

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.24.011

维生素 D 对肠道菌群结构及结直肠癌发病风险的影响*

杨 宾¹, 梁 飞¹, 董 明², 杨得振², 王亚娟¹

1. 陕西省咸阳市泾阳县医院普通外科, 陕西咸阳 713700; 2. 陕西中医药大学附属医院肿瘤外科, 陕西咸阳 712000

摘 要:目的 探讨维生素 D 对肠道菌群结构及结直肠癌的发病风险的影响。方法 选择清洁级健康雄性 Wistar 大鼠 45 只, 将大鼠随机分为 3 组, 每组 15 只。对照组大鼠正常饲养, 模型组、干预组大鼠建立结直肠癌动物实验模型后, 模型组大鼠给予生理盐水灌胃, 干预组给予维生素 D 灌胃。分别在 2、4、6、10 周时检测大鼠体重变化, 比较 3 组大鼠结直肠成瘤率及肿瘤数目, 粪便菌群及结直肠黏膜中菌落分布情况和 OTU 丰度变化, 以及结直肠癌相关微小 RNA(miRNA) 表达水平、波形蛋白(Vimentin) 表达水平。结果 从第 4 周开始, 模型组与干预组大鼠体重明显低于对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。模型组与干预组大鼠成瘤率均为 100%, 但模型组肿瘤数量 $[(7.68\pm1.89)$ 个] 明显高于干预组 $[(2.79\pm0.51)$ 个], 差异有统计学意义($t=9.675, P<0.001$)。与对照组相比, 模型组粪便菌群中拟杆菌门明显升高, 放线菌门、厚壁菌门明显降低($P<0.05$); 与模型组相比, 干预组拟杆菌门数量明显降低, 厚壁菌门数量明显升高($P<0.05$)。与对照组相比, 模型组结直肠黏膜菌群中放线菌门、拟杆菌门明显升高, 厚壁菌门、梭杆菌门明显降低($P<0.05$)。与对照组相比, 模型组粪便菌群及结直肠黏膜菌群 OTU 丰度明显升高($P<0.05$); 与模型组相比, 干预组粪便菌群及结直肠黏膜菌群 OTU 丰度明显降低($P<0.05$)。与对照组相比, 模型组大鼠结肠组织 miRNA-155、miRNA-21a 水平明显升高($P<0.05$); 与模型组相比, 干预组 miRNA-155 水平明显降低($P<0.05$)。与对照组相比, 模型组 Vimentin 水平明显升高($P<0.05$); 与模型组相比, 干预组 Vimentin 蛋白水平明显下降($P<0.05$)。结论 维生素 D 可能通过影响肠道菌群结构、降低 Vimentin 水平进而降低结直肠癌的发病风险。

关键词: 维生素 D; 肠道菌群结构; 结直肠癌; 发病风险

中图分类号: R604

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)24-3588-05

Effects of Vitamin D on the risk of colorectal cancer by affecting intestinal flora structure*

YANG Bin¹, LIANG Fei¹, DONG Ming², YANG Dezhen², WANG Yajuan¹

1. Department of General Surgery, Jingyang County Hospital, Xianyang, Shaanxi 713700, China; 2. Department of Oncology Surgery, Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi 712000, China

Abstract: **Objective** To analyze the effect of vitamin D on the risk of colorectal cancer by affecting intestinal flora structure. **Methods** Forty-five healthy male Wistar rats of clean grade were selected, and divided into three groups, 15 rats in each group. The rats in model group and intervention group were used to establish an experimental model of colorectal cancer. The rats in control group were given normal feeding, model group were given drinking water containing physiological saline solution, and intervention group were given vitamin D. Weight changes, colorectal tumorigenesis rate, number of tumors, distribution of faecal flora, colonies in colorectal mucosa and OTU abundance were measured at 2, 4, 6 and 10 weeks, respectively. The effects of vitamin D on the expression of colorectal cancer-related genes and the expression of Vimentin protein in colorectal tissues were also examined. **Results** From the 4th week, the body weight of the model group was significantly lower than that of the control group ($P<0.05$). The tumorigenesis rate of model group and intervention group was 100%, but the number of tumors in model group (7.68 ± 1.89) was significantly higher than that in intervention group (2.79 ± 0.51), difference was statistically significant ($t=9.675, P<0.001$). Compared with the control group, the number of Bacteroides in the model group were significantly higher, while Firmicutes and Actinomycetes were significantly lower ($P<0.05$). Compared with the model group, the number of

