

具核梭杆菌小分子抑制剂的筛选及其抗结直肠癌活性研究

白学鑫, 陈玉平, 盛春泉, 武善超

Screening and anti-colorectal activity of small molecule inhibitors of *Fusobacterium nucleatum*

BAI Xuexin, CHEN Yuping, SHENG Chunquan, WU Shanchao

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202405009>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于表面等离子体共振技术筛选STAT3小分子抑制剂的研究

Screening small molecular inhibitors of STAT3 based on surface plasmon resonance technology

药学实践与服务. 2021, 39(6): 515-519, 537 DOI: [10.12206/j.issn.1006-0111.202105137](https://doi.org/10.12206/j.issn.1006-0111.202105137)

增强紫杉醇对结直肠癌化疗疗效的研究进展

The research progress on the efficacy enhancement of paclitaxel in chemotherapy for colorectal cancer

药学实践与服务. 2020, 38(6): 501-505 DOI: [10.12206/j.issn.1006-0111.202007031](https://doi.org/10.12206/j.issn.1006-0111.202007031)

冠状病毒小分子抑制剂研究进展

Research progress on small molecule inhibitors of coronaviruses

药学实践与服务. 2020, 38(5): 385-397 DOI: [10.12206/j.issn.1006-0111.202005020](https://doi.org/10.12206/j.issn.1006-0111.202005020)

ZNF24基因过表达慢病毒载体的构建及其在人结直肠癌HCT116细胞中的表达

Construction and expression of lentiviral vector overexpressing ZNF24 gene in human colorectal cancer HCT116 cell

药学实践与服务. 2023, 41(4): 222-226 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202204040](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202204040)

小分子p53-MDM2抑制剂先导化合物苜蓿地尔的研究

Discovery of bepridil as a valuable lead compound with potent p53-MDM2 inhibitory activity

药学实践与服务. 2021, 39(2): 126-129 DOI: [10.12206/j.issn.1006-0111.202009031](https://doi.org/10.12206/j.issn.1006-0111.202009031)

不同途径注射肿瘤RNA纳米脂质体疫苗对结肠癌生长的影响

Effect of different injection approaches of tumor RNA nanoliposome vaccine on the growth of colon cancer

药学实践与服务. 2021, 39(6): 520-524, 556 DOI: [10.12206/j.issn.1006-0111.202108094](https://doi.org/10.12206/j.issn.1006-0111.202108094)



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 论著 ·

具核梭杆菌小分子抑制剂的筛选及其抗结直肠癌活性研究

白学鑫, 陈玉平, 盛春泉, 武善超 (海军军医大学药理学系药物化学教研室, 上海 200433)

[摘要] **目的** 基于市售化合物库的表型筛选获得抗具核梭杆菌(Fn)活性化合物, 评价其在 Fn 干预下的抗结直肠癌活性, 为新型抗结直肠癌药物研发提供先导化合物。**方法** 首先验证 Fn 促结直肠癌类器官增殖效应; 其次, 比较考察抗 Fn 化合物在 Fn 与结肠癌 HCT116 细胞共孵育下对其体外抗癌活性的影响; 最后, 评价高活性化合物对 Fn 灌胃干预下裸鼠结肠癌 HCT116 移植瘤的体内抗癌药效。**结果** Fn 可显著促进直肠癌类器官增殖; 9 个抗 Fn 化合物均能显著提升 Fn 与 HCT116 细胞共孵育下的体外抗癌活性, 其中甲氨蝶呤抗癌活性最强, IC₅₀ 达 0.03 μmol/L; 甲氨蝶呤(0.5 mg/kg)与 PD-1 (5.0 mg/kg)联用能显著抑制 Fn 灌胃干预下裸鼠人结肠癌 HCT116 移植瘤的生长, 抑瘤率达 67.46%, 抑瘤效果优于单药。**结论** Fn 小分子抑制剂甲氨蝶呤对有 Fn 干预的结直肠癌细胞和裸鼠移植瘤具有良好的体内外抗癌活性, 为后续结构优化打下基础, 并有望拓展甲氨蝶呤的新适应证。

