等^[17]发现乳腺癌肿瘤组织中变形菌(*Proteobacteria*)丰度较高,而邻近健康组织中丰度较高的是放线菌(*Actinobacteria*)。

从分布特征来看,瘤内细菌在肿瘤微环境中主要存在于细胞内,在肿瘤细胞和免疫细胞内都有分布,但肿瘤细胞内的细菌数量多于T细胞、巨噬细胞等免疫细胞,并且许多细菌都是以缺失细胞壁的状态存在于细胞内的^[13,18]。此外,细菌在肿瘤组织中的空间分布与肿瘤微环境的异质性相关,细菌富集的区域具有血管较少、髓系细胞增多、T细胞减少、免疫抑制等特征^[19]。与健康组织相比,肿瘤微环境中特殊的血管生成、缺氧环境、营养重组、免疫抑制等条件,都使得细菌更倾向于在肿瘤组织中富集^[20]。

1.2 瘤内细菌的组成 人们相继在多种类型的肿瘤中发现了细菌的存在。值得注意的是不同类型肿瘤中菌群的组成是不同的,即使同种肿瘤的不同亚型,其瘤内细菌的组成也有不同的情况^[13]。尽管瘤内细菌的存在已被证实,但是肿瘤组织中细菌的丰度较低,为瘤内细菌的研究带来了一定的挑战。研究人员需要采用更加精密的技术手段,同时还需要避免环境微生物对样品的污染。近年来,扩增子分析、宏基因组分析、免疫组织化学等技术手段的成熟与应用,为揭示瘤内细菌的组成提供了技术支持^[21]。

目前,研究证实肿瘤内存在细菌,不同类型肿瘤中细菌组成不同。Liu W等^[22]通过16S rRNA测序的方法鉴定出结直肠癌肿瘤组织中富含梭形杆菌(*Fusobacterium*)、拟杆菌(*Bacteroides*)、微单胞菌(*Parvimonas*)、普雷沃氏菌(*Prevotella*)等。Abate M等^[23]对两个独立队列进行回顾性分析,发现胃癌肿瘤组织中瘤内细菌组成包括螺杆菌(*Helicobacter*)、乳杆菌(*Lactobacillus*)、链球菌(*Streptococcus*)、普雷沃氏菌和拟杆菌(图1)。其中,幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)具有在胃内定植的能力,能产生细胞毒素相关蛋白

(CagA)等毒力因子,诱发胃炎、胃溃疡等多种胃部疾病,严重时还会诱发胃癌^[24-25]。其他类型的肿瘤组织也同样存在细菌,例如,鼻咽癌肿瘤组织富含的细菌是棒状杆菌(*Corynebacterium*)和葡萄球菌(*Staphylococcus*)^[14];胰腺癌肿瘤中不动杆菌(*Acinetobacter*)、假单胞菌(*Pseudomonas*)等丰度较高^[26];肝细胞癌肿瘤组织中丰度较高的是别样海源菌(*Aliidiomarina*)、嗜盐单胞菌(*Halomonas*)、迪茨氏菌(*Dietzia*)和无色杆菌(*Achromobacter*)等^[27](图1)。

研究表明,同种肿瘤不同亚型,瘤内细菌的组成也可能不同。在乳腺癌中,根据不同人表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)、雌激素受体(estrogen receptor, ER)以及三阴性特征进行分型,不同亚型肿瘤组织中具有不同的细菌种类富集^[13];在胃癌中,与其他类型的胃癌相比,高微卫星不稳定型的胃癌中具有更明显的微生物富集^[23]。

2 瘤内细菌对肿瘤的影响

瘤内细菌对肿瘤的影响是多方面的,肿瘤的发生、转移、耐药性以及预后效果都受到瘤内细菌的影响。揭示瘤内细菌对肿瘤的影响,有利于探究微生物与宿主的互作机制,更好地理解肿瘤的发生与发展,从而为开发新的肿瘤治疗策略提供思路。

