

doi:10.3969/j.issn.1673-6184.2022.05.002

· 论著 ·

具核梭杆菌通过靶向 lncRNA NEAT1 促进结肠癌细胞增殖的机制研究

陈渊文*, 张捷*, 沈火剑, 朱宏毅, 沈志勇

上海交通大学医学院附属仁济医院, 上海 200120

摘要:本研究旨在探讨具核梭杆菌对人结肠癌细胞增殖和凋亡的影响及其机制。取对数生长期的人结肠癌 HCT116 和 SW480 细胞, 设置对照组、菌液组(加入过滤后的菌液)、具核梭杆菌组(采用具核梭杆菌感染)、小干扰核富集转录体 1 (small interfering nuclear-enriched abundant transcript 1, si-NEAT1) 组(转染 si-NEAT1) 和具核梭杆菌 + si-NEAT1 组(转染 si-NEAT1 后采用具核梭杆菌感染)。采用定量鲎试验检测菌液中的内毒素含量, 荧光实时定量聚合酶链反应检测细胞中的 RNA 表达量, CCK-8 法检测细胞增殖能力, 流式细胞术检测细胞凋亡率, 蛋白免疫印迹法检测凋亡相关蛋白 caspase-3、Bcl-2 和 Bax 的表达量。结果显示, 具核梭杆菌感染结肠癌细胞后, 结肠癌细胞的增殖能力提高, 凋亡率降低, caspase-3 和 Bax 表达量降低, Bcl-2 表达量升高, NEAT1 表达量升高。与对照组相比, 转染 si-NEAT1 后结肠癌细胞的增殖能力降低, 凋亡率升高, caspase-3 和 Bax 表达量升高, Bcl-2 表达量降低。结果表明, 敲减 NEAT1 可逆转具核梭杆菌对结肠癌细胞增殖能力和凋亡率的影响, 提示具核梭杆菌通过靶向上调 NEAT1 的表达促进结肠癌细胞的增殖并抑制其凋亡。

关键词:结肠癌; 具核梭杆菌; 核富集转录体 1

中图分类号: R735.3; R378

文献标识码: A

Fusobacterium nucleatum promotes the development of colorectal carcinoma by targeting lncRNA NEAT1

CHEN Yuanwen*, ZHANG Jie*, SHEN Huojian, ZHU Hongyi, SHEN Zhiyong

Renji Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200120, China

Abstract: The aim of this study was to investigate the effects of *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) on the proliferation and apoptosis of human colorectal cancer (CRC) cells as well as its mechanism. Human CRC cell lines HCT116 and SW480 at logarithmic growth stage were divided into the control group, bacteria solution group (added filtered bacterial solution), *F. nucleatum* group (infected with *F. nucleatum*), small interfering nuclear-enriched abundant transcript 1 (si-NEAT1) group (transfected with si-NEAT1) and *F. nucleatum* + si-NEAT1 group (infected with *F. nucleatum* after transfection with si-NEAT1). Quantitative limulus test was used to detect the content of endotoxin in bacterial solution. Quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to measure the level of RNA in cells. CCK-8 assay was

基金项目: 上海交通大学医学院附属仁济医院院级课题(20ZR1433300)、上海交通大学医学院附属仁济医院南院博士专项基金资助(2019NYBSZX06)

通信作者: 沈志勇

Correspondence to: SHEN Zhiyong E-mail: rjszy1970tg@163.com

* 同为第一作者

performed to detect the proliferation of cells, while flow cytometry was used to calculate the apoptosis rate of cells. The expression levels of apoptosis-related proteins caspase-3, Bcl-2 and Bax were determined by Western blotting. The results showed that the proliferation of CRC cells was enhanced after the infection by *F. nucleatum*, and the apoptosis rate of cells was decreased. The expressions of caspase-3 and Bax were decreased, while the level of Bcl-2 was increased. In addition, the expression of NEAT1 in CRC cells was increased. After transfection with si-NEAT1, the proliferation of CRC cells was decreased, the apoptosis rate was increased, the expressions of caspase-3 and Bax were increased, while the expression of Bcl-2 was reduced. The knockdown of NEAT1 expression could reverse the effects of *F. nucleatum* on the proliferation and apoptosis of CRC cells. These results suggest that *F. nucleatum* can promote the proliferation and inhibit the apoptosis of CRC cells by up-regulating of NEAT1.

Keywords: Colorectal carcinoma; *Fusobacterium nucleatum*; Nuclear-enriched abundant transcript 1

结肠癌是全球第三大常见癌症,也是癌症相关死亡的第二大原因^[1]。目前,结肠癌的治疗方案仍以手术、放疗和化疗为主^[2]。近年来,随着内镜及各种辅助技术的发展,结肠癌患者的死亡率有所下降,但仍没有有效的方法预防结直肠癌的复发和转移^[3]。为了探索有效的治疗方案,人们亟须剖析结肠癌发生的新机制。