[关键词] 具核梭杆菌; 表型筛选; 抗结肠癌; 类器官; 甲氨蝶呤

[文章编号] 2097-2024(2024)12-0503-05 **[DOI]** 10.12206/j.issn.2097-2024.202405009

Screening and anti-colorectal activity of small molecule inhibitors of *Fusobacterium nucleatum*

BAI Xuexin, CHEN Yuping, SHENG Chunquan, WU Shanchao (Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To screen small molecule inhibitors of *Fusobacterium nucleatum* (Fn) based on commercially available compound libraries, and investigate their anti-colorectal cancer activities under Fn intervention in order to obtain novel anti-colorectal cancer lead compounds. **Methods** The promotion of colorectal cancer proliferation on organoid was validated by Fn. Secondly, the effects of anti-Fn compounds on their *in vitro* anticancer activity under Fn's co-incubation with colorectal cancer HCT116 cell were comparative investigated. Finally, *in vivo* anticancer efficacy of highly active compounds on nude mouse colon cancer HCT116 transplanted tumor under the intervention of Fn was evaluated by gavage. **Results** Fn could significantly promote the proliferation of rectal cancer organoids. 9 anti-Fn active compounds could significantly enhance their *in vitro* anticancer activity under Fn's co-incubation with HCT116 cells. Methotrexate had the strongest anti-cancer activity with IC₅₀ as 0.03 μmol/L. The combined use of methotrexate (0.5 mg/kg) and PD-1 (5.0 mg/kg) had a stronger anti-tumor effect than their standalone use. **Conclusion** As new small molecule inhibitor of Fn, methotrexate exhibited good *in vitro* and *in vivo* anti-colorectal cancer activity against HCT116 cells and nude mouse xenografts under Fn intervention, which showed the foundation for subsequent structural optimization, and could be expected to expand the new indications of methotrexate.

[Key words] *Fusobacterium nucleatum*; phenotypic screening; anti-CRC; organoids; methotrexate

结直肠癌(CRC)是最常见的消化道恶性肿瘤, 在中国的发病率仅次于肺癌, 且呈逐年升高的趋势^[1]。结直肠癌的发病机制具有多因素、多阶段、多基因突变等特点^[2-3]。结直肠癌早期发现的概率低, 多数

患者出现明显症状后才被确诊, 此时手术通常已无法完全控制肿瘤进展, 需化疗控制病情^[4]。结直肠癌患者最常用的化疗药物为奥沙利铂和五氟尿嘧啶(5-FU), 分别是 DNA 合成抑制剂和胸苷酸合成酶抑制剂, 影响细胞 DNA 复制和转录, 最终导致细胞死亡^[5-7]。近年来, 复发或难治性结直肠癌患者数量逐渐升高, 对多数化疗药无应答, 其 5 年生存率低于 10%^[8-9]。结直肠癌患者耐药情况越来越严重, 解决耐药问题的首要条件为阐明结直肠癌患者化疗耐药的机制。

随着人们对肠道微生物研究的深入, 已明确表

[基金项目] 国家自然科学基金(22377145, 22077138); 国家重点研发计划(2020YFA0509204); 上海市青年科技启明星项目(22QA1411300)

[作者简介] 白学鑫, 硕士, Email: baixuexin2021@163.com

[通信作者] 盛春泉, 教授, 研究方向: 药物化学, Email: shengcq@smmu.edu.cn; 武善超, 教授, 研究方向: 药物化学, Email: wushanchao_07_2@126.com