* 基金项目: 陕西省卫生健康科研基金项目(2018E018); 陕西省咸阳市科技成果推广计划项目(2018KT-43)。

作者简介: 杨宾, 男, 副主任医师, 主要从事普通外科方面的研究。

Bacteroides in the intervention group was significantly lower and the number of Firmicutes was significantly higher ($P < 0.05$). Compared with the control group, the number of Actinomycetes and Bacteroides in the model group was significantly higher while the number of Firmicutes and Fusobacteria was significantly lower ($P < 0.05$). Compared with the control group, the OTU abundance of fecal flora and colonic mucosa flora in the model group was significantly higher ($P < 0.05$). Compared with the model group, the OTU abundance of fecal flora and colonic mucosa flora in the intervention group was significantly lower ($P < 0.05$). Compared with the control group, the levels of microRNA-155 and microRNA-21a in the colon tissue of the model group increased significantly ($P < 0.05$). Compared with the model group, the levels of microRNA-155 in the intervention group decreased significantly ($P < 0.05$). Compared with the control group, the level of Vimentin in the intervention group was significantly higher ($P < 0.05$). And the level of Vimentin in the model group was significantly lower than that of model group ($P < 0.05$). **Conclusion** Vitamin D may reduce the risk of colorectal cancer by affecting intestinal flora structure and reducing Vimentin protein level.

Key words: vitamin D; intestinal flora structure; colorectal cancer; risk of disease

结直肠癌又称大肠癌,主要发生在直肠及直肠与乙状结肠交界部位,是临床上常见的恶性肿瘤之一。据统计,结直肠癌病死率位于我国恶性肿瘤病死率的第 5 位^[1]。随着社会的发展,人们生活水平的提高,结直肠癌的发病率正呈逐年上升的趋势,对人们的生命健康产生了严重影响。结直肠癌的诊断常以临床症状为根据,但由于结直肠癌的早期症状与炎症性肠炎、慢性腹泻等疾病具有一定相似性,误诊率较高^[2]。结直肠癌的发病原因及发病机制尚不清楚,有研究认为,结直肠癌的发生、发展是环境因素和遗传因素共同作用的结果,肠道稳态、饮食结构等环境因素在结直肠癌的发生、发展中具有重要作用^[3]。肠道菌群及其代谢产物构成肠道微生态,是人体最复杂的系统之一^[4]。研究表明,肠道菌群失调与结直肠癌的发生、发展有密切关系,人体肠道内拥有多种共生微生物,统称肠道菌群,它们共同作用维持机体的各项功能^[5]。据报道,维生素 D 可能通过抑制结肠癌细胞增殖、促进癌细胞分化、诱导癌细胞凋亡等途径发挥对结直肠癌的保护作用^[6]。本研究主要分析维生素 D 对肠道菌群结构及结直肠癌发病风险的影响,旨在为结直肠癌的相关预防及治疗提供更多依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择清洁级健康雄性 Wistar 大鼠共 45 只为研究对象[上海睿太莫斯生物科技有限公司提供,生产许可证:SCXK(沪)2018-0001],体质量(215 ± 25)g。于温度(23 ± 1)℃,湿度 $56\% \pm 14\%$,光暗交替各 12 h 的环境下饲养,自由摄食、饮水。适应性喂养 2 周。按照随机数字表法将大鼠分为 3 组,每组 15 只。

1.2 仪器与试剂 离心机(湖南湘仪离心机仪器有限公司,型号:TGL16E);低温冰箱(厦门国仪科学仪器有限公司,型号:GYCX-650);烤箱(南京泰斯特实

验设备有限公司,型号: DGH-9023A);显微镜(上海光学仪器有限公司,型号:XSZ-480AT);切片机(广州维格斯生物科技有限公司,型号:M3050);磷酸盐缓冲液(上海赛默飞世尔科技有限公司);DAB 显色剂(上海嵎崑达实业有限公司,货号:CTS010);无水乙醇(国药集团化学试剂有限公司);DNA 提取试剂盒[中科瑞泰(北京)生物科技有限公司];2%琼脂糖凝胶(上海赛默飞世尔科技有限公司);FastPfu DNA 聚合酶(合肥吉象生物技术有限公司);AxyPre DNA 凝胶提取试剂盒(武汉默沙克生物科技有限公司);25-羟维生素 D 检测试剂盒(上海晶抗生物工程有限公司)。