人体肠道内定植了丰富多样的微生物群落(古菌、真菌、原生动物和病毒),统称为肠道微生物群^[4]。越来越多的证据表明,微生物群与结直肠癌的发生存在潜在的联系^[5-6]。最近,在结直肠癌微生物组研究中,具核梭杆菌(*Fusobacterium nucleatum*)引起了学者的关注。梭杆菌是革兰氏阴性厌氧杆菌,存在于人的口腔、胃肠道和其他具有物种特异性的宿主中^[7]。与正常结肠组织相比,具核梭杆菌在结肠腺瘤和结直肠癌组织中特别富集^[8-9]。有研究表明,结直肠癌组织中具核梭杆菌的DNA数量与患者预后相关,有可能作为一种预测结肠癌预后的生物标记^[10]。此外,有报道发现与化疗后未复发的结直肠癌患者相比,化疗后复发的结直肠癌患者体内具核梭杆菌的数量明显增加^[11]。然而,有关具核梭杆菌促进结肠癌发病的具体机制还有待进一步的深入研究。

本研究采用具核梭杆菌感染结肠癌细胞,探索具核梭杆菌对结肠癌细胞的影响,并研究其对长链非编码RNA(long-stranded non-coding RNA, lncRNA)的作用,期望为结肠癌治疗提供新的研究方向。

1 材料与方法

1.1 材料

人结肠癌 HCT116 和 SW480 细胞株购自中国

科学院细胞库;具核梭杆菌购自美国 ATCC 细胞库;脑心浸液琼脂购自湖南汇百待生物科技有限公司;显色基质法鲎试剂盒购自北京伊塔生物科技有限公司;细菌内毒素工作标准品购自中国药品生物制品检定所;Lipofectamine 2000 转染试剂购自美国 Thermo 公司;TRIzol 试剂购自美国 Invitrogen 公司;CCK-8 试剂购自上海碧云天生物技术有限公司;Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒购自瑞士 Roche 公司;RIPA 裂解溶液购自美国 MedChemExpress 公司;caspase-3、Bcl-2、Bax、GAPDH 一抗及山羊抗兔 IgG 二抗购自美国 Abcam 公司;小干扰核富集转录体 1 (small interfering nuclear-enriched abundant transcript 1, si-NEAT1)及阴性对照品由生工生物工程(上海)股份有限公司设计及合成。

1.2 主要仪器

HF240 细胞培养箱购自上海力申科学仪器有限公司;DG250 厌氧培养箱购自英国 Don Whitley Scientific 公司;Applied Biosystems 7500 荧光实时定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)仪购自美国 Thermo 公司;CyFlow Counter 流式细胞仪购自德国 Partec 公司;PowerPac™ 基础电泳仪购自美国 Bio-Rad 公司;多功能酶标仪购自美国 BioTek 公司。

1.3 细胞及细菌培养

将人结肠癌 HCT116 和 SW480 细胞株解冻复苏,重悬后接种于 RPMI 1640 培养基(含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青/链霉素),置于 5% CO₂、恒温 37 °C、饱和湿度的细胞培养箱中培养,48 h 换培养液 1 次,取对数生长期的细胞进行实验。在 37 °C 厌氧条件下,将具核梭杆菌置于含有血红素、磷酸氢二

钾、维生素 K1 和 L-半胱氨酸的脑心浸液琼脂培养基中培养 48 h, 然后 4 °C、2 000 r/min 离心 10 min。收集菌液, 用磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 洗 3 次, 无抗生素 RPMI 1640 培养液重悬, 用紫外分光光度计检测波长 600 nm 处的吸光度值 (A_{600}), 将菌悬液密度调至 1×10^8 CFU/mL 备用。

1.4 实验分组

取对数生长期的人结肠癌 HCT116 细胞, 设置对照组 (不进行细菌感染)、菌液对照组 (加入过滤后的菌液)、具核梭杆菌组 (采用具核梭杆菌感染)、si-NEAT1 组 (转染 si-NEAT1) 和具核梭杆菌 + si-NEAT1 组 (转染 si-NEAT1 后采用具核梭杆菌感染)。具核梭杆菌组处理时, 提前 24 h 将细胞以 2×10^5 个/孔的密度接种于 6 孔板, 按感染复数 (multiplicity of infection, MOI) 为 100 : 1 加入用无抗体培养基重悬的具核梭杆菌, 并将细胞培养板移至细胞恒温培养箱中培养。然后, 用 PBS 洗细胞 2 次, 于含 0.01 g/mL 甲硝唑的完全培养基中培养, 去除细菌, 并于特定时间收获, 用于不同实验。菌液对照组处理时, 将细胞以 2×10^5 个/孔的密度接种于 6 孔板, 加入用 0.22 μ m 滤膜过滤后的菌液, 将细胞培养板移至细胞恒温培养箱中培养。si-NEAT1 及阴性对照组按照说明书使用 Lipofectamine 2000 转染试剂进行转染。

1.5 定量鲎试验 (显色基质法)

按照鲎试剂盒说明书步骤进行实验, 用分光光度计于波长 545 nm 处比色读数获得测定管 (s) 的吸光度值 (A_s), 并测试剂对照管 (b) 和试剂空白管 (bb) 吸光度值 A_b 、 A_{bb} , 按计算公式 $A = A_s - (A_b - A_{bb})$, 计算得待测物 A 值, 再查对内毒素标准曲线求得内毒素含量。

