

DOI: 10.18027/2224-5057-2019-9-2-5-11

Цитирование: Хакимова Г.Г., Трякин А.А., Заботина Т.Н., Цуканов А.С., Алиев В.А., Гуторов С.Л. Роль кишечной микробиоты при иммунотерапии рака толстой кишки. Злокачественные опухоли. 2019;9(2):5–11

## РОЛЬ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ ПРИ ИММУНОТЕРАПИИ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ

Г. Г. Хакимова<sup>1</sup>, А. А. Трякин<sup>1</sup>, Т. Н. Заботина<sup>1</sup>, А. С. Цуканов<sup>2</sup>, В. А. Алиев<sup>1</sup>, С. Л. Гуторов<sup>1</sup>

1. ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

2. Государственный Научный Центр Колопроктологии, Москва, Россия

**Резюме:** Считается, что генетические факторы, дисфункция иммунной системы, хроническое воспаление и дисбиоз кишечной микробиоты (КМ) являются частью патогенеза колоректального рака (КРР). Положительная роль регуляции КМ при лечении воспалительных заболеваний кишечника определяется снижением роста патогенных бактерий и увеличением продукции противовоспалительных факторов. На сегодняшний день, современные данные свидетельствуют о том, что КМ дисрегулирует иммунный ответ против опухоли в ее микроокружении, тем самым замедляя либо ускоряя эффективность противоопухолевой терапии. В клинических исследованиях сообщается о преимуществах терапии КРР с учетом состава КМ, в отношении улучшения иммунного гомеостаза кишечника, функции эпителиального барьера и качества жизни. Между тем, специфическая сигнатура КМ может модулировать чувствительность к химио- и/или лучевой терапии и прогноз пациентов раком толстой кишки. В данной статье, мы представили общие проблемы терапии КРР, основанной на данных по КМ в сочетании с иммунотерапией, а также описали направления будущих перспектив.

**Ключевые слова:** кишечная микробиота, иммунотерапия, CTLA-4 PD-1

### Введение

Колоректальный рак (КРР) является одной из ведущих причин смертности от онкологических заболеваний в мире [1]. В зависимости от этиологии и патогенеза, КРР классифицируется на спорадический, наследственный и воспалительный. Считается, что в рамках многоэтапного процесса, включающего генетические факторы, образ жизни, особенности пищевого поведения и хроническое воспаление путем накопления множества генетических и эпигенетических изменений происходит возникновение и прогрессирование рака толстой кишки [2–6]. Хроническое воспаление является важным фактором риска, ряд исследований показали, что 5-летний накопительный риск возникновения воспалительного заболевания кишечника (ВЗК) составляет 33%–54% [7–9]. Кроме того, у пациентов с ВЗК, риск развития КРР в 2–4 раза выше, чем у пациентов без воспалительного агента [10].

Хотя множественные мутации необходимы как для воспалительного, так и для спорадического КРР, рак толстой кишки сопряженный с воспалительным процессом может ускорить гиперметилирование, хромосомную и микросателлитную нестабильность и изменить постоянство и разнообразие КМ [11,12,13]. В свою очередь, дисбактериоз кишечных бактерий связан с потерей функции эпителиального барьера, патогенезом ВЗК и колит-ассоциированным КРР [14,15]. Таким образом, эффективная профилактика и лечение ВЗК может значительно снизить частоту колит-ассоциированного КРР.

Из этого следует, что КМ человека, будучи гетерогенной и содержащей по меньшей мере 1000 разновидностей микроорганизмов, необходима для переваривания пищи, контроля кишечного эпителиального гомеостаза и здоровья человека в целом [14].

Симбиотические бактерии слизистой оболочки кишечника повышают его гомеостаз и ингибируют кишечную колонизацию патогенами. При нарушении баланса КМ нарушается и слизистая оболочка кишечника, и функция врожденного иммунитета, а количество относительных патогенных факторов растет, что вызывает хронические воспалительные и инфекционные заболевания.

Первоначально, при исследовании мышей с карциномой толстой кишки была выявлена важная модуляционная роль КМ в канцерогенезе, индуцированном воспалением, в замедлении роста опухоли [16,17]. Например, есть данные что у особей, имевших признаки дезорганизации КМ, вызванной приемом антибиотиков, наблюдалось снижение выработки фактора некроза опухоли и, как следствие, снижение эффективности противоопухолевой терапии [18]. Кроме этого, многочисленные виды бактерий, такие как *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium nucleatum* и *Peptostreptococcus stomatis* имеют высокую степень сродства с КРР [19]. Между тем, некоторые кишечные бактерии могут влиять на чувствительность к химио- и лучевой терапии у пациентов КРР [20,21]. Исследования Vétizou M, Pitt JM et al. показали, что КМ также играет роль в ответе, опосредованном действием ингибиторов иммунных контрольных точек [22,23].