1.3 方法 对照组大鼠正常饲养。模型组、干预组大鼠建立结直肠癌动物实验模型:大鼠适应性喂养 2 周后,给予大鼠腹腔注射氧化偶氮甲烷 7.5 mg/kg ,1 周后给予大鼠含 3%葡聚糖硫酸钠的饮用水,共 6 d,6 d 后换回正常饮用水。建模后,模型组大鼠给予生理盐水灌胃,干预组给予维生素 D 灌胃方法为换回正常饮用水的第 1 天给予大鼠 50 IU/g 维生素 D 灌胃,每周 2 次,直至处死。所有大鼠在腹腔注射氧化偶氮甲烷前、更换葡聚糖硫酸钠饮用水前、维生素 D 干预前以及处死前,均留取粪便标本,放入低温冰箱中保存待检。将大鼠处死后,分离大鼠结直肠癌组织及正常癌旁组织,放入液氮中保存。分别在 2、4、6、10 周时检测大鼠体质量变化。采用 Illumina Miseq 平台 PE300 宏基因组测序方法检测 V3~V4 区的序列变异和丰度,分析粪便标本的细菌分类及丰度、种群结构及群落等信息。采用荧光定量 PCR 检测法检测大鼠结直肠组织中波形蛋白(Vimentin)表达水平。

1.4 观察指标 (1)各组大鼠体质量变化;(2)各组大鼠结直肠癌发生率及肿瘤数目;(3)各组大鼠粪便菌群及结直肠黏膜中菌落分布情况及 OTU 丰度;(4)维生素 D 对结直肠癌相关微小 RNA(miRNA)表达影

响;(5)各组大鼠结直肠组织中 Vimentin 表达水平。

1.5 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件对数据进行统计学分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD- t 检验。非正态分布的计量资料采用中位数和四分位数间距[$M(P_{25}, P_{75})$]表示,组间比较采用秩和检验。计数资料采用百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组大鼠体质量变化 在第 2 周时,3 组大鼠体质量差异无统计学意义($P > 0.05$)。从第 4 周开始模型组与干预组大鼠体质量明显低于对照组,差异有统

计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 各组大鼠结直肠成瘤率及肿瘤数量比较 模型组与干预组大鼠成瘤率均为 100%,但模型组肿瘤数量[(7.68±1.89)个]明显高于干预组[(2.79±0.51)个],差异有统计学意义($t = 9.675, P < 0.001$)。

2.3 3 组大鼠粪便菌群及结直肠黏膜中菌落分布情况比较 结果显示,与对照组相比,模型组粪便菌群中拟杆菌门明显升高,放线菌门、厚壁菌门明显降低($P < 0.05$);与模型组相比,干预组拟杆菌门数量明显降低,厚壁菌门数量明显升高($P < 0.05$)。与对照组相比,模型组结直肠黏膜菌群中放线菌门、拟杆菌门明显升高,梭杆菌门、厚壁菌门明显降低($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 3 组大鼠体质量变化(g, $\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	2 周	4 周	6 周	8 周	10 周
对照组	15	22.46±2.17	23.56±1.59	25.24±2.03	27.49±2.35	31.76±2.67
模型组	15	21.89±1.68	16.54±1.76 [*]	17.74±1.98 [*]	19.52±1.99 [*]	21.71±2.14 [*]
干预组	15	23.02±2.33	17.28±1.69 [*]	19.57±2.01 ^{*#}	21.94±2.55 ^{*#}	24.26±1.89 ^{*#}
<i>F</i>		1.110	78.931	56.962	47.001	80.373
<i>P</i>		0.339	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^{*} $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$

表 2 3 组大鼠粪便及结直肠黏膜中菌落分布情况比较

组别	放线菌门(%, $\bar{x} \pm s$)	拟杆菌门(%, $\bar{x} \pm s$)	厚壁菌门(%, $\bar{x} \pm s$)	梭杆菌门[%, $M(P_{25}, P_{75})$]
粪便菌群				
对照组	0.32±0.16	49.51±7.26	48.22±7.74	0.007(0.004,0.018)
模型组	0.16±0.11 [*]	54.57±4.88 [*]	40.57±5.14 [*]	0.003(0.002,0.008)
干预组	0.14±0.08	43.12±1.66 ^{*#}	53.79±4.21 ^{*#}	0.005(0.002,0.012)
结直肠黏膜菌群				
对照组	1.65±0.77	22.04±6.97	67.94±2.47	2.88(1.11,4.65)
模型组	3.64±1.73 [*]	28.48±4.47 [*]	62.25±5.39 [*]	1.73(1.29,4.75) [*]
干预组	3.57±1.22	24.62±7.69	66.28±2.75	2.04(0.11,3.97)