明其与多种肠道疾病相关,其中具核梭杆菌(Fn)与结直肠癌发生、发展的关系研究最透彻^[10-13]。在口腔、胃肠道、呼吸道等环境内均明确发现 Fn,是一种专性厌氧性、G⁻菌,可黏附、侵入细胞,获得适合生存的环境^[14-16]。Fn 可以产生毒力因子、提升白介素 17(IL-17)和肿瘤坏死因子(TNF)等促炎因子水平、抑制自然杀伤细胞的细胞毒活性、招募肿瘤浸润性骨髓细胞等,促进肿瘤发生、发展和耐药机制的产生^[11-13, 17-19]。例如,Fn 促进了 CRC 的进展,并使奥沙利铂和 5-FU 化疗耐药^[20]。因此,解决 Fn 高富集后促进 CRC 进展并产生化疗耐药的问题,有望提升结直肠癌患者化疗的有效率。

本研究首先在类器官层面验证 Fn 促结直肠癌增殖作用,其次比较考察前期筛选获得的抗 Fn 化合物在 Fn 与结肠癌 HCT116 细胞共孵育条件下对其体外抗癌活性的影响,最后优选高活性化合物开展其对 Fn 灌胃干预下裸鼠结肠癌 HCT116 移植瘤抗癌药效评价,为新型抗结直肠癌药物研发提供先导化合物。

1 材料和方法

1.1 实验材料

基于市售化合物库(上海陶术生物科技有限公司)中 5073 个化合物针对 Fn 的表型筛选结果,选择 9 个不同结构类型、不同作用机制、不同活性的化合物作为本研究的实验材料;鼠源 PD-1(程序性死亡受体 1)抗体(武汉艾美捷科技有限公司);布氏肉汤、脑心浸出液(BHI)肉汤(美国 BD 公司);结直肠癌类器官基础培养基、培养基补充液 B、培养基补充液 C、类器官培养型基质胶、肿瘤组织消化液和红细胞裂解液(伯桢生物科技公司);直肠癌组织(海军军医大学第一附属医院肛肠科);DMEM 培养基、CCK-8 检测试剂盒、胎牛血清(上海翌圣生物科技股份有限公司);人结直肠癌细胞 HCT116(上海中国科学院细胞中心);具核梭杆菌(ATCC 23726,美国模式菌种收集中心);裸鼠(上海吉辉实验动物饲养有限公司);xCELLigence RTCA DP 实时无标记细胞分析仪(安捷伦科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 Fn 促结直肠癌类器官增殖测定

①实验前准备:首先,配置完全培养基(结直肠癌类器官基础培养基:培养基补充 B:培养基补充 C=976:20:4);其次,将-20℃ 保存的类器官基质胶放置于 4℃ 融化(室温下不超过 30 s);最后,将

肿瘤组织消化液置于 37℃ 的水浴锅内预热。②组织收集与处理:直肠癌组织用类器官基础培养基清洗 2 遍,置于盛有 PBS 的无菌培养皿中,无菌剪刀剪碎组织至直径小于 1 mm,然后用适量的肿瘤组织消化液重悬,并转移至离心管内,于 37℃、100 r/min 的恒温振荡培养箱中消化 30 min,在消化完成的组织悬液中加入胎牛血清(FBS)至终浓度达 1%~5%,减缓消化作用,同时轻轻吹打 5~10 次。③筛选细胞:用 100 μm 细胞过滤器过滤组织悬液,将穿过的滤液转移至离心管中,450 r/min 离心 3 min,吸去上清液。④细胞收集:用类器官基础培养基清洗细胞 2 次,加入红细胞裂解液裂解 1 min,300 r/min 离心 3 min,吸去上清液。⑤3D 培养板细胞接种:按每孔 2×10^3 个细胞用 20 μl 基质胶于冰浴条件下混匀,然后用移液器将基质胶和细胞的混合液移至细胞培养 24 孔板底部中央位置,于 37℃、5% CO₂ 细胞培养箱中孵育 15 min。⑥加液培养:待培养 24 孔板基质胶凝固至不再流动后,沿孔壁缓缓加入完全培养基,于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养。⑦加 Fn 菌液:培养 72 h 后,观察类器官成型且稳定,采用完全培养基重悬 Fn 使其浓度分别为 1×10^8 CFU/ml 和 1×10^4 CFU/ml,加入 24 孔板中,同时不同孔中加入同体积 PBS。⑧观察:每天在同一视野、同一放大倍数下分别对 PBS、浓度为 1×10^4 CFU/ml 和 1×10^8 CFU/ml 的 Fn 作用下的直肠癌类器官进行拍照记录,观察类器官生长变化,共 4 d。