## Обзоры и аналитика

В настоящее время хирургия, химиотерапия и лучевая терапия улучшили выживаемость больных раком толстой кишки и, в определенной степени, снизили частоту рецидивов [24]. При этом 35% пациентов КРР диагностируются уже с имеющимися отдаленными метастазами, что является основной причиной смертности [25]. Очевидно, что профилактика и ранняя диагностика имеют большое значение для прогноза и лечения больных раком толстой кишки.

Таким образом, КМ является обнадеживающим звеном в клиническом применении и играет многообещающую роль в терапии КРР.

Из анализа данных следует, что изменение КМ при химио- и иммунотерапии рака толстой кишки, определение профиля безопасности и эффективности является крайне необходимым.

### Взаимосвязь КМ и рака толстой кишки

Анализ ряда зарубежных исследований показал, что КМ способствует развитию КРР посредством изменения бактерио-кишечных биопленок, гомеостаза микроокружения и иммунной реакции. Бактериальные биопленки состоят из высокоорганизованных многоорганических структур в микробных сообществах слизистой оболочки в кишечнике человека и выступают в качестве первой линии защиты от инвазивных индуцированных микробами воспалительных реакций и продуцирования генотоксических соединений, полученных из бактерий [26–28]. Недавно было выявлено, что уменьшение биологического разнообразия и богатства микробной составляющей с увеличением видов *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Proteobacteria*, *Prevotella* и *Clostridium* наблюдалось у пациентов с КРР [29,30–34]. У них *F. nucleatum* способствует переходу предракового состояния в онкологический процесс, а также прогрессированию рака толстой кишки [35,36]. Дальнейшие исследования показали, что *F. nucleatum* содействует пролиферации клеток КРР посредством индуцирования воспалительной реакции и увеличения количества миелоидных иммунных клеток, подавляющих пролиферацию Т-клеток, тем самым индуцируя Т-клеточный апоптоз [37,38]. Следовательно, КМ является важным аспектом в иницировании и прогрессировании рака толстой кишки.