1.6 qRT-PCR 检测结肠癌细胞中 RNA 表达

按照说明书在细胞内添加 TRIzol 以提取细胞总 RNA, 用 PrimeScript RT 试剂盒将 RNA 反转录为 cDNA, 然后进行 qRT-PCR。反应体系如下: 1 μ L 上游引物、1 μ L 下游引物、10 μ L $2 \times$ FastStart Universal SYBR Green Master、1 μ L cDNA 模板, 于 50 °C 孵育 2 min, 95 °C 孵育 10 min, 95 °C 孵育 15 s, 40 个循环。根据每个反应得到的循环阈值 (cycle threshold, Ct) 值, 以 GAPDH 为内参, 按照 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 NEAT1 的表达水平。NEAT1 正向引物为 5'-GTGTGATCTGAAAACCCTGCT-3',

反向引物为 5'-CCCAGAAGACAGAAAGATCCCA3'。GAPDH 正向引物为 5'-AGGRGG-AGGAGTGGGTGTCGCTGTT-3', 反向引物为 5'-CCGGGAAACTGTGGCGTGATGG-3'。

1.7 CCK-8 法检测细胞增殖

选取生长状态良好的结肠癌 HCT116 细胞, 接种于 96 孔板, 密度为 3×10^4 个/mL。将细胞置于 37 °C 培养箱中培养 24 h、48 h 和 72 h 后, 取出培养板, 每孔添加 10 μ L CCK-8 溶液, 于振荡仪中反应混合 1 min, 继续将培养板置于 37 °C 培养箱中结合 2 h。然后, 将培养板置于酶标仪, 于 450 nm 处测定细胞 A_{450} 值。

1.8 流式细胞术检测细胞凋亡

取对数生长期的人结肠癌 HCT116 细胞, 经 0.25% 胰酶消化后, 收集细胞, 于细胞内添加冰预冷的 PBS, 反复洗 2 次, 1 500 r/min 离心 5 min, 弃上清液, 加入 300 μ L 结合缓冲液, 制备单细胞悬浮液。按照 Annexin V-FITC 凋亡检测试剂盒操作说明书, 避光染色 30 min, 通过流式细胞仪分析细胞凋亡状况, 并计算凋亡率。

1.9 蛋白免疫印迹法检测结肠癌细胞中的蛋白表达

用 RIPA 裂解液提取细胞总蛋白, 采用 BCA 法 (bicinchoninic acid method) 测定蛋白浓度。在蛋白样品中添加等量体积上样缓冲液, 于 100 °C 水浴中变性 5 min。按照常规配制方法制备 10% 分离胶以及 5% 浓缩胶, 观察胶凝固后, 添加电泳缓冲液。每孔加入 30 μ g 蛋白样品上样, 行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)。将分离的蛋白质转聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene difluoride, PVDF) 膜, 加入已配制好的含 5% 脱脂奶粉的 TBST 封闭液, 于室温、20 r/min 摇床孵育 1 h。用 TBST 洗 3 次, 加入以 1 : 1 000 稀释的一抗反应液, 于脱色摇床 4 °C 过夜。取出 PVDF 膜, 用 TBST 洗 3 次, 置于以 1 : 4 000 稀释的二抗孵育袋, 于室温、20 r/min 摇床孵育 1 h。最后, 采用增强化学发光法 (enhanced chemiluminescence, ECL) 显色。根据目的条带灰度值, 以 GAPDH 作为内参, 分析目的蛋白表达水平的变化。

1.10 统计学分析

使用 GraphPad Prism 8 软件进行统计学分析, 所有实验均重复 3 次。定量数据及计量资料以 $\bar{x} \pm$

s 表示,使用 t 检验比较两组之间的差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 具核梭杆菌对结肠癌细胞增殖能力的影响

采用定量鲎试验分别检测对照组、过滤后的菌液和具核梭杆菌菌液中的内毒素含量,结果表明,具核梭杆菌中的内毒素含量显著高于对照组和过滤后的菌液 ($P < 0.001$, 见图 1A)。采用 CCK-8 法检测具核梭杆菌感染后的结肠癌细胞 HCT116 和 SW480 的增殖能力,结果显示,与对照组和菌液对照组相比,具核梭杆菌处理后的结肠癌细胞增殖能力显著升高 ($P < 0.05$, 见图 1B、1C), 而菌液对照组与对照组之间细胞增殖率无明显差异。因此, 后续实验只使用对照组作为对照。

2.2 具核梭杆菌对结肠癌细胞凋亡的影响

流式细胞凋亡实验结果显示,与对照组相比,具核梭杆菌处理后的 HCT116 细胞凋亡率降低 ($P < 0.01$, 见图 2)。采用蛋白免疫印迹法进一步检测凋亡相关蛋白 caspase-3、Bcl-2 和 Bax 的表达,结果显

示,具核梭杆菌处理后 2 种结肠癌细胞中的 caspase-3 ($P < 0.001$) 和 Bax ($P < 0.05$) 表达量显著降低,而 Bcl-2 含量显著上升 ($P < 0.001$, 见图 3)。结果表明,具核梭杆菌能够调节凋亡相关蛋白并抑制结肠癌细胞的凋亡。