2.1 瘤内细菌对肿瘤转移的影响 肿瘤发生后某些瘤内细菌能够为肿瘤细胞的转移提供便利条件,促进肿瘤的转移。有研究指出人乳腺癌和小鼠乳腺癌具有相似的瘤内细菌组成,用抗生素处理的小鼠肿瘤转移受到抑制,而肿瘤生长不受限制,其机制可能是瘤内细菌通过调节小鼠乳腺癌肿瘤细胞的肌动蛋白细胞骨架,帮助肿瘤细胞适应循环系统中的流体剪切力,促进肿瘤细胞的转移^[28]。Bertocchi A等^[29]揭示了肿瘤内大肠埃希菌促进结直肠癌肝转移的原理,大肠埃希菌可以破坏肠道血管屏障,并散播到肝形成前生态定位,进而募集肿瘤细胞,促进结直肠癌肿瘤细胞转移到肝,而使用抗生素能阻碍这种转移的发生。

瘤内细菌可能影响肿瘤内的免疫微环境。如Wong-Rolle A等^[18]通过空间宏转录组学的方法,发现瘤内细菌负荷高的肿瘤细胞β连环蛋白表达量更高。β连环蛋白的表达与抗肿瘤T细胞在肿瘤微环境中的浸润呈负相关,同时可能抑制T细胞的活性,进而影响免疫系统的抗肿瘤作用,促进肿瘤细胞的免疫逃逸^[30]。

此外,结直肠癌患者的肿瘤组织中存在大肠埃希菌,大肠埃希菌可携带pks致病岛,该致病岛的功能是编码合成大肠杆菌素的生物酶,大肠杆菌素可诱导DNA双链断裂,与结直肠癌的发生有关^[28,31-32];然而瘤内大肠杆菌素是否携带pks致病岛目前还未见报道。

2.2 瘤内细菌对肿瘤耐药性的影响 化疗是治疗肿瘤常见的方法,吉西他滨、氟尿嘧啶、铂类药物等可用于肿瘤的治疗,化疗药物治疗肿瘤的原理通常是抑制肿瘤细胞的增殖,包括损伤肿瘤细胞DNA、抑制DNA复制、诱导细胞凋

亡等方式^[7]。耐药性是影响肿瘤化疗效果的最大因素,瘤内细菌能提高肿瘤细胞的耐药性,从而影响化疗效果。

瘤内细菌可以通过将化疗药物代谢成没有治疗功能的化合物,来提高肿瘤的耐药性。支原体和多种 γ 型变形菌(*Gammaproteobacteria*)可以产生微生物胞苷脱氨酶(cytidine deaminase, CDD),将吉西他滨代谢成其无抗肿瘤活性的2'-二氟脱氧尿苷(dFdU)^[33]。瘤内细菌还可以直接作用于肿瘤细胞来提高耐药性,Yu T等^[34]在复发结肠癌患者中发现具核梭形杆菌丰度较高,该菌能够提高结肠癌细胞对化疗药物5-氟尿嘧啶和奥沙利铂的耐药性,具体机制是具核梭形杆菌通过Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)、髓样分化因子88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)抑制miR-18a^{*}和miR-4802两种小RNA的表达,进而让肿瘤细胞自噬作用保持开启状态,以逃避化疗药物引起的细胞凋亡。Sithirak S等^[35]根据肿瘤细胞对吉西他滨和顺铂类药物的反应不同分为耐药组和敏感组,菌种鉴定结果发现耐药组和敏感组的瘤内细菌的组成与丰度不同,进一步的代谢物分析发现耐药组中乙酰胆碱、肉毒碱等化合物含量更高,这些化合物能促进肿瘤的进展^[36-37]。

2.3 瘤内细菌与肿瘤预后的关联 由于肿瘤异质性的问题,瘤内细菌与肿瘤患者长期预后的相关性,在不同类型肿瘤中呈现不同状态。一项关于胰管腺癌的研究中,预后生存期长的患者特征的瘤内细菌是鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas*)、肠球菌(*Enterococcus*)、巨型球菌(*Megasphaera*)^[38]。Riquelme E等^[39]的研究同样发现瘤内细菌与胰管腺癌更好的预后有关,预后生存期长的患者肿瘤内的特征微生物包括假黄单胞菌(*Pseudoxanthomonas*)、链霉菌(*Streptomyces*)、糖多孢菌(*Saccharopolyspora*)、芽孢杆菌(*Bacillus*);并通过相关性分析发现瘤内微生物与免疫激活和T细胞的浸润相关,因此瘤内细菌有可能促进CD8⁺T细胞在肿瘤组织中的富集和活化,进而提高免疫系统对肿瘤细胞的杀伤作用。一项肛管鳞状细胞癌的研究发现,肿瘤内具核梭形杆菌含量高的患者预后生存期更长,但这项研究结果与大部分消化系统肿瘤存在差异^[40]。