注:与对照组比较,^{*} $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$

2.4 各组大鼠粪便菌群及结直肠黏膜中菌群 OTU 丰度比较 与对照组相比,模型组粪便菌群及结直肠黏膜菌群 OTU 丰度明显升高($P < 0.05$);与模型组相比,干预组粪便菌群及结直肠黏膜菌群 OTU 丰度明显降低($P < 0.05$)。且 3 组大鼠结直肠黏膜菌群 OTU 丰度明显低于粪便菌群。见表 3。

表 3 3 组大鼠粪便菌群及结直肠黏膜中菌群 OTU 丰度比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	粪便菌群	结直肠黏膜菌群
对照组	15	68 485.77±4 958.23	61 502.11±5 422.87
模型组	15	78 833.26±8 568.88 [*]	51 865.67±15 711.76 [*]

续表 3 3 组大鼠粪便菌群及结直肠黏膜中菌群 OTU 丰度比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	粪便菌群	结直肠黏膜菌群
干预组	15	74 178.51±5 352.24 ^{*#}	38 648.66±13 825.89 ^{*#}
<i>F</i>		11.442	12.668
<i>P</i>		<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^{*} $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$

2.5 3 组大鼠结直肠组织中 miRNA 表达的比较 与对照组相比,模型组大鼠结肠组织 miRNA-155、miRNA-21a 水平明显升高($P < 0.05$),两组 miRNA-126 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);与模型

组相比,干预组 miRNA-155 水平明显降低($P<0.05$)。见表 4。

表 4 3 组大鼠结直肠组织中 miRNA 表达的比较($\bar{x}\pm s$)				
组别	<i>n</i>	miRNA-126	miRNA-155	miRNA-21a
对照组	15	0.62±0.17	1.02±0.06	1.24±1.02
模型组	15	1.24±1.78	4.28±1.35 [*]	28.74±3.16 [*]
干预组	15	0.47±0.11	1.69±1.18 ^{*#}	25.48±8.66 [*]
<i>F</i>		2.343	49.522	121.916
<i>P</i>		0.109	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$

2.6 3 组大鼠结直肠组织中 Vimentin 水平 与对照组相比,模型组 Vimentin 水平明显升高($P<0.05$);与模型组相比,干预组 Vimentin 水平明显降低($P<0.05$)。见表 5。

表 5 3 组大鼠结直肠组织中 Vimentin 表达水平		
组别	<i>n</i>	Vimentin 水平($\bar{x}\pm s$)
对照组	15	1.04±0.52
模型组	15	4.26±1.74 [*]
干预组	15	2.16±1.49 ^{*#}
<i>F</i>		21.793
<i>P</i>		<0.001

注:与对照组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$

3 讨 论

结直肠癌是常见的消化道恶性肿瘤,包括结肠癌及直肠癌,其发病率占胃肠道肿瘤的第 2 位。根据相关资料显示,在我国,结直肠癌的发病率位于恶性肿瘤的第 5 位,且发病率呈逐年上升的趋势^[7]。肠道菌群失调、饮食结构的改变等是结直肠癌发生、发展的重要因素^[8]。

肠道菌群及其代谢产物构成了人体最复杂的肠道微生态系统之一。在正常情况下,肠道菌群与宿主保持相对稳定的状态,对抵抗病原体入侵,促进和维持正常的免疫功能发挥重要作用^[9]。人类肠道菌群具有多样性、稳定性和重复性的特点。当肠道微生物系统的平衡被打破时,肠道菌群出现紊乱,会引起内分泌系统、神经系统、消化系统疾病^[10]。有研究报道,维生素 D 在结直肠癌的发生、发展中具有重要的保护作用,但其对肠道菌群结构及结直肠癌发病风险的影响尚不明确^[11]。

维生素 D 是一种固醇类衍生物,可以与细胞核中的维生素 D 受体结合,具有调节免疫功能及抑癌作用^[12]。SHUWEN 等^[13] 在大鼠的研究中发现,结直肠癌组织中维生素 D 受体水平明显降低,25-羟维生素 D 缺乏会导致大鼠肠道菌群失调,进而增加肠道损伤的易感性。