2.3 具核梭杆菌对结肠癌细胞中 NEAT1 表达的影响

NEAT1 能够促进结肠癌的发生和发展,为进一步探讨其具体机制,本研究检测了结肠癌细胞 HCT116 和 SW480 中的 NEAT1 表达量。结果表明,具核梭杆菌处理后结肠癌细胞中 NEAT1 的表达量显著升高 ($P < 0.001$, 见图 4A)。因此,后续实验以 NEAT1 作为研究对象探索具核梭杆菌促进结肠癌发展的机制。

2.4 抑制 NEAT1 可逆转具核梭杆菌对结肠癌细胞增殖能力的影响

将结肠癌细胞 HCT116 和 SW480 转染 si-NEAT1 后,与对照组相比,NEAT1 的表达量显著降低 ($P < 0.001$, 见图 4B), 表明转染成功。采用 CCK-8 法检测 2 种结肠癌细胞的增殖情况,结果显

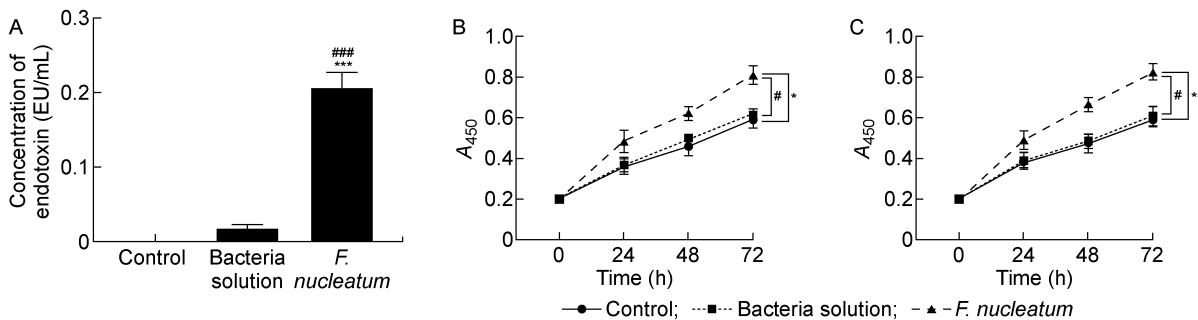
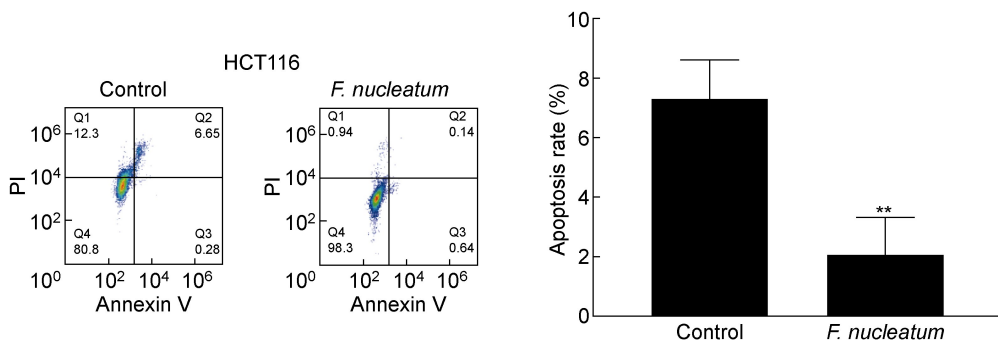


Figure 1: Quantitative limulus test (A); Effect of *F. nucleatum* on proliferation of HCT116 cells (B); Effect of *F. nucleatum* on proliferation of SW480 cells (C). * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ compared with the control group; # $P < 0.05$, ### $P < 0.001$ compared with the bacteria solution group.

图 1 CCK-8 法检测具核梭杆菌对结肠癌细胞增殖能力的影响

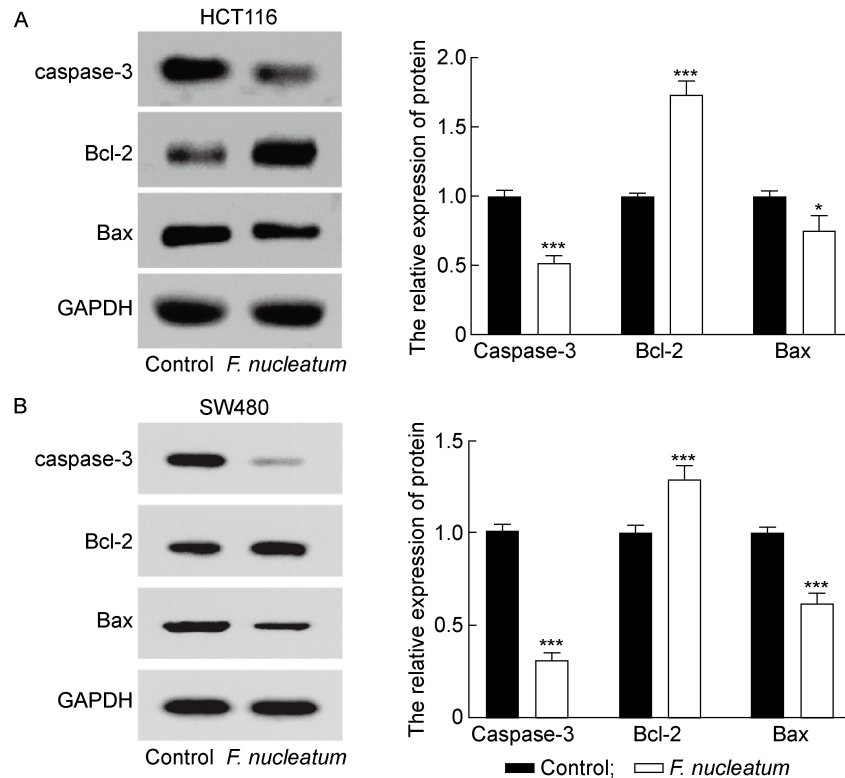
Fig. 1 Effect of *F. nucleatum* on proliferation of colorectal cancer cells detected by CCK-8 assay