1.2.2 抗 Fn 化合物对结肠癌 HCT116 细胞的抗增殖活性测定

①细胞培养:用 8 ml 含 10% 胎牛血清和 1% 双抗的 DMEM 培养基培养 HCT116 细胞。待细胞生长至 90% 左右时,弃上清液,加入 2 ml PBS 清洗,2 ml 胰酶消化 1.0 min,加入 3 ml 含 10% 胎牛血清和 1% 双抗的 DMEM 培养基吹打均匀,1 000 r/min 离心 5 min 后,弃去上清液,加入 4 ml 含 10% 胎牛血清和 1% 双抗的 DMEM 培养基再次吹打均匀,取 10 μl 细胞悬液稀释 10 倍至 100 μl,置于细胞计数板上计数。②细胞铺板:将 HCT116 细胞按照浓度为每孔 7×10^3 个/ml 加 100 μl 于 96 孔板中,37℃、5% CO₂ 细胞培养箱中孵育 12 h。③受试药物与细胞或与细胞和 Fn 共孵育:吸出培养基,每孔加入 100 μl 不同浓度的受试化合物,将生长良好的 Fn 培养液用 4 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,加入无胎牛血清、无双抗的 DMEM 培养基混匀,比浊仪将菌的浓度调至 0.5 麦氏浊度 [$(1 \sim 2) \times 10^8$ CFU/ml]

制得 Fn 菌液, 然后再加入 100 μl 感染系数(MOI) 为 1 000 : 1 的上述 Fn 菌液或新鲜无胎牛血清和双抗的 DMEM 培养基, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 细胞培养箱中培养 72 h。④测定 IC_{50} : 吸出培养基, 加入 100 μl 浓度为 10% 的 CCK-8 溶液, 35 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 0.5 h, 在 450 nm 波长的条件下读取 A 值; 用 GraphPad Prism 7 软件拟合出受试药物对 HCT116 细胞或与 Fn 共孵育 HCT116 细胞的 IC_{50} 值。

1.2.3 抗 Fn 化合物对 HCT116 细胞的实时无标记数量测定

①HCT116 细胞培养和 Fn 菌液准备同“2.2”项。②按实时无标记细胞分析仪的规范操作程序完成名称、目的、分组、时长等输入。③以 50 μl 含 5% 胎牛血清、无双抗 DMEM 培养基进行基线矫正。④每孔加入 7×10^3 个/ml 的 HCT116 细胞, 在室温下放置 30 min 后, 放置于测试台中。⑤ 18 h 后暂停设备, 吸出培养基, 加入含 5% 胎牛血清、无双抗 DMEM 培养基的 Fn 菌液 100 μl , 使得 MOI=1 000 : 1, 加入浓度在最小抑菌浓度(MIC)上下的受试化合物 100 μl , 放入测试台中继续培养 72 h, 实时观察记录 HCT116 细胞数量变化。