### Взаимосвязь КМ и иммуноонкологии

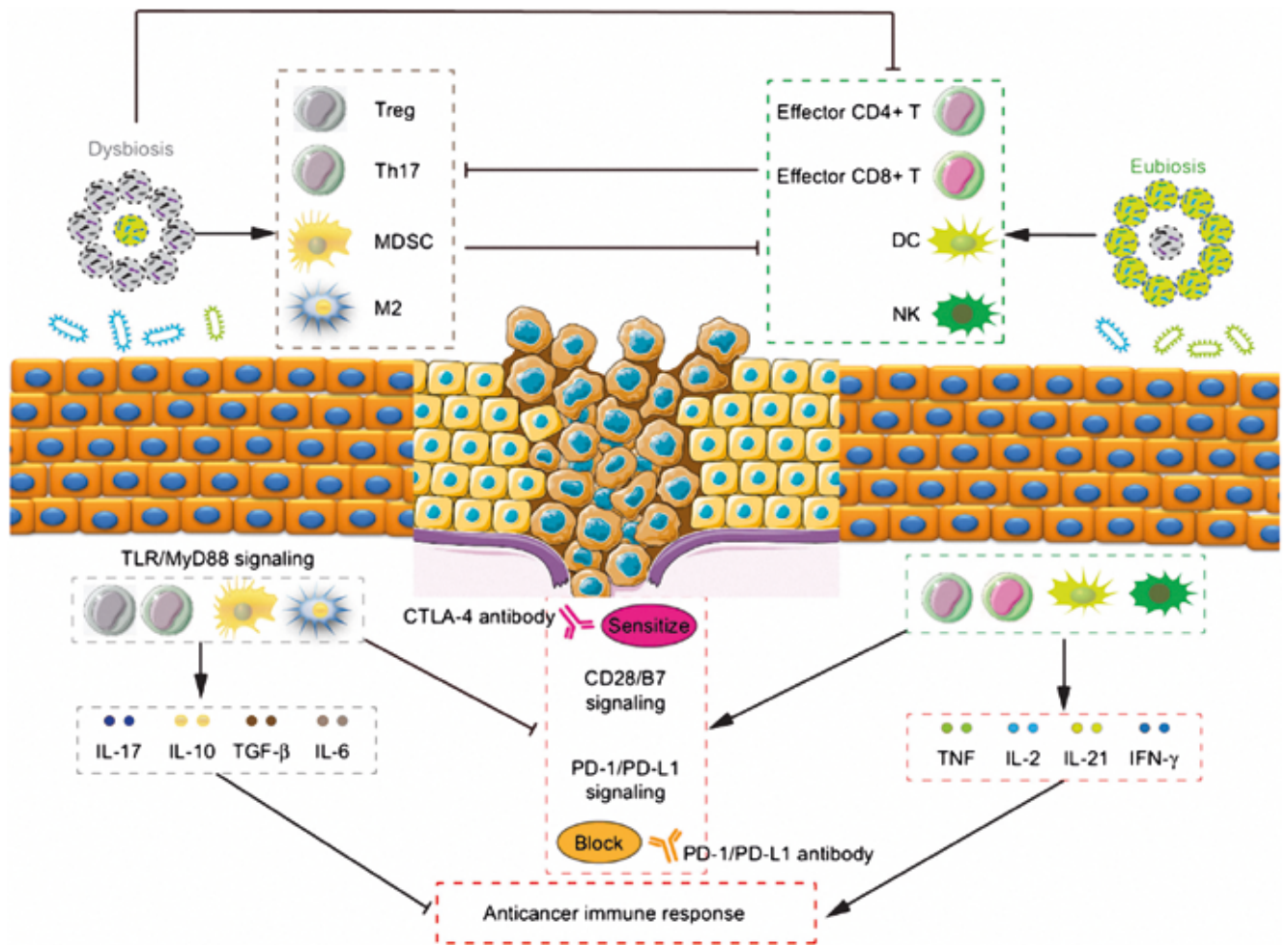
На сегодняшний день известно, что иммунотерапия способна стимулировать и мобилизовать иммунную систему человека, а также усиливать противоопухолевый иммунный ответ в опухолевом микроокружении, что в конечном итоге вызывает апоптоз раковых клеток и ингибирует рост опухоли. В то же время, отрицательная регуляция опухолевого иммунного ответа является наиболее важной причиной ускользания от противоопухолевой иммуно-

терапии, преимущественно за счет рекрутирования или индуцирования воспалительных клеток, включая регуляторные Т-клетки (Treg), миелоидные супрессорные клетки (MDSC) и макрофаги [39]. Кроме этого, цитотоксический Т-лимфоцит-ассоциированный антиген 4 (CTLA-4), рецептор программируемой смерти (PD-1) и лиганд программируемой смерти (PD-L1), иммуносупрессивные цитокины противоопухолевого иммунного ответа, такие как TGF- $\beta$ , интерлейкин-10 (IL-10), IL-17 и IL-6, также участвуют в отрицательной регуляции опухолевого иммунитета [40–43]. Несколько работ показали, что КМ имеет большую прогностическую ценность при ответе на лечение ингибиторами контрольных точек (check-points inhibitors-ICK) [44–46].

Имеются данные, что Treg могут ингибировать функцию CD4+ Т-клеток, CD8+ Т-клеток, дендритных клеток (DC) и естественных киллеров (NK), способствуя формированию иммуносупрессивного микроокружения опухоли [47]. По мнению Geis AL, Fan H et al., амплификация Treg тесно связана с КМ, *Enterotoxigenic Bacteroides fragilis* (ETBF) — ассоциированным хроническим воспалением и канцерогенезом толстой кишки у мышей посредством усиления пролиферации Treg и продуцирования IL-17 [48]. Соответственно, дисбаланс КМ может приводить к усилению регуляции IL-17 в эпителиальных клетках кишечника посредством TLR/MyD88-зависимого сигнального пути в процессе канцерогенеза [49]. Эти исследования подтверждают идею о том, что подавление отрицательных регуляторно-ассоциированных воспалительных клеток и иммуносупрессивных цитокинов путем улучшения КМ могут быть перспективной стратегией противоопухолевой иммунотерапии (рис. 1).

Анализ ряда зарубежных исследований показал, что клетки CD4+ CD25+ Treg могут ингибировать иммунную функцию активированных Т-клеток, усиливая экспрессию CTLA-4, которая объединяет B7 на антиген-презентативной клетке (АПК) и затем антагонизирует активацию передачи CD28/B7 и противоопухолевого иммунного ответа [50,51]. По данным исследований на опухолевых образцах животных и людей, одновременное применение антител против CTLA-4 и *Bacteroides* благоприятно влияет на иммунный ответ DC и Т-клеток с противоопухолевыми свойствами [52]. Кроме того, было обнаружено, что количественное увеличение *Bacteroides* коррелирует с резистентностью к развитию CTLA-4 –индуцированного колита [53].