** $P < 0.01$.

图 2 流式细胞术检测具核梭杆菌对结肠癌细胞凋亡的影响

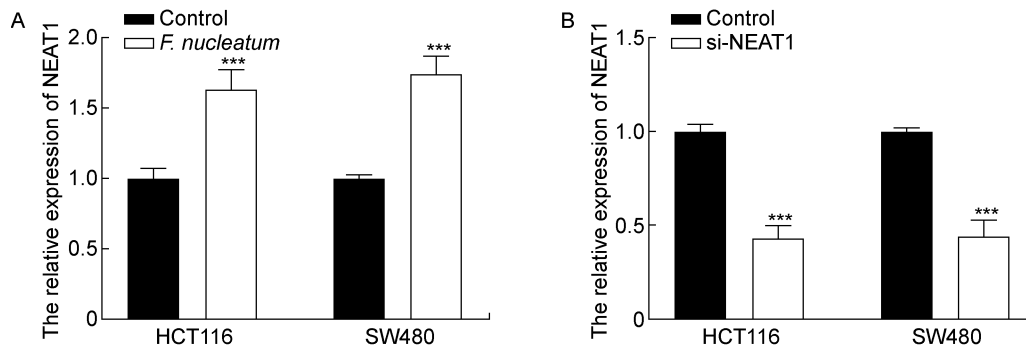
Fig. 2 Effect of *F. nucleatum* on apoptosis of colorectal cancer cells detected by flow cytometry



* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ compared with the control group.

图 3 蛋白免疫印迹法检测具核梭杆菌对结肠癌细胞凋亡的影响

Fig. 3 Effect of *F. nucleatum* on apoptosis of colorectal cancer cells detected by Western blotting



A: Relative expression of NEAT1 in colorectal cancer cells after *F. nucleatum* infection. B: Relative expression of NEAT1 in colorectal cancer cells after si-NEAT1 transfection. *** $P < 0.001$ compared with the control group.

图 4 qRT-PCR 检测 NEAT1 的相对表达量

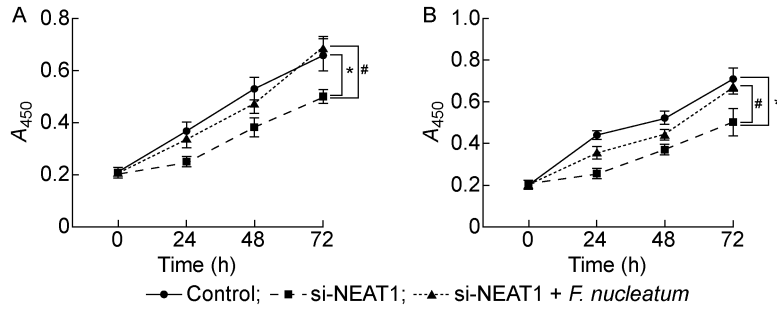
Fig. 4 Relative expression of NEAT1 detected by qRT-PCR

示,转染 si-NEAT1 后的细胞增殖能力显著下降 ($P < 0.05$),但与对照组相比,具核梭杆菌 + si-NEAT1 组中细胞增殖能力没有显著差异 ($P > 0.05$,见图 5)。结果表明,si-NEAT1 逆转了具核梭杆菌促进结肠癌细胞增殖的效果。

