

DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-178-6-158-165

## Взаимосвязь муколитической бактерии *Akkermansia muciniphila* с колоректальным раком

Карамзин А. М., Ропот А. В., Бошнян Р. Е.

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

### Relationship of the mucin-degrading bacterium *Akkermansia muciniphila* with colorectal cancer

A. M. Karamzin, A. V. Ropot, R. E. Boshian

I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)

**Для цитирования:** Карамзин А. М., Ропот А. В., Бошнян Р. Е. Взаимосвязь муколитической бактерии *Akkermansia muciniphila* с колоректальным раком. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2020;178(6): 158–165. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-178-6-158-165

**For citation:** Karamzin A. M., Ropot A. V., Boshian R. E. Relationship of the mucin-degrading bacterium *Akkermansia muciniphila* with colorectal cancer. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2020;178(6): 158–165. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-178-6-158-165

✉ **Corresponding author:**

**Карамзин****Андрей Михайлович**

Andrei M. Karamzin

karamzin\_a\_m@staff.sechenov.ru

**Карамзин Андрей Михайлович**, к.б.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Института общественного здоровья имени Ф. Ф. Эрисмана**Ропот Анастасия Владимировна**, студент 6 курса Международной школы «Медицина будущего»**Бошнян Роман Евгеньевич**, к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Института общественного здоровья имени Ф. Ф. Эрисмана**Andrei M. Karamzin**, Cand. of Biol. Sci., Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology and Immunology; ORCID: 0000-0002-1911-5954**Anastasiia V. Ropot**, student of the International school "Medicine of the Future"; ORCID: 0000-0002-6939-7558**Roman E. Boshian**, Cand. of Med. Sci., Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology and Immunology; ORCID: 0000-0003-4789-4964

## Резюме

Колоректальный рак — заболевание, занимающее далеко не последнее место в статистике заболеваемости в Российской Федерации и в мире. Наряду с широко известными факторами риска развития данной патологии отмечается возможное участие в этом процессе некоторых представителей кишечной микробиоты. Так, в некоторых исследованиях предполагается, что с развитием колоректального рака взаимосвязана бактерия, способная расщеплять муцины, — *Akkermansia muciniphila*, однако другие работы подвергают это утверждение сомнению. В настоящем обзоре мы описываем ряд исследований, посвящённых определению зависимости наличия колоректального рака от количества *A. muciniphila*, взаимосвязи этой бактерии с развитием воспаления как предиктора онкогенеза, влиянию других представителей кишечной микробиоты на её функции, а также описываем один из возможных механизмов, связывающих способность этой бактерии расщеплять муцины с развитием онкогенеза.

**Ключевые слова:** *Akkermansia muciniphila*, колоректальный рак, кишечный микробиом, язвенный колит, болезнь Крона, муцины, кишечный слизистый барьер, опухоль

## Summary

Colorectal cancer is a disease that is far from the last place in the morbidity statistics in the Russian Federation and in the world. Along with well-known risk factors for the development of this pathology, some representatives of the intestinal microbiota are possible to participate in this process. Some studies suggest that *Akkermansia muciniphila*, a mucin-degrading bacterium, is associated with colorectal cancer development, but other studies cast doubt on this statement. In this review, we describe a series of studies devoted to determining the dependence of colorectal cancer on the amount of *A. muciniphila*, the relationship of this bacterium with inflammation development as a predictor of oncogenesis, the influence of other representatives of the intestinal microbiota on its function, and also describe one of the possible mechanisms linking the mucin-degrading ability of this bacterium with the development of oncogenesis.

**Keywords:** *Akkermansia muciniphila*, colorectal cancer, gut microbiome, ulcerative colitis, Crohn's disease, mucins, gut mucous barrier, tumor

## Введение

Колоректальный рак (КРР) является одним из наиболее часто диагностируемых злокачественных новообразований в мире, приводящим к более чем полумиллиону смертей ежегодно [1]. В РФ рак ободочной и рак прямой кишки (с учетом ректосигмоидного соединения и ануса) находятся на 4 и 7 месте соответственно в структуре онкологической заболеваемости на 2018 год, при этом у мужчин они расположены на 5 (6,6%) и 6 (5,5%) месте, а у женщин на 4 (7,2%) и 8 (4,5%), соответственно [2]. Существенные факторы риска развития КРР включают диеты, богатые красным мясом и мясной продукцией, употребление алкоголя и хроническое воспаление желудочно-кишечного тракта [3–6]. Каждый из этих факторов тесно связан с изменениями в составе и функции кишечного микробного сообщества, которое способствует функционированию различных физиологических процессов, связанных с онкогенезом, включая пролиферацию клеток, ангиогенез и апоптоз [7–10]. В связи с этим, было бы логично предположить, что состав, структура и функциональные возможности кишечного микробиома напрямую влияют на развитие опухолей, а его дисбиоз может приводить как к увеличению популяций бактерий, способствующих развитию рака, так и к потере

защитных популяций. Таким образом, понимание динамики изменений микробиома имеет большое значение для понимания процесса развития кишечных опухолей.