Помимо CTLA-4, другой ингибитор иммунной контрольной точки — PD-1 — может связываться с рецептором на поверхности опухолевой клетки PD-L1, сенсibiliзировать PD-1/PD-L1 сигнальный путь и стимулировать опухолевые клетки к ускользанию от иммунного надзора и апоптозу [54]. В недавнем исследовании Gopalakrishnan V. et al. утверждалось, что бактерии *Clostridiales* обнаружены в микробиоме кишечника больных меланомой, подвергавшихся анти-PD-1 иммунотерапии, где основополагающим механизмом может быть усиление пролиферации эффекторных Т-клеток и ингибирование уровня иммуносупрес-



**Рисунок 1.** Роли кишечной микробиоты в регуляции опухолевого иммунитета.

**Примечания:** Воспалительные клетки, включая Treg, Th17, миелоидные супрессорные клетки и макрофаги M2, иммуносупрессивные цитокины, такие как IL-17, IL-10, TGF-β и IL-6, белки иммунных контрольных точек- CTLA-4 и PD-1/PD-L1 участвуют в отрицательной регуляции иммунного ответа опухоли. Патогенные бактерии, такие как ETBF, или дисбактериоз кишечника приводят к амплификации воспалительных клеток и усилению иммуносупрессивных цитокинов посредством TLR-MyD88-зависимого сигнального пути. Кроме этого, дисбиоз кишечной микробиоты ингибирует функцию эффекторных CD4+/CD8+ T-клеток, DC и NK и способствует формированию иммуносупрессивного микроокружения опухоли. Напротив, полезные бактерии (такие как Bacteroidales и Bifidobacterium) или эубиоз микробиоты способствует иммунному ответу DC и T-клеток с противоопухолевыми свойствами за счет увеличения пролиферации внутриопухолевых CD4+/CD8+ T-клеток, фактора некроза опухоли и продукции iL-2, iL-21, и iFN-γ, что, в свою очередь, препятствует отрицательной регуляции опухолевого иммунитета. Одновременное применение антител иммунных контрольных точек и пробиотиков усиливает действие DC и T-клеток, что приводит к усилению накопления CD8+ T-клеток, сенсibilизированных CD28/B7 или заблокированного PD-1/PD-L1 в микроокружении опухоли.

**Сокращения:** CTLA-4-цитотоксический T-лимфоцит-ассоциированный антиген 4; DC- дендритные клетки; eBTF- энтеротоксигенные Bacteroides fragilis; iL- интерлейкин; NK- естественные киллерные клетки; PD-1- рецептор программируемой смерти-1; PD-L1- лиганд программируемой смерти-1; TGF- фактор роста опухоли.

сивных клеток [55]. Кроме того, пероральное введение Bifidobacterium и PD-L1-специфического антитела усиливает функцию DC, что приводит к усилению накопления CD8+ T-клеток в микроокружении опухоли, и в конечном итоге, прекращает рост опухоли [56]. Это дает основание полагать, что наиболее распространенные разновидности бактерий влияют на клинический ответ на терапию ин-

гибиторами иммунных контрольных точек, и микробиом может оказывать механическое воздействие на противоопухолевый иммунитет у онкологических больных [57].

Мы обобщили взаимосвязь противоопухолевой иммунотерапии с использованием КМ (табл. 1) и прицельно изучили ее механизм в регуляции иммунного ответа опухоли (рис. 1).

## Обзоры и аналитика

Таблица 1

Лекарственная группа	Механизм регуляции	Микрофлора кишечника
CTLA-4 антитело	• развитие иммунного ответа посредством DC и Т-клеток с противоопухолевыми свойствами	Bacteroidetes
	• резистентность к развитию check-points индуцированного колита, снижение риска осложнений воспалительного характера	Bacteroidetes
PD-1/PD-L1 антитело	• усиливает пролиферацию Т-клеток, и далее снижает уровень иммуносупрессивных клеток	Clostridiales bacteria
	• увеличение количества DC приводит к усилению накопления CD8+ Т-клеток в опухолевом микроокружении	Bifidobacterium

**Сокращения:** CTLA-4 — цитотоксический Т-лимфоцит-ассоциированный антиген 4, DC — дендритные клетки, PD-1 — рецептор программируемой смерти, PD-L1 — лиганд программируемой смерти 1.