然而,Qiao H等^[14]用定量聚合酶链反应(quantitative polymerase chain reaction, qPCR)的方法鉴定预后不同的鼻咽癌患者的瘤内细菌负荷,发现瘤内细菌负荷高的患者预后更差,高负荷的瘤内细菌可能会抑制免疫应答,减少T细胞在肿瘤组织中的浸润,进而缩短患者的预后生存期。在菌种水平上,具核梭形杆菌与肿瘤较差的预后相关,尤其是在消化道肿瘤,一项关于食管鳞状细胞癌的研究发现,具核梭形杆菌与肿瘤患者的预后较差相关,与瘤内具核梭形杆菌丰度低的患者相比,该菌含量高的食管鳞状细胞癌患者预后更差,复发风险更高^[41]。而有研究发现肿瘤组织中的具核梭形杆菌与胃癌患者较差的预后相关,且在弥漫型胃癌中最为明显,具核梭形杆菌阳性的弥漫型胃癌患者预后总生存期更短^[42]。Salvucci M等^[43]将结肠癌

分成不同亚型,研究具核梭形杆菌以及梭菌目细菌与不同类型结肠癌患者预后的相关性,结果发现具有间质特征的亚型中,具核梭形杆菌以及梭菌目细菌与患者的预后较差相关;有报道指出具核梭形杆菌能够在结肠癌的肿瘤组织中定植^[15],经过化疗后复发的结肠癌患者肿瘤组织中具核梭形杆菌的含量更高,进一步研究发现具核梭形杆菌能够激活肿瘤细胞的耐药性,影响化疗疗效^[34],这为具核梭形杆菌与肿瘤预后较差的关系研究提供了一部分证据。具核梭形杆菌等瘤内细菌在肿瘤发生、发展、治疗中的作用仍需进一步研究。

3 总结与展望

鉴于瘤内细菌在肿瘤中普遍存在,对肿瘤的发生、发展产生影响,且与肿瘤的治疗效果存在关联,对肿瘤内的菌群进行干预,是潜在的辅助肿瘤治疗的手段。如Huang Y等^[38]发现与单独注射程序性死亡受体1(programmed death-1, PD-1)抑制剂治疗荷瘤小鼠相比,PD-1抑制剂联合巨型球菌灌胃能更有效地抑制肿瘤的生长;Geller LT等^[33]用抗肿瘤药物吉西他滨联合或不联合抗生素处理荷瘤小鼠,与不使用抗生素的小鼠相比,用抗生素处理的小鼠体内吉西他滨表现出更明显的抗肿瘤反应;Yu T等^[34]发现结肠癌肿瘤组织中的具核梭形杆菌能够开启细胞的自噬通路,促进肿瘤细胞的化疗耐药性,对具核梭形杆菌进行靶向干预能够减少肿瘤的耐药作用。因此,针对包括但不限于具核梭形杆菌的瘤内细菌进行相应干预,可能为恶性肿瘤患者的综合治疗提供帮助。

综上所述,作为肿瘤微环境的组成部分,细菌存在于不同类型的肿瘤组织中,且不同癌种的瘤内细菌组成不同。目前已有的研究揭示了一部分瘤内细菌影响宿主的分子机制,随着肿瘤内细菌对癌症的作用机制被不断揭示,未来瘤内细菌有望成为新的肿瘤治疗策略。

参考文献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71 (3): 209-249.
- [2] CAO W, CHEN H, YU Y, et al. Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: a secondary analysis of the global cancer statistics 2020 [J]. Chin Med J (Engl), 2021, 134 (7): 783-791.
- [3] SENDER R, FUCHS S, MILO R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body [J]. PLoS Biol, 2016, 14 (8): e1002533.
- [4] ALMEIDA A, MITCHELL A L, BOLAND M, et al. A new genomic blueprint of the human gut microbiota [J]. Nature, 2019, 568 (7753): 499-504.