Одним из представителей кишечного микробиома человека является расщепляющая муцины бактерия *Akkermansia muciniphila*, относящаяся к типу *Verrucomicrobia*, впервые выделенная из образца человеческих фекалий в 2004 году в Вагенингенском университете, Нидерланды [11]. На её долю приходится от 1 до 4% кишечных бактерий у взрослых [12]. И хотя на сегодняшний день эта бактерия рассматривается как многообещающий пробиотик нового поколения (благодаря её способности противодействовать неблагоприятным эффектам диеты с высоким содержанием жиров и обратной корреляции с метаболическим синдромом и сахарным диабетом 2 типа [13, 14]), существуют данные, говорящие о её связи с развитием КРР.

В настоящем обзоре мы приводим данные из различных исследований, касающихся взаимосвязи *A. muciniphila* с КРР, воспалением кишечника как предвестником развития КРР и взаимоотношений с другими членами кишечного микробного сообщества, поскольку микробное окружение может значительно влиять на функции бактерий.

## Изменение количества *A. muciniphila* у людей с КРР

Существует целый ряд исследований, в которых говорится о прямой взаимосвязи между количеством *A. muciniphila* в кишечнике и наличием КРР. Так, в исследовании T. L. Weir и соавт. в образцах фекалий, взятых у больных с диагностированным раком толстой кишки, бактерий вида *A. muciniphila* оказалось в среднем в 3,6 раза больше, чем у контрольной группы, состоявшей из здоровых добровольцев [15]. Авторы предположили, что причиной этому могла послужить чрезмерная экспрессия муцинов MUC1 и MUC5AC в слизистой оболочке кишечника больных КРР [16], поскольку *A. muciniphila*, являясь муцинразлагающей бактерией, может использовать их как субстрат для получения энергии.

Важно отметить, что большинство (90%) случаев КРР возникает из доброкачественных аденоматозных полипов [17]. Поэтому было бы логично предположить, что количество *A. muciniphila* при их наличии будет изменено подобно тому, как оно меняется в случае с КРР. Действительно, в исследовании N. Sanapareddy и соавт. анализ микробного состава биопсийного материала показал, что у пациентов с аденоматозными полипами относительное содержание типа *Verrucomicrobia* было выше, чем у контрольной группы здоровых добровольцев [18].

Противоположные результаты показало исследование L. Farhana и соавт., в котором были изучены различия в составе кишечной микробиоты у афроамериканцев и представителей европеоидной расы [19]. Известно, что КРР значительно чаще встречается у афроамериканцев, тогда как у латиноамериканцев, белых людей нелатиноамериканского происхождения, азиатов и выходцев

с тихоокеанских островов он встречается реже [20]. В исследование было включено 52 афроамериканца и 46 европеоидов мужского пола без активных злокачественных заболеваний, воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) или инфекционных процессов. По результатам ПЦР с ДНК, выделенными из материала, полученного в ходе колоноскопии, содержание *A. muciniphila* у афроамериканцев составило всего 0,04%, что в 47,5 раз меньше, чем у европеоидов (1,9%). Также у европеоидов было значительно выше богатство и разнообразие кишечной микробиоты. Тем не менее, эти результаты не позволяют полностью опровергнуть утверждение о прямой корреляции между количеством *A. muciniphila* и развитием КРР, поскольку в исследовании были включены только здоровые люди. Однако нельзя исключать, что именно небольшое количество *A. muciniphila* в кишечнике здоровых афроамериканцев может послужить основой для более частого развития КРР у этой расы.

Интересные результаты были получены в исследовании взаимосвязи между дефицитом белка Pten в кишечных эпителиальных клетках и опухолевым генезом [21]. Pten – фосфатазный и тензиновый гомолог, являющийся опухолевым супрессором. Его активация прерывает сигнальные пути, опосредованные фосфатидилинозитол-3-киназой (PI3K) и протеинкиназой B (Akt) [22]. И наоборот, нарушение функции Pten способствует активации этих сигнальных путей, что приводит к усилению пролиферации и выживаемости клеток и, в конечном итоге, к онкогенезу. В частности, пониженная экспрессия Pten наблюдалась у пациентов с КРР [23].

Кроме того, было показано, что мутации в гене *Pten* могут способствовать первичному развитию у людей рака толстой кишки [24, 25] и связаны с плохим прогнозом у пациентов с раком прямой кишки [26].