По данным, полученным за последние несколько лет, вполне вероятно, что КМ можно использовать в качестве раннего диагностического биомаркера КРР [58, 59–61]. Кроме того, было доказано, что исследование специфического биомаркера КМ в моче уменьшает *intestinal graft-versus-host disease* и связанную с лечением смертность [62]. Микрофлора желудка является отличительным признаком

хронического гастрита и карциномы желудка [63]. На основании данных ряда работ можно предположить, что в ближайшем будущем КРР может быть диагностирован только путем выявления характерных маркеров микробиоты в кале, моче или крови.

Недавние исследования показали, что генетически модифицированные бактерии являются критерием для обнаружения микроскопических опухолевых масс солидных новообразований, влияя на колонизацию злокачественных опухолей и действуя в качестве элемента противоопухолевой терапии, что подтверждает в будущем перспективность КМ в лечении и профилактике КРР [64, 65]. КМ также может быть использована для разработки вакцин при колоректальном раке или поддержания нормальной барьерной функции кишечника и локального иммунного ответа. Кроме того, на основании недавних доклинических исследований на опухолевых моделях, КМ может использоваться для мониторинга чувствительности и ответа на химио- и лучевую терапии и иммунотерапию у пациентов раком толстой кишки. Также, иммунотерапия или химио-иммунотерапия могут иметь переменную зависимость от КМ для активации и функционирования Т-клеток, тем самым, определяя потенциал КМ для развития новых стратегий персонализированного лечения.

## Выводы

Комбинированное применение КМ и других терапевтических подходов, в частности иммунотерапии, демонстрирует сильную синергетическую эффективность при лечении больных раком толстой кишки. Дополнительные исследования смогут расширить представление о молекулярном механизме и применении КМ в ранней диагностике и профилактике КРР.

## Информация об авторах

**Гулноз Г. Хакимова**, аспирант отделения химиотерапии и комбинированного лечения злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

**Алексей А. Трякин**, д.м.н., старший научный сотрудник отделения клинической фармакологии и химиотерапии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

**Татьяна Н. Заботина**, д.б.н., заведующая централизованным клинико-лабораторным отделом ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

**Алексей С. Цуканов**, д.м.н., заведующий кабинетом лабораторной генетики Государственный научный центр колопроктологии, Москва, Россия

**Вячеслав А. Алиев**, д.м.н., старший научный сотрудник отделения колопроктологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

**Сергей Л. Гуроров**, д.м.н., ведущий научный сотрудник отделения химиотерапии и комбинированного лечения злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

DOI: 10.18027/2224-5057-2019-9-2-5-11

**For citation:** Khakimova G.G., Tryakin A.A., Zabolina T.N., Tsukanov A.S., Aliev V.A., Guturov S.L. The Role of the Intestinal Microbiome in the Immunotherapy of Colon Cancer. *Malignant Tumours*. 2019;9(2):5–11(In Russ)

## THE ROLE OF THE INTESTINAL MICROBIOME IN THE IMMUNOTHERAPY OF COLON CANCER

G.G. Khakimova<sup>1</sup>, A.A. Tryakin<sup>1</sup>, T.N. Zabolina<sup>1</sup>, A.S. Tsukanov<sup>2</sup>, V.A. Aliev<sup>1</sup>, S.L. Guturov<sup>1</sup>

1. N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia

2. State Scientific Center of Coloproctology, Moscow, Russia

**Abstract:** Genetic factors, immune dysfunction, chronic inflammation, and dysbiosis of the intestinal microbiome (IM) are believed to participate in the pathogenesis of colorectal cancer (CRC). The positive role of IM regulation in the treatment of inflammatory bowel disorders is determined by a reduction in the growth of pathogenic bacteria and an increase in the production of anti-inflammatory factors. Currently, the available data suggests that the IM dysregulates the immune response against the tumor in its microenvironment, thus either slowing down or accelerating the efficacy of antitumor therapy. Clinical studies have reported benefits of CRC therapy selected based on IM in improving immune intestinal homeostasis, epithelial barrier functions, and quality of life. Moreover, the specific IM signature may modulate the sensitivity to chemo- and/or radiotherapy, as well as the prognosis in patients with colorectal cancer. In this article, we presented the general challenges of the CRC therapy based on IM data in combination with immunotherapy, and described the future prospects of this approach.