本研究采用 Illumina Miseq 平台对对照组、模型组及干预组大鼠的粪便标本及结直肠黏膜组织 16s rDNA 基因的 V3~V4 区进行检测,结果发现拟杆菌门和厚壁菌门在其中占主要地位。结直肠黏膜菌群 OTU 丰度明显低于粪便菌群($P<0.05$)。同时,本研究显示,与对照组相比,模型组粪便菌群中拟杆菌门明显升高,放线菌门、厚壁菌门明显降低($P<0.05$);与模型组相比,干预组拟杆菌门数量明显降低,厚壁菌门数量明显升高($P<0.05$)。说明维生素 D 能够明显降低拟杆菌门比例,与国外研究报道结果相似^[14]。

miRNA 是在真核生物中发现的一类内源性具有调控功能的非编码 RNA,与细胞代谢、免疫反应、炎症甚至肿瘤的发生、发展关系密切^[15]。本研究显示,与对照组相比,模型组大鼠结直肠组织中 miRNA-155、miRNA-21a 水平明显升高($P<0.05$);与模型组相比,干预组 miRNA-155 水平明显降低($P<0.05$)。提示,维生素 D 可能通过抑制 miRNA-155 水平来抑制结直肠癌的发生。

Vimentin 是一种中间纤维蛋白,它能够提供微管及肌动蛋白所没有的弹性,可维持细胞骨架的完整性。NGAN 等^[16] 研究报道,Vimentin 表达水平的升高与宫颈癌、前列腺癌及结直肠癌等恶性肿瘤的临床分期等具有一定相关性,是上皮细胞间质化的标志性蛋白。本研究显示,与对照组相比,模型组 Vimentin 水平明显升高($P<0.05$);与模型组相比,干预组 Vimentin 水平明显下降($P<0.05$)。提示维生素 D 可能通过降低 Vimentin 水平来抑制结直肠癌的发展。

综上所述,维生素 D 能够明显降低肠道菌群数比例,可能通过抑制 miRNA-155 及 Vimentin 水平的表达进而抑制结直肠癌的发生和发展。

参考文献

[1] SIEGEL R L,MILLER K D,FEDEWA S A,et al. Colorectal cancer statistics,2017[J]. CA Cancer J Clin,2017,67 (3):104-117.

[2] GUINNEY J,DIENTSMANN R,WANG X,et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer[J]. Nat Med,2015,21(11):1350-1356.

[3] 茅红燕,赵琼兰. 结直肠癌患者手术部位感染及其影响因素的研究进展[J]. 中国实用护理杂志,2017,33(27): 2154-2157.

[4] ARNOLD M,SIERRA M S,LAVERSANNE M A,et al. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality[J]. Gut,2017,66(4):683-691.

[5] 常芳,许喜喜,潘建芬. 结直肠癌患者 TNM 分期的影响因素分析[J]. 中国药物与临床,2017,17(12):1830-1832.

[6] TAKESHIGE N,YIN G,OHNAKA K,(下转第 3595 页)

参考文献

[1] 《手足口病诊疗指南(2018 版)》编写专家委员会. 手足口病诊疗指南(2018 年版)[J]. 中华传染病杂志, 2018, 36(5): 257-263.

[2] 中华人民共和国卫生部. 手足口病诊疗指南(2010 年版)[J]. 国际呼吸杂志, 2010, 30(24): 1473-1475.

[3] 卫生部手足口病临床专家组. 肠道病毒 71 型(EV71)感染重症病例临床救治专家共识[J]. 中华儿科杂志, 2011, 49(9): 675-678.

[4] 蒋立立, 关绍山. 2010—2016 年桂林市手足口病患者肠道病毒检测结果分析[J]. 应用预防医学, 2018, 24(5): 392-394.

[5] 余钧池, 黄萍, 陈柳军. 2013—2016 年柳州市手足口病病原监测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(17): 2377-2379.

[6] 黄威, 陈雨, 罗恺炜, 等. 湖南省 2008—2017 年手足口病病原学与流行特征分析[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2019, 33(1): 16-20.

[7] 刘文俊, 吴倩, 周乐, 等. 扬州市 2014—2017 年手足口病病原学监测结果[J]. 江苏预防医学, 2019, 30(1): 82-83.