- [5] CHENG W, WU C, YU J. The role of gut microbiota in cancer treatment: friend or foe? [J]. *Gut*, 2020, 69 (10): 1867–1876.
- [6] ZHANG J, CHEN X, ZOU J, et al. MADET: a Manually Curated Knowledge Base for Microbiomic Effects on Efficacy and Toxicity of Anticancer Treatments [J]. *Microbiol Spectr*, 2022, 10 (6): e0211622.
- [7] HUANG J, LIU W, KANG W, et al. Effects of microbiota on anticancer drugs: Current knowledge and potential applications [J]. *EBioMedicine*, 2022, 83: 104197.
- [8] 龙双嫣, 魏素菊. 双歧杆菌调节免疫治疗的研究进展 [J/CD]. *消化肿瘤杂志(电子版)*, 2021, 13 (2): 144–147.
- [9] HUANG J, ZHENG X, KANG W, et al. Metagenomic and metabolomic analyses reveal synergistic effects of fecal microbiota transplantation and anti-PD-1 therapy on treating colorectal cancer [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 874922.
- [10] BAGHBAN R, ROSHANGAR L, JAHANBAN-ESFAHLAN R, et al. Tumor microenvironment complexity and therapeutic implications at a glance [J]. *Cell Commun Signal*, 2020, 18 (1): 59.
- [11] SEPICH-POORE GD, ZITVOGEL L, STRAUSSMAN R, et al. The microbiome and human cancer [J]. *Science*, 2021, 371 (6536): eabc4552.
- [12] CIERNIKOVA S, SEVCIKOVA A, STEVURKOVA V, et al. Tumor microbiome – an integral part of the tumor microenvironment [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 1063100.
- [13] NEJMAN D, LIVYATAN I, FUKS G, et al. The human tumor microbiome is composed of tumor type-specific intracellular bacteria [J]. *Science*, 2020, 368 (6494): 973–980.
- [14] QIAO H, TAN X, LI H, et al. Association of Intratumoral Microbiota With Prognosis in Patients With Nasopharyngeal Carcinoma From 2 Hospitals in China [J]. *JAMA Oncol*, 2022, 8 (9): 1301–1309.
- [15] ABED J, EMGÅRD JE, ZAMIR G, et al. Fap2 Mediates *Fusobacterium nucleatum* Colorectal Adenocarcinoma Enrichment by Binding to Tumor-Expressed Gal-GalNAc [J]. *Cell Host Microbe*, 2016, 20 (2): 215–255.
- [16] 洗博鸿, 位俊敏, 乔贵宾, 等. 食管鳞状细胞癌肿瘤组织内菌群检测及特征分析 [J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2022, 43 (3): 480–487.
- [17] THOMPSON KJ, INGLE JN, TANG X, et al. A comprehensive analysis of breast cancer microbiota and host gene expression [J]. *PLoS One*, 2017, 12 (11): e0188873.
- [18] WONG-ROLLE A, DONG Q, ZHU Y, et al. Spatial meta-transcriptomics reveal associations of intratumor bacteria burden with lung cancer cells showing a distinct oncogenic signature [J]. *J Immunother Cancer*, 2022, 10 (7): e004698.
- [19] GALEANO NIÑO JL, WU H, LACOURSE KD, et al. Effect of the intratumoral microbiota on spatial and cellular heterogeneity in cancer [J]. *Nature*, 2022, 611 (7937): 810–817.
- [20] CUMMINS J, TANGNEY M. Bacteria and tumours: causative agents or opportunistic inhabitants? [J]. *Infect Agent Cancer*, 2013, 8 (1): 11.
- [21] XIE Y, XIE F, ZHOU X, et al. Microbiota in Tumors: From Understanding to Application [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2022, 9 (21): e2200470.
- [22] LIU W, ZHANG X, XU H, et al. Microbial Community Heterogeneity Within Colorectal Neoplasia and its Correlation With Colorectal Carcinogenesis [J]. *Gastroenterology*, 2021, 160 (7): 2395–2408.
- [23] ABATE M, VOS E, GONEN M, et al. A Novel Microbiome Signature in Gastric Cancer: A Two Independent Cohort Retrospective Analysis [J]. *Ann Surg*, 2022, 276 (4): 605–615.
- [24] 商燕燕, 李滢, 谢新强, 等. 益生菌抑制幽门螺杆菌的作用机制及研究进展 [J]. *微生物学报*, 2022, 62 (11): 4336–4352.
- [25] 王小群, 王春飞, 方素芬. 多种幽门螺杆菌检测方法之间的比较及其临床意义 [J/CD]. *消化肿瘤杂志(电子版)*, 2022, 14 (3): 352–355.
- [26] GUO W, ZHANG Y, GUO S, et al. Tumor microbiome contributes to an aggressive phenotype in the basal-like subtype of pancreatic cancer [J]. *Commun Biol*, 2021, 4 (1): 1019.
- [27] HE Y, ZHANG Q, YU X, et al. Overview of microbial profiles in human hepatocellular carcinoma and adjacent nontumor tissues [J]. *J Transl Med*, 2023, 21 (1): 68.
- [28] FU A, YAO B, DONG T, et al. Tumor-resident intracellular microbiota promotes metastatic colonization in breast cancer [J]. *Cell*, 2022, 185 (8): 1356–1372.e26.
- [29] BERTOCCHI A, CARLONI S, RAVENDA PS, et al. Gut vascular barrier impairment leads to intestinal bacteria dissemination and colorectal cancer metastasis to liver [J]. *Cancer Cell*, 2021, 39 (5): 708–724.e11.
- [30] SPRANGER S, BAO R, GAJEWSKI TF. Melanoma-intrinsic β -catenin signalling prevents anti-tumour immunity [J]. *Nature*, 2015, 523 (7559): 231–235.
- [31] PLEGUEZUELOS-MANZANO C, PUSCHHOF J, ROSENDAHL HUBER A, et al. Mutational signature in colorectal cancer caused by genotoxic pks (+) *E. coli* [J]. *Nature*, 2020, 580 (7802): 269–273.
- [32] DZIUBAŃSKA-KUSIBAB PJ, BERGER H, BATTISTINI F, et al. Colibactin DNA-damage signature indicates mutational impact in colorectal cancer [J]. *Nat Med*, 2020, 26 (7): 1063–1069.
- [33] GELLER L T, BARZILY-ROKNI M, DANINO T, et al. Potential role of intratumor bacteria in mediating tumor resistance to the chemotherapeutic drug gemcitabine [J]. *Science*, 2017, 357 (6356): 1156–1160.
- [34] YU T, GUO F, YU Y, et al. *Fusobacterium nucleatum* Promotes Chemoresistance to Colorectal Cancer by Modulating Autophagy [J]. *Cell*, 2017, 170 (3): 548–563.e16.
- [35] SITTHIRAK S, SUKSAWAT M, PHETCHARABURANIN J, et al. Chemotherapeutic resistant cholangiocarcinoma displayed