В настоящем исследовании морфология эпителиоцитов толстой кишки у мышей с нокаутом по гену *Pten* ( $Pten^{\Delta IEC/\Delta IEC}$ ) характеризовалась наличием атипичных ядер с увеличенными хроматидами и хромосомной нерегулярностью, в то время как у контрольных мышей без нокаута по гену *Pten* ( $Pten^{+/+}$ ) были обнаружены нормальные столбчатые эпителиальные клетки с интактным межклеточным взаимодействием. Вдобавок, в тканях толстой кишки мышей  $Pten^{\Delta IEC/\Delta IEC}$  была повышена экспрессия маркера пролиферации Ki-67 и ядерного антигена пролиферирующих клеток (PCNA), а также увеличена активация Akt. Эти наблюдения показывают, что потеря гена *Pten* увеличивает митотическую активность эпителиальных клеток кишечника, однако одной только делеции *Pten* недостаточно для развития опухоли, что подтверждают и другие исследования [27–29]. Тем не менее, скрытая способность дефицита *Pten* стимулировать развитие опухолей всё же была обнаружена у мышей  $Pten^{\Delta IEC/\Delta IEC}$ ;  $Apc^{\min/+}$ , полученных путём скрещивания мышей  $Pten^{\Delta IEC/\Delta IEC}$  с мышами  $Apc^{\min/+}$ , у которых есть точечная мутация в гене *Apc*, что делает их моделью семейного аденоматозного полипоза человека. Это побудило авторов искать объяснение, почему одна только делеция гена *Pten* не вызывает развитие опухоли кишечника, по крайней мере, у мышей.

Во-первых, было обнаружено, что делеция гена *Pten* у мышей  $Pten^{\Delta IEC/\Delta IEC}$  приводила к уменьшению экспрессии генов, способствующих развитию опухоли, и усилению экспрессии опухолевых супрессоров. Во-вторых, анализ бактериального состава фекалий мышей  $Pten^{\Delta IEC/\Delta IEC}$  и контрольных мышей  $Pten^{+/+}$ , которых с рождения содержали вместе, показал значительную разницу в количестве бактерий типа *Verrucomicrobia*, а именно вида *A. muciniphila* (2.88% у  $Pten^{\Delta IEC/\Delta IEC}$  против 28.61% у  $Pten^{+/+}$ ). Установлено, что благодаря своей способности разрушать структуры слизистого слоя, вырабатываемого бокаловидными клетками и выполняющего роль диффузного кишечного барьера [13], *A. muciniphila* может выступать в качестве патобионта для развития патологических состояний, тогда как уменьшение её численности у мышей  $Pten^{\Delta IEC/\Delta IEC}$ , по мнению авторов, снижает расщепление слизи и способствует созданию подавляющего опухоль микроокружения. Однако мы полагаем, что для подтверждения защитной роли низкого количества *A. muciniphila* у мышей  $Pten^{\Delta IEC/\Delta IEC}$  необходимо сравнивать его с количеством *A. muciniphila* у мышей  $Pten^{\Delta IEC/\Delta IEC}$ ;  $Apc^{\min/+}$ , у которых гарантированно развиваются опухоли, а не с контрольной группой здоровых  $Pten^{+/+}$ , у которых они не развиваются.

Эпидемиологические исследования показывают, что с риском развития рака толстой кишки связано потребление гема (соединения порфирина с железом, присутствующего в красном мясе) [30, 31]. Также было показано, что, когда грызуны потребляют гем, содержащее их толстой кишки становится более цитотоксичным [32, 33] и повреждает поверхностные клетки эпителия,

иницируя гиперпролиферацию, которая вместе с подавлением апоптоза приводит к гиперплазии [33], что в конечном итоге может перерасти в KPP [34]. Помимо цитотоксического действия, гем способен изменять состав кишечной микробиоты [35], которая, в свою очередь, может регулировать уровень окислительного стресса. Окислительный стресс вызывает образование перекисных липидов, которые вступают в реакцию с гемом с образованием цитотоксического фактора [32, 36]. Гиперпролиферация, вызываемая этим фактором, сочетается с ухудшением функции слизистого барьера и повышает контакт колоноцитов с микробиотой и токсическими веществами [36]. В исследовании N. Jssennagger и соавт. изучалось, являются ли бактерии причиной вызываемой гемом цитотоксичности и гиперпролиферации [37]. Для этого использовали четыре группы мышей: группу, получавшую гем («Г»), группу, получавшую гем и антибиотики («Г + АБ»), контрольную группу («К») и контрольную группу, получавшую антибиотики («К + АБ»). Антибиотикотерапия включала в себя ампициллин, неомицин и метронидазол. У обеих групп, получавших гем, были повышены содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и цитотоксичность фекальной воды. По сравнению с группой «Г», в группе «Г + АБ» антибиотики сильно (в 100–1000 раз) снизили плотность микробиоты, но лишь незначительно снизили цитотоксичность (в 2 раза) и содержание продуктов ПОЛ (в 1,3 раза), поэтому авторы посчитали маловероятным, что бактерии играют в этом основную роль. По сравнению с группой «К», в группе «Г» была увеличена глубина крипт вследствие гиперпролиферации, а также снижена экспрессия опухолевых супрессоров и повышена экспрессия онкогенов и регуляторов клеточного цикла. У группы «Г + АБ» приём антибиотиков полностью восстановил морфологию тканей, а также подавил гиперпролиферацию и гиперплазию до уровней, наблюдавшихся в контрольных группах. Эти данные говорят о том, что для индуцированной гемом гиперпролиферации и гиперплазии требуется наличие кишечной микробиоты.