1.2.4 抗 Fn 化合物对 Fn 灌胃干预下裸鼠结肠癌 HCT116 细胞移植瘤的抗癌药效评价

①裸鼠在动物房无操作下饲养 5 d, 然后在裸鼠饮用水中加入链霉素和克林霉素使其浓度分别为 5 g/L 和 0.1 g/L, 继续饲养 7 d 以清理裸鼠肠道微生物, 减少其他微生物对实验结果的影响。②以皮下注射方式, 接种浓度为 1.0×10^7 个/ml 的人源 HCT116 细胞。③待皮下肿瘤大小长至 50 mm^3 时, 将浓度为 1×10^8 CFU/ml(BHI 溶解)的 Fn 菌液灌胃, 每 2 d 给予 1 次, 500 μl /只, 共 4 次。④将荷瘤裸鼠随机分为 4 组, 对照组和 PD-1 组每组 5 只, 甲氨蝶呤组和联合用药组每组 3 只。对照组: 每 3 d 给予 Fn 灌胃 1 次; PD-1 组: 除每 3 d Fn 灌胃 1 次外, 另外给予鼠源 PD-1 抗体腹腔注射 100 μl , 首周 3 次, 次周 2 次, 每次给药剂量为 5 mg/kg; 受试药物组: 除每 3 d 给予 Fn 灌胃 1 次外, 再给予甲氨蝶呤灌胃 500 μl , 剂量为 0.5 mg/kg, 每天给药 1 次; 联合用药组: 采用同样的给药频率和剂量, 同时给予甲氨蝶呤和 PD-1 抗体。⑤裸鼠体质量和肿瘤体积监测: 每天监测荷瘤裸鼠体质量和皮下肿瘤体积变化, 观测 15 d 后断颈处死裸鼠。肿瘤体积计算公式为 $V=1/2 \times a \times b^2$, 式中 a 为肿瘤长径, b 为肿瘤短径。抑瘤率(%)=(对照组平均体积-实验组平均体积) / 对照组平均体积 $\times 100\%$ 。

1.3 统计学方法

实验处理及统计图表的绘制利用 GraphPad Prism 软件完成。符合正态分布计量资料用($\bar{x} \pm s$)描述, 进行方差分析或 t 检验, 计数资料采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为有统计学差异。

2 结果

2.1 Fn 促进直肠癌类器官增殖效应

连续 4 d 对 PBS 和不同浓度 Fn 干预下的固定位置直肠癌类器官生长情况的拍照观察结果显示, PBS 阴性对照组的直肠癌类器官随时间呈缓慢生长; 但是, 1×10^4 CFU/ml 浓度的 Fn 干预下的直肠癌类器官随时间呈急速生长, 且呈浓度依赖(图 1)。

2.2 抗 Fn 化合物的体外抗肿瘤活性

用 CCK-8 法分别比较测定了前期筛选获得的 9 个 MIC 达 2.0 ~ 32 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的抗 Fn 活性化合物对人结直肠癌 HCT116 细胞及在最优 MOI 条件下与 Fn 共孵育的人结直肠癌 HCT116 细胞的体外 IC_{50} , 结果显示, 9 个受试化合物均能显著提升 Fn 与结肠癌细胞共孵育条件下的体外抗肿瘤活性, 其中甲氨蝶呤提升幅度最大, 达 143 倍(表 1)。

通过实时无标记肿瘤细胞分析技术检测了优选抗 Fn 活性化合物甲氨蝶呤在 Fn 与 HCT116 细胞共孵育条件下对肿瘤细胞生长的影响, 实时检测结果显示, 甲氨蝶呤也能显著抑制 Fn 的促肿瘤细胞生长作用, 且呈浓度依赖性(图 2)。

综上所述, 优选甲氨蝶呤开展后续 Fn 灌胃干预下裸鼠人结肠癌 HCT116 移植瘤的体内抗癌药效评价。

2.3 优选化合物对 Fn 灌胃干预下裸鼠人结肠癌 HCT116 移植瘤的抗癌药效

在 Fn 灌胃干预下, 抗 Fn 优选化合物甲氨蝶呤(0.5 mg/kg) 以及 PD-1 抗体(5.0 mg/kg) 单独用药的抑瘤率分别为 11.39%、53.95%; 当甲氨蝶呤(0.5 mg/kg) 与 PD-1 抗体(5.0 mg/kg) 联用后, 其抑瘤率可显著提升至 67.46%(见图 3A)。给药组荷瘤裸鼠的体质量无显著变化, 与对照组相似(见图 3B)。