**Keywords:** intestinal microbiome, immunotherapy, CTLA-4 PD-1

### Information about the authors

**Gulnoz G. Khakimova**, postgraduate student, Department of Chemotherapy and Combined Treatment of Malignant Tumors N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia

**Alexey A. Tryakin**, MD, PhD, DSc, Senior Researcher, Department of Clinical Pharmacology and Chemotherapy N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia

**Tatyana N. Zabolina**, MD, DSc Biol, Head of Centralized Clinical and Laboratory Department N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia

**Alexey S. Tsukanov**, MD, PhD, DSc, Head of Laboratory Genetics Department State Scientific Center of Coloproctology, Moscow, Russia

**Vyacheslav A. Aliev**, MD, PhD, DSc, Senior Researcher, Department of Coloproctology N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia

**Sergey L. Guturov**, MD, PhD, DSc, Leading Researcher, Department of Chemotherapy and Combined Treatment of Malignant Tumors N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia

### Литература / Reference

1. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*. 2015;65 (2):87–108.
2. Fearon ER. Molecular genetics of colorectal cancer. *Ann Rev Pathol*. 2011;6 (1):479–507.
3. Jafri SH, Mills G. Lifestyle modification in colorectal cancer patients: an integrative oncology approach. *Future Oncol*. 2013;9 (2):207–218.
4. Okugawa Y, Grady WM, Goel A. Epigenetic alterations in colorectal cancer: emerging biomarkers. *Gastroenterology*. 2015;149 (5):1204–1225.
5. Lasry A, Zinger A, Ben-Neriah Y. Inflammatory networks underlying colorectal cancer. *Nat Immunol*. 2016;17 (3):230–240.
6. O'Keefe SJ. Diet, microorganisms and their metabolites, and colon cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;13 (12):691–706.
7. Jess T, Simonsen J, Jørgensen KT, Pedersen BV, Nielsen NM, Frisch M. Decreasing risk of colorectal cancer in patients with inflammatory bowel disease over 30 years. *Gastroenterology*. 2012;143 (2):375–381.