Тот факт, что в группе «Г + АБ» цитотоксичность хоть и присутствовала, но не вызывала гиперпролиферацию, позволяет говорить о том, что цитотоксический фактор гема не добрался через слизистый барьер до эпителиальных клеток. Значит, антибиотики, снизив общее количество бактерий, каким-то образом повысили барьерную функцию слизи. Примечательно, что в группе «Г» количество муколитической *A. muciniphila* было увеличено в восемь раз по сравнению с группой «К», тогда как антибиотики в группах «К + АБ» и «Г + АБ» уменьшили её количество более чем в 1000 раз. Был сделан вывод, что снижение количества *A. muciniphila* предотвратило чрезмерное расщепление слизи и сохранило целостность слизистого барьера. Эти результаты совпадают с результатами вышеупомянутого исследования С. Howe и соавт. Тем не менее, для дополнительного подтверждения положительного влияния низкого количества *A. muciniphila* на целостность слизистого слоя необходима морфологическая оценка его толщины.

## Взаимосвязь между *A. muciniphila*, воспалением и КРР

Связь между воспалением и раком хорошо известна, и пациенты с ВЗК подвергаются большему риску развития КРР в течение жизни [38]. В частности, КРР может быть следствием язвенного колита (ЯК) и болезни Крона (БК) [39, 40]. Поэтому определение зависимости количества *A. muciniphila* от этих состояний представляет большой интерес.

В исследовании с участием пациентов с активным и неактивным ЯК было показано, что у первой группы количество *A. muciniphila* было снижено по сравнению с контрольной группой и ассоциировалось с более высокой степенью воспаления [41]. В другом исследовании с участием пациентов с БК и ЯК количество *A. muciniphila* было снижено в 92 раза в невоспалённых и в 172 раза в воспалённых участках кишечника при ЯК, а также в 4,7 раза в невоспалённых и в 14,8 раза в воспалённых участках кишечника при БК по сравнению с контрольной группой [42]. Предполагается, что *A. muciniphila* обладает защитными, противовоспалительными свойствами у здоровых людей, которые утрачиваются при возникновении ЯК и БК вместе со снижением её количества.

В исследовании X. Zhou и соавт. было показано влияние количества *A. muciniphila* на структуру ткани кишечника в зависимости от витамина D [43]. Известно, что существует сильная обратная корреляция между количеством витамина D и КРР [44]. Однако причина этого оставалась неизвестной. Для её определения авторы сравнивали между собой здоровых мышей и мышей с КРР, для развития которого использовалась хорошо известная мышьяная модель АОМ/DSS, которая повторяет прогрессирование от хронического воспаления

до дисплазии и аденокарциномы у людей [45]. Обе группы мышей получали витамин D3 в разных дозировках, а также были группы, не получавшие его.

По сравнению со здоровыми мышами, у мышей с КРР (в особенности у группы, не получавшей витамин D3) была повышена экспрессия интерлейкина-6 (ИЛ-6) и фактора некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) в ткани ободочной кишки, а морфологическое исследование тканей толстой кишки выявило инфильтрацию слизистой оболочки воспалительными клетками и гиперплазию соединительной ткани. Однако в присутствии витамина D структура каждого слоя была относительно чёткой, наблюдался только лёгкий отёк, а воспаление отсутствовало. У здоровых мышей ткани толстой кишки были интактны. Структура микробного сообщества у мышей с КРР, получавших витамин D3 в максимальной дозировке, оказалась максимально приближенной, а у мышей с КРР, не получавших его, – максимально отдалённой от таковой у здоровых мышей. На уровне наиболее зависящим от витамина D оказался вид *A. muciniphila*. У мышей с КРР его относительное содержание в толстой кишке было выше, чем у здоровых. И в той, и в другой группе оно значительно увеличивалось с увеличением дозы витамина D. Также витамин D увеличивал экспрессию MUC2. Учитывая, что приём витамина D, наряду с увеличением количества *A. muciniphila*, способствовал восстановлению структуры кишечной стенки и снижению уровней провоспалительных медиаторов, можно предположить, что *A. muciniphila* действует в отношении КРР не как патогенный, а как защитный фактор.