3 讨论

本文研究表明: ①Fn(1×10^4 CFU/ml) 可显著促进直肠癌类器官增殖, 且呈浓度依赖(图 1), 患者衍生的类器官模型表明, Fn 的高富集可促进直肠癌的发展, 加重病情, 严重威胁患者的生命安全, 由此可知, 在体内抑制 Fn 的复制、繁殖等可能会为患者带来好处。②9 个抗 Fn 活性化合物(MIC=2.0 ~ 32 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 均能显著提升与 Fn 共孵育结肠癌

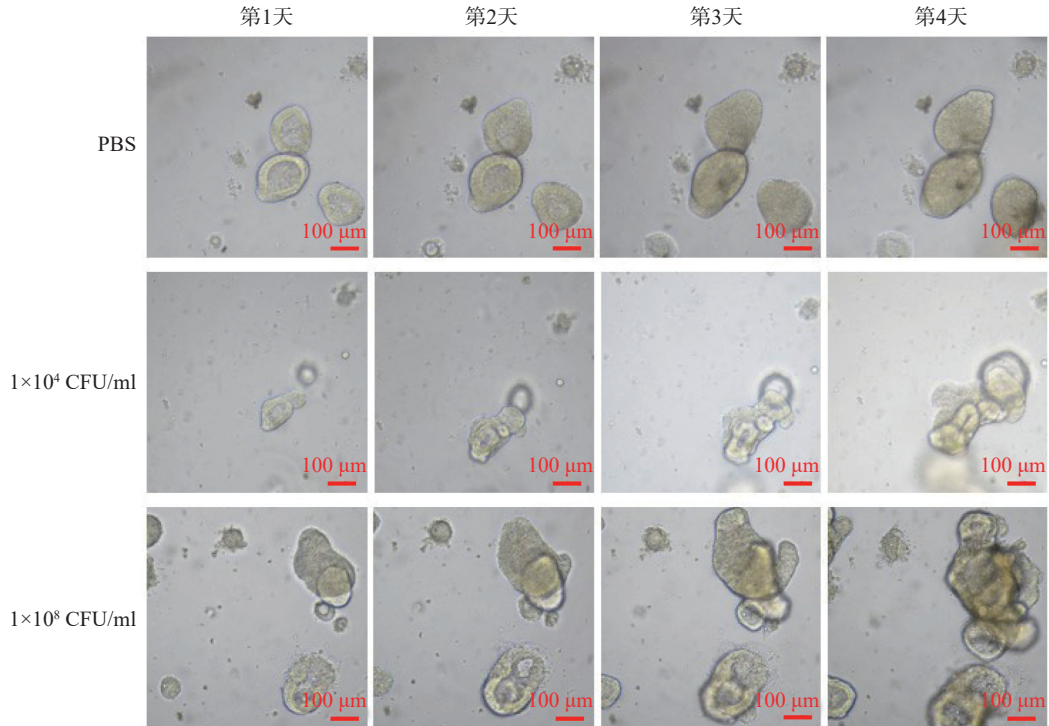


图1 Fn促进直肠癌细胞增殖效应

表1 Fn对抗Fn化合物(MIC)的体外抗癌活性(IC₅₀)的影响

名称	MIC (μg/ml)	HCT116 (IC ₅₀ , μmol/L)	HCT116 + Fn (IC ₅₀ , μmol/L)
新鱼腥草素钠	32	0.48	0.12
对甲氧基苯甲醛	32	4.22	1.77
PA-824	32	9.62	5.62
甲氨蝶呤	32	4.30	0.03
吡啶-3-甲酸	16	8.86	2.72
己烯雌酚	32	23.10	9.35
2'-脱氧胞嘧啶核苷	8	0.78	0.07
5-硝基-8-羟基喹啉	2	22.85	3.93
特地唑胺	2	4.29	1.42