2.5 抑制 NEAT1 可逆转具核梭杆菌对结肠癌细胞凋亡的影响

流式细胞术结果显示,转染 si-NEAT1 后 2 种

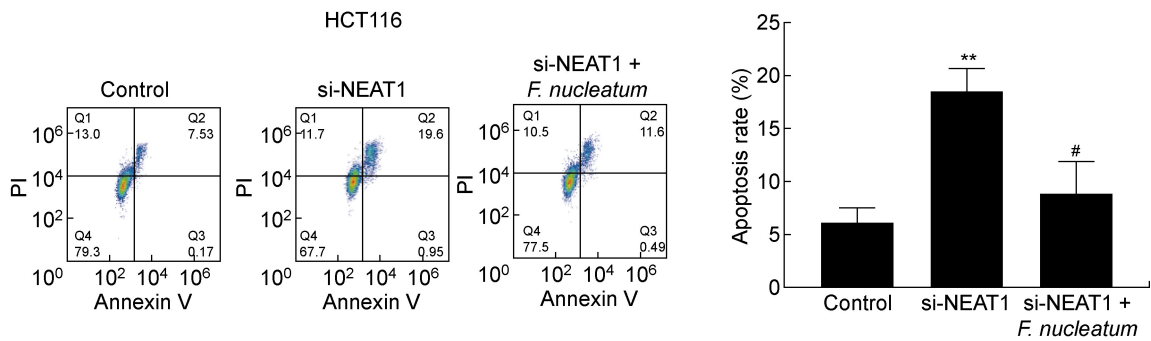
结肠癌细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.01$),但与 si-NEAT1 组相比,si-NEAT1 + 具核梭杆菌组细胞凋亡率降低 ($P < 0.05$,见图 6)。蛋白免疫印迹结果显示,转染 si-NEAT1 后,结肠癌细胞凋亡相关蛋白 caspase-3 及 Bax 表达量升高 ($P < 0.001$),而 Bcl-2 表达量降低 ($P < 0.01$,见图 7)。再次用具核梭杆菌感染后,caspase-3 及 Bax 表达量降低 ($P < 0.01$),Bcl-2 表达量升高 ($P < 0.01$),但 si-NEAT1 + 具核



A: HCT116 cells. B: SW480 cells. * $P < 0.05$ compared with the control group. # $P < 0.05$ compared with si-NEAT1 group.

图 5 CCK-8 法检测转染 si-NEAT1 对结肠癌细胞增殖能力的影响

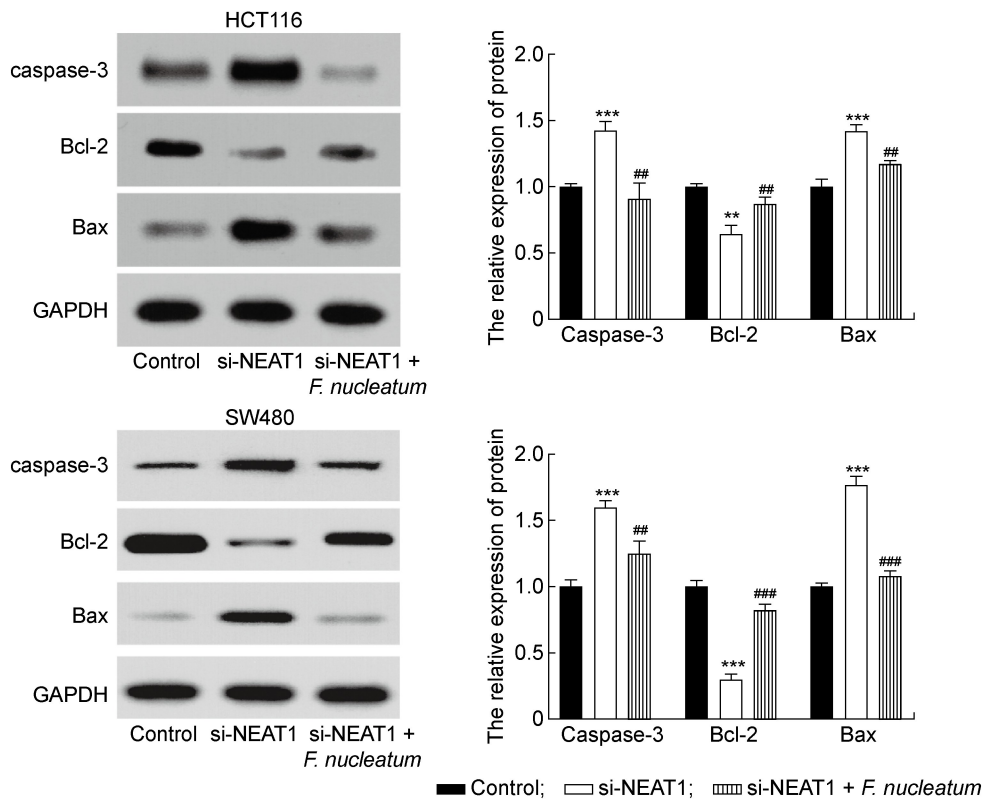
Fig. 5 Effect of si-NEAT1 transfection on proliferation of colorectal cancer cells detected by CCK-8 assay



** $P < 0.01$, # $P < 0.05$.

图 6 流式细胞术检测转染 si-NEAT1 对结肠癌细胞凋亡的影响

Fig. 6 Effect of si-NEAT1 transfection on apoptosis of colorectal cancer cells detected by flow cytometry



** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ compared with the control group. # $P < 0.01$, ### $P < 0.001$ compared with si-NEAT1 group.