[8] 潘蕊, 林书祥, 舒剑波, 等. 2016 年天津手足口病住院患儿的病原构成与分子分型[J]. 中华检验医学杂志, 2017, 40(5): 367-371.

[9] YOSHITOMI H, ASHIZUKA Y, ICHIHARA S, et al. Molecular epidemiology of coxsackievirus A6 derived

from hand, foot, and mouth disease in Fukuoka between 2013 and 2017[J]. Med Virol 2018, 90(11): 1712-1719.

[10] 李婕, 马江涛, 刘俐, 等. 2016—2017 年宁夏手足口病的病原构成及流行的 EV-A71 和 CV-A16 基因特征分析[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2019, 33(1): 10-15.

[11] 王子江, 王伶, 于伟, 等. 辽宁省 2008—2017 年手足口病流行病学特征及病原学监测分析[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2019, 33(1): 6-9.

[12] 王笑笑, 蔡剑, 韩桃利, 等. 2009—2017 年浙江省手足口病流行病学特征及病原学监测分析[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2019, 33(1): 1-5.

[13] 杨坤祥, 陈剑虹, 贺海林, 等. 2014—2016 年惠州市手足口病住院患儿流行病学研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2018, 10(1): 25-29.

[14] 詹鑫婕, 农皓, 裴建新, 等. 2015—2017 年南宁市手足口病病原学监测结果分析[J]. 现代预防医学, 2019, 46(3): 547-551.

[15] 葛鸿科, 覃敏兰, 谢镇. 2009—2017 年梧州市手足口病流行病学特征及时空聚集性分析[J]. 现代预防医学, 2019, 46(1): 17-20.

[16] CHEN L, YAO X J, XU S J, et al. Molecular surveillance of coxsackievirus A16 reveals the emergence of a new clade in mainland China[J]. Arch Virol, 2018, 164(3): 867-874.

(收稿日期: 2019-02-10 修回日期: 2019-05-02)

(上接第 3591 页)

et al. Associations between Vitamin D Receptor (VDR) Gene Polymorphisms and Colorectal Cancer Risk and Effect Modifications of Dietary Calcium and Vitamin D in a Japanese Population[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(5): 2019-2026.

[7] 林绪涛, 范德军, 何晓生, 等. 结直肠癌预后相关分子生物学指标研究现状[J]. 中国实用外科杂志, 2014, 34(9): 890-894.

[8] WATANABE T, ITABASHI M, SHIMADA Y, et al. Japanese society for cancer of the colon and rectum (JSC-CR) guidelines 2010 for the treatment of colorectal cancer[J]. Int J Clin Oncol, 2012, 17(1): 1-29.

[9] 花蕾, 敬兆飞, 靳家扬, 等. 肠道菌群调控炎症微环境在结肠癌中的作用及机制研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2017, 33(4): 625-629.

[10] 秧茂盛, 周密. 肠道菌群微环境与结直肠癌的关系研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2016, 24(36): 4759-4763.

[11] LIN M, ZENG C X, JIA X Q, et al. The composition and structure of the intestinal microflora of *Anguilla marmorata* at different growth rates: a deep sequencing study[J]. J Appl Microbiol, 2019, 126(5): 1340-1352.

[12] ZHENG Y, LUO Y, LV Y X, et al. Clostridium difficile colonization in preoperative colorectal cancer patients[J]. Oncotarget, 2017, 8(7): 11877-11886.

[13] SHUWEN H, JIANLAN G, QING Z, et al. Role of intestinal flora in colorectal cancer from the metabolite perspective: a systematic review[J]. Cancer Manag Res, 2018, 10: 199-206.

[14] LI Y, ZHANG X, WANG L, et al. Distribution and gene mutation of enteric flora carrying β -glucuronidase among patients with colorectal cancer[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(4): 5310-5316.

[15] SLATTERY M L, HERRICK J S, MULLANY L E, et al. An evaluation and replication of miRNAs with disease stage and colorectal cancer-specific mortality[J]. Int J Cancer, 2015, 137(2): 428-438.

[16] NGAN C Y, YAMAMOTO H, SESHIMO I, et al. Quantitative evaluation of vimentin expression in tumour stroma of colorectal cancer[J]. Br J Cancer, 2007, 96(6): 986-992.

(收稿日期: 2019-03-18 修回日期: 2019-08-10)