HCT116细胞的体外抗肿瘤活性,甲氨蝶呤提升抗癌活性幅度最大,达143倍(表1),同时,实时无标

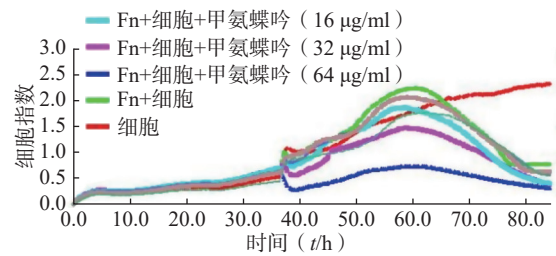


图2 甲氨蝶呤对Fn促肿瘤细胞生长作用的影响

记肿瘤细胞生长分析实验显示,甲氨蝶呤也能显著抑制Fn促结肠癌HCT116细胞生长作用,且呈浓度依赖特性(图2)。Fn、细胞、化合物共孵育实验表明,部分化合物在抵抗Fn促增殖作用的同时,可提升其体外抗肿瘤活性,其中,甲氨蝶呤作为经典的抗肿瘤药物,在抗Fn、抗肿瘤细胞以及抗Fn和

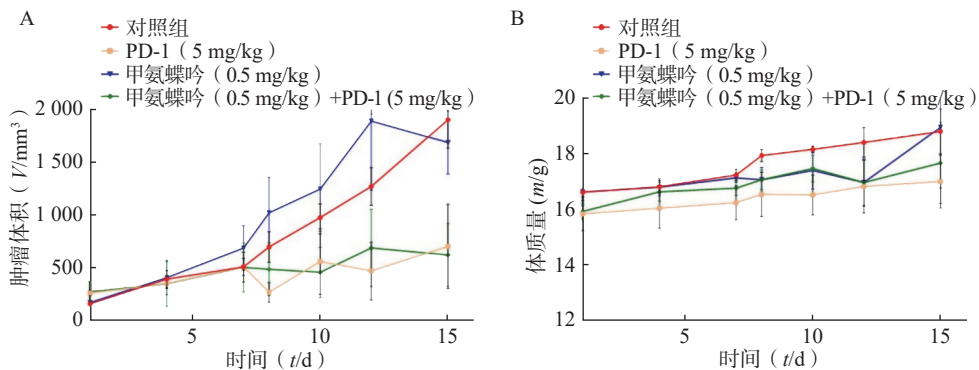


图3 荷瘤裸鼠移植瘤体积和体质量的变化

A.移植瘤体积;B.小鼠体质量

肿瘤细胞共孵育中均表现出不俗的效果,但产生此效果的机制尚需进一步研究。③优选活性化合物甲氨蝶呤(0.5 mg/kg)与 PD-1 抗体(5.0 mg/kg)联用,对 Fn 灌胃干预下裸鼠人结肠癌 HCT116 移植瘤具有显著的抑制活性,其抑瘤率达 67.46%,分别优于相同给药剂量的甲氨蝶呤和 PD-1 抗体单独用药的抑瘤活性,且对荷瘤裸鼠的体质量无显著影响。从体内实验结果中可知,在 Fn 高富集的情况下,甲氨蝶呤联合应用 PD-1 抗体后表现出更好的治疗效果。本研究首先在类器官层面验证了 Fn 促进直肠癌增殖的效果,其次探索了 Fn、细胞同时存在情况下,化合物体外抗肿瘤效果变化,最后根据实验结果优选经典化疗药物甲氨蝶呤,利用裸鼠人结肠癌 HCT116 移植瘤模型验证了体内效果,并得出基于抗致病具核梭杆菌开发抗结直肠癌的药物具有应用前景的结论。

本研究可为后续抗 Fn 类抗结直肠癌药物结构衍生提供先导化合物,并有望拓展甲氨蝶呤的新适应症。同时,本文研究仍有部分缺陷,如体内实验没有设置无 Fn 灌胃干预组,观察无 Fn 干预情况下裸鼠移植瘤的肿瘤增殖情况,因此,这也为后续深入结构优化所得高抗 Fn 活性化合物的体内抗结直肠癌活性研究提供改进策略。