图 7 蛋白免疫印迹法检测转染 si-NEAT1 对结肠癌细胞凋亡的影响

Fig. 7 Effect of si-NEAT1 transfection on apoptosis of colorectal cancer cells detected by Western blotting

梭杆菌组与对照组之间凋亡相关蛋白表达无显著性差异 ($P > 0.05$)。结果表明,下调 NEAT1 表达能够促进结肠癌细胞凋亡,且逆转具核梭杆菌对结肠癌细胞的抗凋亡作用。

3 讨论

人类肠道微生物群包含至少 100 万亿个微生物,在人体健康和疾病中发挥着重要作用,包括结直肠癌^[12]。本研究使用具核梭杆菌感染两种结肠癌细胞,发现具核梭杆菌可促进结肠癌细胞增殖并抑制细胞凋亡,这种作用可能是通过靶向激活 lncRNA NEAT1 产生的。

具核梭杆菌是一种常见的口腔非孢子形成革兰氏阴性厌氧菌,长期以来被认为与牙周病的发展有关^[13]。然而,最近的基因组研究提供的证据表明,具核梭杆菌也可能在结直肠癌组织中普遍存在^[14]。已有研究发现,具核梭杆菌可通过调节自噬促进结直肠癌的化疗耐药^[11]。此外,使用抗生素处理带有结肠癌异种移植的小鼠以消除具核梭杆菌,结果发现在具核梭杆菌减少的同时能抑制癌细胞的增殖和整体肿瘤的生长^[15]。本研究采用具核梭杆菌感染结肠癌细胞,发现结肠癌细胞的增殖率上升,凋亡率下降,且能调节凋亡相关蛋白的表达,表明具核梭杆菌对结肠癌有促进作用,与之前的研究结论一致。

lncRNA 是一类转录长度超过 200 个核苷酸但不能进行编码蛋白的 RNA^[16],参与染色质修饰、转录干扰、转录激活、核转运、选择性剪接、调控原癌基因激活等调控过程,从而在表观遗传、转录或转录后水平调控基因表达^[17-18]。lncRNA 的功能和异常表达与许多疾病特别是恶性肿瘤的发生和发展有关^[19]。例如, lncRNA CYTOR 能通过 Wnt/ β -Catenin 信号通路促进结肠癌的转移^[20]。lncRNA HOTAIR 通过下调 miRNA-34a 促进结肠癌发展^[21]。已有研究表明, NEAT1 通过调节 miR-495-3p 和激活 CDK6 促进结肠癌的发生^[22]。因此,本研究以 NEAT1 作为研究对象,发现采用具核梭杆菌感染结肠癌细胞后,结肠癌细胞中 NEAT1 的表达量上升,而沉默 NEAT1 的表达能够抑制结肠癌细胞增殖并促进结肠癌细胞凋亡。此外,沉默 NEAT1 表达还可逆转具核梭杆菌对结肠癌细胞的调控作用,表明具核梭杆菌可能是通过靶向激活 NEAT1,从而促进结肠癌的发展。

综上所述,本研究发现具核梭杆菌通过靶向激活 lncRNA NEAT1 促进了结肠癌细胞的增殖,并

抑制结肠癌细胞的凋亡,为结肠癌的临床研究提供了理论依据和基础。

参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Goding Sauer A, Fedewa SA, Butterly LF, Anderson JC, Cercek A, Smith RA, Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2020 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(3): 145-164.
- [2] Zhu Y, Wang C, Becker SA, Hurst K, Nogueira LM, Findlay VJ, Camp ER. miR-145 antagonizes SNAIL-mediated stemness and radiation resistance in colorectal cancer [J]. *Mol Ther*, 2018, 26(3): 744-754.
- [3] Ma YS, Li W, Liu Y, Shi Y, Lin QL, Fu D. Targeting colorectal cancer stem cells as an effective treatment for colorectal cancer [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2020, 19: 1533033819892261. doi: 10.1177/1533033819892261.
- [4] Costello EK, Stagaman K, Dethlefsen L, Bohannan BJ, Relman DA. The application of ecological theory toward an understanding of the human microbiome [J]. *Science*, 2012, 336(6086): 1255-1262.
- [5] Tahara T, Yamamoto E, Suzuki H, Maruyama R, Chung W, Garriga J, Jelinek J, Yamano HO, Sugai T, An B, Shureiqi I, Toyota M, Kondo Y, Estécio MR, Issa JP. *Fusobacterium* in colonic flora and molecular features of colorectal carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(5): 1311-1318.
- [6] Belcheva A, Irrazabal T, Robertson SJ, Streutker C, Maughan H, Rubino S, Moriyama EH, Copeland JK, Surendra A, Kumar S, Green B, Geddes K, Pezo RC, Navarre WW, Milosevic M, Wilson BC, Girardin SE, Wolever TMS, Edelmann W, Guttman DS, Philpott DJ, Martin A. Gut microbial metabolism drives transformation of MSH2-deficient colon epithelial cells [J]. *Cell*, 2014, 158(2): 288-299.
- [7] Brennan CA, Garrett WS. *Fusobacterium nucleatum*-symbiont, opportunist and oncobacterium [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17(3): 156-166.
- [8] Kostic AD, Chun E, Robertson L, Glickman JN, Gallini CA, Michaud M, Clancy TE, Chung DC, Lochhead P, Hold GL, El-Omar EM, Brenner D, Fuchs CS, Meyerson M, Garrett WS. *Fusobacterium nucleatum* potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment [J]. *Cell Host Microbe*, 2013, 14(2): 207-215.
- [9] Kostic AD, Gevers D, Pedamallu CS, Michaud M, Duke F, Earl AM, Ojesina AI, Jung J, Bass AJ, Tabernero J, Baselga J, Liu C, Shivdasani RA, Ogino S, Birren BW, Huttenhower C, Garrett WS, Meyerson M. Genomic analysis identifies association of *Fusobacterium* with colorectal carcinoma [J]. *Genome Res*, 2012, 22(2): 292-298.