## Обзоры и аналитика

8. Jess T, Horváth-Puhó E, Fallingborg J, Rasmussen HH, Jacobsen BA. Cancer risk in inflammatory bowel disease according to patient phenotype and treatment: a Danish population-based cohort study. *Am J Gastroenterol.* 2013;108 (12):1869–1876.
9. Johnson CM, Wei C, Ensor JE, et al. Meta-analyses of colorectal cancer risk factors. *Cancer Causes Control.* 2013;24 (6):1207–1222.
10. Farraye FA, Odze RD, Eaden J, Itzkowitz SH. AGA medical position statement on the diagnosis and management of colorectal neoplasia in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology.* 2010;138 (2):738–745.
11. Lasry A, Zinger A, Ben-Neriah Y. Inflammatory networks underlying colorectal cancer. *Nat Immunol.* 2016;17 (3):230–240.
12. Johnson CM, Wei C, Ensor JE, et al. Meta-analyses of colorectal cancer risk factors. *Cancer Causes Control.* 2013;24 (6):1207–1222.
13. Kostic AD, Chun E, Meyerson M, Garrett WS. Microbes and inflammation in colorectal cancer. *Cancer Immunol Res.* 2013;1 (3):150–157.
14. Bruner SD, Jobin C. Intestinal microbiota in inflammatory bowel disease and carcinogenesis: implication for therapeutics. *Clin Pharmacol Ther.* 2016;99 (6):585–587.
15. Ijssennagger N, van der Meer R, van Mil SWC. Sulfide as a mucus barrier-breaker in inflammatory bowel disease? *Trends Mol Med.* 2016; 22 (3):190–199.
16. Uronis JM, Mühlbauer M, Herfarth HH, Rubinas TC, Jones GS, Jobin C. Modulation of the intestinal microbiota alters colitis-associated colorectal cancer susceptibility. *PLoS One.* 2009;4 (6):e6026.
17. Li Y, Kundu P, Seow SW, et al. Gut microbiota accelerate tumor growth via c-jun and STAT3 phosphorylation in APC Min/+ mice. *Carcinogenesis.* 2012;33 (6):1231–1238.
18. Васильев А.Н. Трансплантация фекальной микробиоты: возможные терапевтические подходы и вопросы правового регулирования / А.Н. Васильев, Д.В. Горячев, Е.В. Гавришина и др. // Биопрепараты. Рецензируемый научно-практический журнал. – 2015. – № 2 (54) – С. 15–23.
19. Yu J, Feng Q, Wong SH, et al. Metagenomic analysis of faecal microbiome as a tool towards targeted non-invasive biomarkers for colorectal cancer. *Gut.* 2017;66 (1):70–78.
20. Crawford PA, Gordon JI. From the cover: microbial regulation of intestinal radiosensitivity. *Proc Natl Acad Sci.* 2005;102 (37): 13254–13259.
21. Yu T, Guo F, Yu Y, et al. *Fusobacterium nucleatum* promotes chemoresistance to colorectal cancer by modulating autophagy. *Cell.* 2017; 170 (3):548–563.
22. Vétizou M, Pitt JM, Daillère R, et al. Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota. *Science.* 2015; 350 (6264):1079–1084.
23. Routy B, Le Chatelier E, Derosa L, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1 – based immunotherapy against epithelial tumors. *Science.* 2018;359 (6371):91–97.
24. Ahmed S, Johnson K, Ahmed O, Iqbal N. Advances in the management of colorectal cancer: from biology to treatment. *Int J Colorectal Dis.* 2014;29 (9):1031–1042.
25. Field K, Lipton L. Metastatic colorectal cancer—past, progress and future. *World J Gastroenterol.* 2007;13 (28):3806–3815.
26. Dejea CM, Wick EC, Hechenbleikner EM, et al. Microbiota organization is a distinct feature of proximal colorectal cancers. *Proc Natl Acad Sci.* 2014;111 (51):18321–18326.
27. Li S, Konstantinov SR, Smits R, Peppelenbosch MP. Bacterial biofilms in colorectal cancer initiation and progression. *Trends Mol Med.* 2017; 23 (1):18–30.
28. Sicard J-F, Le Bihan G, Vogeleeer P, Jacques M, Harel J. Interactions of intestinal bacteria with components of the intestinal mucus. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017;7:387.
29. Yu J, Feng Q, Wong SH, et al. Metagenomic analysis of faecal microbiome as a tool towards targeted non-invasive biomarkers for colorectal cancer. *Gut.* 2017;66 (1):70–78.
30. Nakatsu G, Li X, Zhou H, et al. Gut mucosal microbiome across stages of colorectal carcinogenesis. *Nat Commun.* 2015;6 (1):8727.
31. Huipeng W, Lifeng G, Chuang G, Jiaying Z, Yuankun C. The differences in colonic mucosal microbiota between normal individual and colon cancer patients by polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis. *J Clin Gastroenterol.* 2014;48 (2):138–144.
32. Warren RL, Freeman DJ, Pleasance S, et al. Co-occurrence of anaerobic bacteria in colorectal carcinomas. *Microbiome.* 2013;1 (1):16.
33. Wu N, Yang X, Zhang R, et al. Dysbiosis signature of fecal microbiota in colorectal cancer patients. *Microb Ecol.* 2013;66 (2):462–470.
34. Kahouli I, Tomaro-Duchesneau C, Prakash S. Probiotics in colorectal cancer (CRC) with emphasis on mechanisms of action and current perspectives. *J Med Microbiol.* 2013;62 (Pt\_8):1107–1123.
35. Ito M, Kanno S, Noshio K, et al. Association of *Fusobacterium nucleatum* with clinical and molecular features in colorectal serrated pathway. *Int J Cancer.* 2015;137 (6):1258–1268.