## Влияние других представителей кишечной микробиоты на функцию *A. muciniphila*

Поскольку *A. muciniphila* – один из многих представителей кишечной микробиоты, было бы разумно предположить, что в развитии КРР может играть роль не только она одна, а целая группа бактерий. Однако кишечное микробное сообщество является чрезвычайно сложным и разнообразным, поэтому маловероятно, что у всех пациентов с КРР будет найден один КРР-ассоциированный микробиом. Чтобы это проверить, растворённые образцы кала от трёх здоровых людей (H1, H2, H3) и трёх пациентов с карциномой толстой кишки (C1, C2, C3) были введены шести группам подходящих по возрасту стерильных мышей C57BL/6 [46]. Спустя три недели после введения этого инокулята мыши проходили модель АОМ/DSS, чтобы определить, будут ли разные структуры микробных сообществ ассоциироваться с разным количеством опухолей.

Получившиеся микробные составы в группах имели разные уровни сходства с инокулятами, однако у каждой группы развивалось стабильное, индивидуальное кишечное микробное сообщество. Количество опухолей значительно различалось между группами, причём эти различия были связаны с бактериальным составом инокулятов и не

зависели от наличия рака у донора. Среди оперативных таксономических единиц (ОТЕ), коррелирующих с высоким числом опухолей, были бактерии родов *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Alistipes* и вида *A. muciniphila*. Эти результаты показывают, что относительное количество специфических ОТЕ в исходном микробном сообществе может быть связано с количеством опухолей. Важно отметить, что по мере прохождения модели АОМ/DSS микробиомы групп с самым высоким количеством опухолей (H2, C3) изменились очень мало, в то время как микробиомы групп с самым низким количеством опухолей (C2, H3, C1) изменились существенно, т.е. чем ближе исходный состав микробного сообщества был к конечному, «онкогенному», тем больше опухолей возникало у хозяина.

Факт развития у каждой группы мышей своего индивидуального микробиома и независимости количества опухолей от их наличия у донора свидетельствуют о том, что не существует единой бактериальной популяции или единого микробиома, ассоциированного с развитием КРР. Несмотря на то, что некоторые бактерии, в частности, *A. muciniphila*, могут в большем количестве присутствовать при

КРР, необходимо оценивать всю структуру микробиома, поскольку присутствие одних бактерий может оказывать значимое влияние на функционирование других.

Так, например, в исследовании С. Dingemans и соавт. были обнаружены различия в действии *A. muciniphila* на развитие опухолей и толщину слизистого барьера в зависимости от наличия *Helicobacter typhlonius* [47]. Авторы проводили эксперименты с мышами *Fabp1Cre; Apc<sup>15lox/+</sup>*, которые имеют ген-супрессор опухолевого роста *Apc* дикого типа во всех клетках, кроме *Fabp1Cre*-экспрессирующих эпителиальных клеток дистального отдела тонкой и толстой кишки. У них развиваются доброкачественные опухоли с преимущественной локализацией в толстой кишке, как у человека при КРР, связанном с семейным аденоматозным полипозом, и спорадическом КРР. Сначала авторы обнаружили, что у группы мышей, выращенных в условиях с низким содержанием патогенов, средняя частота возникновения колоректальных опухолей была значительно ниже (27%), чем у другой группы, которая была выращена в тех же условиях, но затем получила бактерии от мышей, выращенных в обычных условиях (т.е. с высоким уровнем патогенов). В образцах фекалий второй группы мышей («обычных») отмечалось 70000-кратное увеличение содержания *H. typhlonius* и 7000-кратное увеличение содержания *A. muciniphila*. Это позволило предположить, что за частоту возникновения кишечных опухолей ответственны именно эти два вида бактерий. Снижение количества опухолей при наличии антибиотикотерапии (амоксциллин, метронидазол, кларитромицин) подтвердило эту мысль.

Интересно, что до начала антибиотикотерапии *H. typhlonius* обнаруживались у всех мышей, тогда как *A. muciniphila* присутствовали лишь у нескольких. При этом среднее количество опухолей у мышей, положительных по *H. typhlonius*, но отрицательных по *A. muciniphila*, составило 23,4, а у *H. typhlonius*-, *A. muciniphila*-положительных мышей – 11,7. Было выдвинуто предположение, что раннее присутствие *A. muciniphila* в кишечнике положительно влияло на прогноз возникновения опухолей, в том числе колоректальных. Однако позднее на другой группе мышей с низким содержанием патогенов было показано, что введение *H. typhlonius* и *A. muciniphila* по отдельности привело к возникновению 20,1 и 23,5 опухолей, соответственно, тогда как одновременное введение этих видов вызвало развитие всего 14,8 опухолей, что было сопоставимо с их количеством в контрольной группе, получавшей только фосфатно-солевой буфер. Таким образом, большое количество опухолей у мышей, которым вводили только *A. muciniphila*,

опровергло предположение о её положительном влиянии на прогноз, однако неожиданно низкое число опухолей у мышей, получавших одновременно *A. muciniphila* и *H. typhlonius*, позволило думать о том, что эти бактерии действуют иначе при совместной колонизации кишечника, что указывает на их дуалистический эффект. Также было замечено, что толщина слизистого слоя имела прямую корреляцию с количеством опухолей, поэтому авторы сделали вывод, что её увеличение усугубляет течение болезни.