- [10] Mima K, Nishihara R, Qian ZR, Cao Y, Sukawa Y, Nowak JA, Yang J, Dou R, Masugi Y, Song M, Kostic AD, Giannakis M, Bullman S, Milner DA, Baba H, Giovannucci EL, Garraway LA, Freeman GJ, Dranoff G, Garrett WS, Huttenhower C, Meyerson M, Meyerhardt JA, Chan AT, Fuchs CS, Ogino S. Fusobacterium nucleatum in colorectal carcinoma tissue and patient prognosis [J]. *Gut*, 2016, 65(12): 1973-1980.
- [11] Yu T, Guo F, Yu Y, Sun T, Ma D, Han J, Qian Y, Kryczek I, Sun D, Nagarsheth N, Chen Y, Chen H, Hong J, Zou W, Fang JY. Fusobacterium nucleatum promotes chemoresistance to colorectal cancer by modulating autophagy [J]. *Cell*, 2017, 170(3): 548-563.
- [12] Noshu K, Sukawa Y, Adachi Y, Ito M, Mitsuhashi K, Kurihara H, Kanno S, Yamamoto I, Ishigami K, Igarashi H, Maruyama R, Imai K, Yamamoto H, Shinomura Y. Association of Fusobacterium nucleatum with immunity and molecular alterations in colorectal cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(2): 557-566.
- [13] Parhi L, Alon-Maimon T, Sol A, Nejman D, Shhadeh A, Fainsod-Levi T, Yajuk O, Isaacson B, Abed J, Maalouf N, Nissan A, Sandbank J, Yehuda-Shnaidman E, Ponath F, Vogel J, Mandelboim O, Granot Z, Straussman R, Bachrach G. Breast cancer colonization by Fusobacterium nucleatum accelerates tumor growth and metastatic progression [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 3259.
- [14] Castellarin M, Warren RL, Freeman JD, Dreolini L, Krzywinski M, Strauss J, Barnes R, Watson P, Allen-Vercoe E, Moore RA, Holt RA. Fusobacterium nucleatum infection is prevalent in human colorectal carcinoma [J]. *Genome Res*, 2012, 22(2): 299-306.
- [15] Bullman S, Peadarallu CS, Sicinska E, Clancy TE, Zhang X, Cai D, Neuberger D, Huang K, Guevara F, Nelson T, Chipashvili O, Hagan T, Walker M, Ramachandran A, Diosdado B, Serna G, Mulet N, Landolfi S, Ramon Y Cajal S, Fasani R, Aguirre AJ, Ng K, Élez E, Ogino S, Tabernero J, Fuchs CS, Hahn WC, Nucleforo P, Meyerson M. Analysis of Fusobacterium persistence and antibiotic response in colorectal cancer [J]. *Science*, 2017, 358(6369): 1443-1448.
- [16] Lv Y, Yang X, Wang L. Effect of lncRNA THOR on proliferation and migration of colon cancer cells [J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(3): 2518-2522.
- [17] Cheng B, Rong A, Zhou Q, Li W. lncRNA LINC00662 promotes colon cancer tumor growth and metastasis by competitively binding with miR-340-5p to regulate CLDN8/IL22 co-expression and activating ERK signaling pathway [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1): 5.
- [18] Xia TF, Chen J, Wu K, Zhang J, Yan Q. Long noncoding RNA NEAT1 promotes the growth of gastric cancer cells by regulating miR-497-5p/PIK3R1 axis [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(16): 6914-6926.
- [19] Wang J, Su Z, Lu S, Fu W, Liu Z, Jiang X, Tai S. lncRNA HOXA-AS2 and its molecular mechanisms in human cancer [J]. *Clin Chim Acta*, 2018, 485: 229-233.
- [20] Yue B, Liu C, Sun H, Liu M, Song C, Cui R, Qiu S, Zhong M. A positive feed-forward loop between lncRNA-CYTOR and Wnt/beta-catenin signaling promotes metastasis of colon cancer [J]. *Mol Ther*, 2018, 26(5): 1287-1298.
- [21] Peng CL, Zhao XJ, Wei CC, Wu JW. lncRNA HOTAIR promotes colon cancer development by down-regulating miRNA-34a [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(13): 5752-5761.
- [22] He Z, Dang J, Song A, Cui X, Ma Z, Zhang Z. NEAT1 promotes colon cancer progression through sponging miR-495-3p and activating CDK6 in vitro and in vivo [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(11): 19582-19591.

(收稿日期:2022-05-20)

本刊已开通 HTML 格式全文阅读模式

随着数字技术、信息技术的发展及各种数字网络终端的普及,为了让广大读者的阅读更具互动性,便于快速寻找所需内容,阅读、下载或存储,并实现与其他资源的互联互通,本刊已开通 HTML 格式的全文阅读模式,其中包括各种功能的标签链接,可为读者二次利用文献内容提供便利。本刊网址:<http://jmi.fudan.edu.cn>,欢迎登录。

《微生物与感染》编辑部