36. Park CH, Han DS, Oh Y-H, Lee A-Reum, Lee Y-Ra, Eun CS. Role of Fusobacteria in the serrated pathway of colorectal carcinogenesis. *Sci Rep.* 2016;6 (1):25271.
37. Ye X, Wang R, Bhattacharya R, et al. Fusobacterium nucleatum sub- species Animalis influences proinflammatory cytokine expression and monocyte activation in human colorectal tumors. *Cancer Prev Res.* 2017;10 (7):398–409.
38. Noshu K, Sukawa Y, Adachi Y, et al. Association of Fusobacterium nucleatum with immunity and molecular alterations in colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2016;22 (2):557–566.
39. de Vries NL, Swets M, Vahrmeijer AL, Hokland M, Kuppen PJ. The immunogenicity of colorectal cancer in relation to tumor development and treatment. *Int J Mol Sci.* 2016;17 (7):E1030.
40. Nishino M, Ramaiya NH, Hatabu H, Hodi FS. Monitoring immune- checkpoint blockade: response evaluation and biomarker development. *Nat Rev Clin Oncol.* 2017;14 (11):655–668.
41. Stewart CA, Metheny H, Iida N, et al. Interferon-dependent IL-10 production by Tregs limits tumor Th17 inflammation. *J Clin Invest.* 2013;123 (11):4859–4874.
42. Pang Y, Gara SK, Achyut BR, et al. TGF- $\beta$  signaling in myeloid cells is required for tumor metastasis. *Cancer Discov.* 2013;3 (8):936–951.
43. Qian X, Chen H, Wu X, Hu L, Huang Q, Jin Y. Interleukin-17 acts as double-edged sword in anti-tumor immunity and tumorigenesis. *Cytokine.* 2017;89:34–44.
44. Pitt JM, Vétizou M, Waldschmitt N, et al. Fine-tuning cancer immunotherapy: optimizing the gut microbiome. *Cancer Res.* 2016; 76 (16):4602–4607.
45. West NR, Powrie F. Immunotherapy not working? Check your micro- biota. *Cancer Cell.* 2015;28 (6):687–689.
46. Snyder A, Pamer E, Wolchok J. Immunotherapy. Could microbial therapy boost cancer immunotherapy? *Science.* 2015;350 (6264):1031–1032.
47. Tanaka A, Sakaguchi S. Regulatory T cells in cancer immunotherapy. *Cell Res.* 2017;27 (1):109–118.
48. Geis AL, Fan H, Wu X, et al. Regulatory T-cell response to entero-toxigenic Bacteroides fragilis colonization triggers IL17-dependent colon carcinogenesis. *Cancer Discov.* 2015;5 (10):1098–1109.
49. Viaud S, Saccheri F, Mignot G, et al. The intestinal microbiota modu- lates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. *Science.* 2013;342 (6161):971–976.
50. Baecher-Allan C, Viglietta V, Hafler DA. Human CD4+CD25+ regulatory T cells. *Semin Immunol.* 2004;16 (2):89–98.
51. Egen JG, Kuhns MS, Allison JP. CTLA-4: new insights into its biologi- cal function and use in tumor immunotherapy. *Nat Immunol.* 2002; 3 (7):611–618.
52. Vétizou M, Pitt JM, Daillère R, et al. Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota. *Science.* 2015; 350 (6264):1079–1084.
53. Dubin K, Callahan MK, Ren B, et al. Intestinal microbiome analyses identify melanoma patients at risk for checkpoint- blockade-induced colitis. *Nat Commun.* 2016;7:10391.
54. Nishino M, Ramaiya NH, Hatabu H, Hodi FS. Monitoring immune- checkpoint blockade: response evaluation and biomarker development. *Nat Rev Clin Oncol.* 2017;14 (11):655–668.
55. Gopalakrishnan V, Spencer CN, Nezi L, et al. Gut microbiome modu- lates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science.* 2018;359 (6371):97–103.
56. Sivan A, Corrales L, Hubert N, et al. Commensal Bifidobacterium promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD–L1 efficacy. *Science.* 2015;350 (6264):1084–1089.
57. Matson V, Fessler J, Bao R, et al. The commensal microbiome is associated with anti-PD-1 efficacy in metastatic melanoma patients. *Science.* 2018;359 (6371):104–108.
58. Jin P, Wang K, Huang C, Nice EC. Mining the fecal proteome: from biomarkers to personalised medicine. *Expert Rev Proteomics.* 2017; 14 (5):445–459.
59. Ai L, Tian H, Chen Z, Chen H, Xu J, Fang JY. Systematic evalua- tion of supervised classifiers for fecal microbiota- based prediction of colorectal cancer. *Oncotarget.* 2017;8 (6):9546–9556.
60. Zhang MM, Cheng JQ, Xia L, et al. Monitoring intestinal microbiota profile: a promising method for the ultraearly detection of colorectal cancer. *Med Hypotheses.* 2011;76 (5):670–672.
61. Shah MS, Desantis TZ, Weinmaier T, et al. Leveraging sequence- based faecal microbial community survey data to identify a composite biomarker for colorectal cancer. *Gut.* 2018;67 (5):882–891.
62. Enq RR. How's your microbiota? Let's check your urine. *Blood.* 2015; 126 (14):1641–1642.
63. Ferreira RM, Pereira-Marques J, Pinto-Ribeiro I, et al. Gastric microbial community profiling reveals a dysbiotic cancer-associated microbiota. *Gut.* 2018;67 (2):226–236.
64. Panteli JT, Forkus BA, van Dessel N, Forbes NS. Genetically modified bacteria as a tool to detect microscopic solid tumor masses with triggered release of a recombinant biomarker. *Integr Biol.* 2015;7 (4):423–434.
65. Gardlik R, Fruehauf JH. Bacterial vectors and delivery systems in cancer therapy. *IDrugs.* 010;13(10):701–706.