Другим примером бактериальных взаимоотношений является исследование, в котором мышам с упрощённой кишечной микробиотой человека (SIHUMI) для инициации воспаления вводили *A. muciniphila* и *Salmonella enterica* серовар Typhimurium вместе (мыши SIHUMI-AS) или по отдельности (мыши SIHUMI-A и SIHUMI-S, соответственно) [48]. Воспалительные изменения слепой кишки и экспрессия провоспалительных медиаторов в слепой и толстой кишке у мышей SIHUMI-AS были гораздо выраженнее, чем у мышей SIHUMI-S, тогда как у мышей SIHUMI и SIHUMI-A слепая кишка осталась интактной. Эти данные указывают на то, что *A. muciniphila* усугубляет симптомы воспаления слепой кишки, вызванного инфекцией *S. Typhimurium*. Одним из возможных объяснений такого эффекта авторы посчитали способность *A. muciniphila* разрушать слизистый барьер, что, в свою очередь, усиливает воздействие *S. Typhimurium* на слизистую оболочку. Подтверждением этому служило обнаруженное снижение толщины слизистого слоя у мышей SIHUMI-AS, в то время как у SIHUMI-A его толщина была наибольшей.

Таким образом, согласно результатам этого исследования, *A. muciniphila* – комменсальный микроорганизм, однако в определённых условиях (в случае присутствия *S. Typhimurium*) может превращаться в патобионта и усугублять воспаление кишечника, опосредуемое *S. Typhimurium*. Это исследование – впечатляющий пример того, как член сообщества меняет свою роль в присутствии патогена.

Взаимоотношения *A. muciniphila* с другими представителями кишечной микробиоты также показаны в исследовании С. W. Png и соавт., в котором культивирование *A. muciniphila in vitro* совместно с немуколитической бактерией *Bacteroides vulgatus* приводило к разрушению 38% MUC2 и увеличению роста *B. vulgatus* в 3,9 раза, тогда как в отсутствие *A. muciniphila* рост *B. vulgatus* снижался на 10% [42]. Это говорит о том, что повышенная деградация MUC2 в совместной культуре привела к появлению более пригодного к использованию субстрата для *B. vulgatus*.

## Прицельный взгляд на процесс расщепления компонентов слизистого барьера бактерией *A. muciniphila*

Во многих описанных нами исследованиях отрицательное воздействие *A. muciniphila* на организм хозяина объясняется её способностью расщеплять муцины, что нарушает барьерную

функцию кишечника, создаёт питательный субстрат для других бактерий, в том числе патогенных, и облегчает им доступ к эпителию [21, 37, 42, 48]. Вместе с тем, в ряде работ описано, что

*A. muciniphila* увеличивает толщину слизистого слоя [47, 48]. Косвенным подтверждением этого служит прямая корреляция между экспрессией MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC и количеством *A. muciniphila* [16, 37, 43]. И действительно, было доказано, что *A. muciniphila* стимулирует выработку муцинов [49, 50].

Одним из основных ферментов, с помощью которых *A. muciniphila* расщепляет компоненты слизистого слоя, является  $\beta$ -галактозидаза Amuc\_1686. Она обладает гидролитической активностью в отношении галакто-N-биозы (Gal $\beta$ 1-3GalNAc) [51]. Этот тип гликозидной связи широко распространён в кишечнике человека. Однако из-за способности разлагать муцины свойства *A. muciniphila*, способствующие укреплению здоровья кишечника, кажутся противоречивыми. В связи с этим очень важным фактором является способность некоторых фосфолипидов ингибировать действие Amuc\_1686 [51], что снижает его гидролитическую активность в отношении специфических муциноподобных структур, играющих ключевую роль во многих событиях, происходящих в процессе апоптоза. В частности, специфические муциноподобные структуры на поверхности апоптотических клеток необходимы для межклеточных взаимодействий

дендритными клетками и макрофагами [52]. К ним относится сиалогликопротеин CD43, также известный как лейкосиалин, [53] который способствует образованию структур-мишеней для связывания макрофагами [54]. В связи с этим большое количество Amuc\_1686 может нарушать процесс апоптоза. Однако одним из первых событий в этом процессе является экспозиция фосфатидилсерина на внешней стороне мембраны [55, 56]. Его взаимодействие с Amuc\_1686 снижает активность фермента в участках с повышенным количеством апоптотических клеток или повреждённых тканей, что улучшает регенерацию и заживление повреждений.