- distinct intratumoral microbial composition and metabolic profiles[J]. PeerJ, 2022, 10: e13876.
- [36] NGUYEN PH, TOUCHEFEU Y, DURAND T, et al. Acetylcholine induces stem cell properties of gastric cancer cells of diffuse type [J]. Tumour Biol, 2018, 40 (9): 1010428318799028.
- [37] KAWAI A, MATSUMOTO H, ENDOU Y, et al. Repeated Combined Chemotherapy with Cisplatin Lowers Carnitine Levels in Gastric Cancer Patients[J]. Ann Nutr Metab, 2017, 71 (3-4): 261-265.
- [38] HUANG Y, ZHU N, ZHENG X, et al. Intratumor Microbiome Analysis Identifies Positive Association Between Megasphaera and Survival of Chinese Patients With Pancreatic Ductal Adenocarcinomas[J]. Front Immunol, 2022, 13: 785422.
- [39] RIQUELME E, ZHANG Y, ZHANG L, et al. Tumor Microbiome Diversity and Composition Influence Pancreatic Cancer Outcomes[J]. Cell, 2019, 178 (4): 795-806.e12.
- [40] HILMI M, NEUZILLET C, LEFÈVRE JH, et al. Prognostic Value of Fusobacterium nucleatum after Abdominoperineal Resection for Anal Squamous Cell Carcinoma [J]. Cancers (Basel), 2022, 14 (7): 1606.
- [41] YAMAMURA K, IZUMI D, KANDIMALLA R, et al. Intratumoral Fusobacterium Nucleatum Levels Predict Therapeutic Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Esophageal Squamous Cell Carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2019, 25 (20): 6170-6179.
- [42] BOEHM ET, THON C, KUPCINSKAS J, et al. Fusobacterium nucleatum is associated with worse prognosis in Lauren's diffuse type gastric cancer patients[J]. Sci Rep, 2020, 10 (1): 16240.
- [43] SALVUCCI M, CRAWFORD N, STOTT K, et al. Patients with mesenchymal tumours and high Fusobacteriales prevalence have worse prognosis in colorectal cancer (CRC) [J]. Gut, 2022, 71 (8): 1600-1612.