【参考文献】

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGELR 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] RAWLA P, SUNKARA T, BARSOUK A. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors[J]. *Prz Gastroenterol*, 2019, 14(2): 89-103.
- [3] KIMJ Y, HE F, KARIN M. From liver fat to cancer: perils of the western diet[J]. *Cancers*, 2021, 13(5): 1095.
- [4] JIA F J, YU Q, WANG R L, et al. Optimized antimicrobial peptide jelleine-I derivative Br-J-I inhibits *Fusobacterium nucleatum* to suppress colorectal cancer progression[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(2): 1469.
- [5] BENSONA B, VENOOK A P, AL-HAWARY M M, et al. Colon cancer, version 2.2021, NCCN clinical practice guidelines in oncology[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2021, 19(3): 329-359.
- [6] KELLAND L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7(8): 573-584.
- [7] WALKOC M, LINDLEY C. Capecitabine: a review[J]. *Clin Ther*, 2005, 27(1): 23-44.
- [8] CHU D K, ZHANG Z X, LI Y M, et al. Prediction of colorectal cancer relapse and prognosis by tissue mRNA levels of NDRG2[J]. *Mol Cancer Ther*, 2011, 10(1): 47-56.
- [9] DAHAN L, SADOK A, FORMENTOJ L, et al. Modulation of cellular redox state underlies antagonism between oxaliplatin and cetuximab in human colorectal cancer cell lines[J]. *Br J Pharmacol*, 2009, 158(2): 610-620.
- [10] FAÏS T, DELMAS J, COUGNOUX A, et al. Targeting colorectal cancer-associated bacteria: a new area of research for personalized treatments[J]. *Gut Microbes*, 2016, 7(4): 329-333.
- [11] HARUKI K, KOSUMI K, HAMADA T, et al. Association of autophagy status with amount of *Fusobacterium nucleatum* in colorectal cancer[J]. *J Pathol*, 2020, 250(4): 397-408.
- [12] CHEN Y Y, CHEN Y, ZHANG J X, et al. *Fusobacterium nucleatum* promotes metastasis in colorectal cancer by activating autophagy signaling via the upregulation of CARD3 expression [J]. *Theranostics*, 2020, 10(1): 323-339.
- [13] MÁRMOL I, SÁNCHEZ-DE-DIEGO C, PRADILLADIESTE A, et al. Colorectal carcinoma: a general overview and future perspectives in colorectal cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(1): 197.
- [14] GUO S H, CHEN J, CHEN F F, et al. Exosomes derived from *Fusobacterium nucleatum*-infected colorectal cancer cells facilitate tumour metastasis by selectively carrying miR-1246/92b-3p/27a-3p and CXCL16[J]. *Gut*, 2020: gutjnl-gu2020-321187.
- [15] XUE Y, XIAO H, GUO S H, et al. Indoleamine 2, 3-dioxygenase expression regulates the survival and proliferation of *Fusobacterium nucleatum* in THP-1-derived macrophages[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3): 355.
- [16] BROOK I. Fusobacterial infections in children[J]. *Curr Infect Dis Rep*, 2013, 15(3): 288-294.
- [17] COCHRANE K, ROBINSON A V, HOLTR A, et al. A survey of *Fusobacterium nucleatum* genes modulated by host cell infection[J]. *Microb Genom*, 2020, 6(2): e000300.
- [18] HASHEMI GORADEL N, HEIDARZADEH S, JAHANGIRI S, et al. *Fusobacterium nucleatum* and colorectal cancer: a mechanistic overview[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(3): 2337-2344.
- [19] KOSTICA D, CHUN E, ROBERTSON L, et al. *Fusobacterium nucleatum* potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment[J]. *Cell Host Microbe*, 2013, 14(2): 207-215.
- [20] HUI B Q, ZHOU C C, XU Y T, et al. Exosomes secreted by *Fusobacterium nucleatum*-infected colon cancer cells transmit resistance to oxaliplatin and 5-FU by delivering hsa_circ_0004085[J]. *J Nanobiotechnology*, 2024, 22(1): 62.

[收稿日期] 2024-05-08 [修回日期] 2024-05-21

[本文编辑] 费永和