Другие фосфолипиды – фосфатидиловая и лизофосфатидиловая кислоты – могут присутствовать в районе апоптотических клеток, возникая на поверхности небольших микровезикул [57]. Таким образом, они могут действовать как чувствительные ингибиторы Amuc\_1686, приводя к защите слизистого слоя толстой кишки в областях раздражения, повреждения или инфекции. Нарушение этого механизма в силу каких-либо причин может способствовать повышению активности Amuc\_1686 и нарушению процесса апоптоза, что может стать пусковым фактором для развития онкогенеза.

## Обсуждение

С момента открытия в 2004 году *A. muciniphila* подвергается изучению на предмет воздействия на различные системы организма человека. Многие исследования установили, что при КРР количество *A. muciniphila* увеличивается [15, 18]. И наоборот, его снижение противодействует развитию опухолей вследствие уменьшения разрушения структур слизистого барьера кишечника [21, 37]. Тем не менее, есть работы, противоречащие этим результатам. Так, количество *A. muciniphila* было снижено у афроамериканцев, которые больше подвержены развитию КРР [19]. А в исследовании X. Zhou и соавт. *A. muciniphila* хоть и была повышена у мышей модели AOM/DSS, но способствовала восстановлению структуры слизистой оболочки кишечника [43].

Учитывая, что КРР может развиваться вследствие воспаления, большой интерес представляла оценка способности *A. muciniphila* влиять на его возникновение. Однако в ряде исследований количество *A. muciniphila* при ВЗК оказалось снижено [41, 42], а в исследовании X. Zhou и соавт. повышение содержания *A. muciniphila* у мышей модели AOM/DSS способствовало уменьшению воспалительных проявлений в кишечной стенке [43].

Не стоит забывать, что структура кишечного микробного сообщества невероятно сложна, и нельзя связывать развитие КРР с одним определённым микроорганизмом или с одной-единственной структурой микробиома. Так, у мышей, получавших бактерии от разных людей, развивались собственные неповторимые кишечные сообщества, а развитие опухолей не зависело от их наличия у людей [46]. И хотя у мышей с наибольшим числом опухолей было повышено содержание *A. muciniphila*, стоит помнить, что зачастую функционирование одних микроорганизмов опре-

деляется их взаимодействием с другими, как было показано при введении мышам *A. muciniphila* одновременно с *H. typhlonius* [47], и с *S. Typhimurium* [48].

Многие авторы объясняют отрицательные эффекты *A. muciniphila* её муколитической способностью, однако было также обнаружено, что она стимулирует выработку муцинов [49, 50]. Возможно, это происходит вследствие компенсаторной стимуляции секреции слизи бокаловидными клетками в силу её повышенного расщепления. Одним из основных муколитических ферментов *A. muciniphila* является Amuc\_1686. Он разрушает гликозидные связи Gal $\beta$ 1-3GalNAc, в избытке присутствующие в кишечнике человека. В частности, они обнаруживаются в муциноподобных структурах, участвующих в апоптозе, и, если бы не ингибирующее действие фосфолипидов, их чрезмерное разрушение ферментом Amuc\_1686 приводило бы к нарушению этого процесса. Однако можно предположить, что если этот механизм перестанет работать (например, при повышении количества Amuc\_1686 вследствие увеличения содержания *A. muciniphila*), то процесс апоптоза и регенерации тканей нарушится, что в дальнейшем может спровоцировать онкогенез.

Таким образом, несмотря на очевидную взаимосвязь между количеством *A. muciniphila* и наличием КРР, остаётся неясным, является ли изменение количества причиной или следствием развития КРР. Одним из способов решения этого вопроса может стать многолетнее наблюдение за большой группой добровольцев с периодическим определением у них состава кишечной микробиоты и количества *A. muciniphila*, в частности, и оценкой частоты возникновения КРР у людей с разным уровнем содержания этой бактерии.

## Литература | References

1. *Parkin D. M., Bray F., Ferlay J., Pisani P.* Global cancer statistics // *CA Cancer J Clin.* – 2005. – Vol. 55, № 2. – P. 74–108.
2. *Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. (ред.)* Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). – Москва: МНИОИ им. П. А. Герцена филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2019.  
*Kaprin A. D., Starinsky V. V., Petrova G. V.* Malignant neoplasms in Russia in 2018 (incidence and mortality). – Moscow: MNII them. P. A. Herzen, a branch of the Federal State Budgetary Institution Scientific Research Center for Radiology, Ministry of Health of Russia, 2019.
3. *Chambers W. M., Warren B. F., Jewell D. P., Mortensen N. J.* Cancer surveillance in ulcerative colitis // *Br J Surg.* – 2005. – Vol. 92, № 8. – P. 928–936.
4. *Huxley R. R., Ansary-Moghaddam A., Clifton P. et al.* The impact of dietary and lifestyle risk factors on risk of colorectal cancer: a quantitative overview of the epidemiological evidence // *Int J Cancer.* – 2009. – Vol. 125, № 1. – P. 171–180.
5. *Larsson S. C., Raftar J., Holmberg L. et al.* Red meat consumption and risk of cancers of the proximal colon, distal colon and rectum: the Swedish Mammography Cohort // *Int J Cancer.* – 2005. – Vol. 113, № 5. – P. 829–834.
6. *Slattery M. L.* Diet, lifestyle, and colon cancer // *Semin Gastrointest Dis.* – 2000. – Vol. 11, № 3. – P. 142–146.
7. *Cheesman S. E., Neal J. T., Mittge E. et al.* Epithelial cell proliferation in the developing zebrafish intestine is regulated by the Wnt pathway and microbial signaling via Myd88 // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2011. – № 108, Suppl 1. – P. 4570–4577.
8. *Dolara P., Caderni G., Salvadori M. et al.* Fecal levels of short-chain fatty acids and bile acids as determinants of colonic mucosal cell proliferation in humans // *Nutr Cancer.* – 2002. – Vol. 42, № 2. – P. 186–190.
9. *Stappenbeck T. S., Hooper L. V., Gordon, J. I.* Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2002. – Vol. 99, № 24. – P. 15451–15455.
10. *Rakoff-Nahoum S., Medzhitov R.* Regulation of spontaneous intestinal tumorigenesis through the adaptor protein MyD88 // *Science.* – 2007. – Vol. 317, № 5834. – P. 124–127.
11. *Derrien M., Vaughan E. E., Plugge C. M., de Vos W. M.* *Akkermansia muciniphila* gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium // *Int J Syst Evol Microbiol.* – 2004. – Vol. 54, № 5. – P. 1469–1476.
12. *Collado M. C., Derrien M., Isolauri E. et al.* Intestinal integrity and *Akkermansia muciniphila*, a mucin-degrading member of the intestinal microbiota present in infants, adults, and the elderly // *Appl Environ Microbiol.* – 2007. – Vol. 73, № 23. – P. 7767–7770.
13. *Derrien M., Belzer C., de Vos W. M.* *Akkermansia muciniphila* and its role in regulating host functions // *Microb Pathog.* – 2017. – № 106. – P. 171–181.
14. *Ottman N., Geerlings S. Y., Aalvink S. et al.* Action and function of *Akkermansia muciniphila* in microbiome ecology, health and disease // *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* – 2017. – Vol. 31, № 6. – P. 637–642.
15. *Weir T. L., Manter D. K., Sheflin A. M. et al.* Stool microbiome and metabolome differences between colorectal cancer patients and healthy adults // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, № 8. – P. e70803.
16. *Byrd J. C., Bresalier R. S.* Mucins and mucin binding proteins in colorectal cancer // *Cancer Metastasis Rev.* – 2004. – Vol. 23, № 1–2. – P. 77–99.
17. *Lance P.* Recent developments in colorectal cancer // *J R Coll Physicians Lond.* – 1997. – Vol. 31, № 5. – P. 483–487.
18. *Sanapareddy N., Legge R. M., Jovov B. et al.* Increased rectal microbial richness is associated with the presence of colorectal adenomas in humans // *ISME J.* – 2012. – Vol. 6, № 10. – P. 1858–1868.
19. *Farhana L., Antaki F., Murshed F. et al.* Gut microbiome profiling and colorectal cancer in African Americans and Caucasian Americans // *World J Gastrointest Pathophysiol.* – 2018. – Vol. 9, № 2. – P. 47–58.
20. *Ashktorab H., Kupfer S. S., Brim H., Carethers J. M.* Racial Disparity in Gastrointestinal Cancer Risk // *Gastroenterology.* – 2017. – Vol. 153, № 4. – P. 910–923.
21. *Howe C., Kim S. J., Mitchell J. et al.* Differential expression of tumor-associated genes and altered gut microbiome with decreased *Akkermansia muciniphila* confer a tumor-preventive microenvironment in intestinal epithelial Pten-deficient mice // *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* – 2018. – Vol. 1864, № 12. – P. 3746–3758.
22. *Hsu F., Mao Y.* The structure of phosphoinositide phosphatases: Insights into substrate specificity and catalysis // *Biochim Biophys Acta.* – 2015. – Vol. 1851, № 6. – P. 698–710.
23. *Lin P. C., Lin J. K., Lin H. H. et al.* A comprehensive analysis of phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10 (PTEN) loss in colorectal cancer // *World J Surg Oncol.* – 2015. – № 13. – P. 186.
24. *Colakoglu T., Yildirim S., Kayaselcuk F. et al.* Clinicopathological significance of PTEN loss and the phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway in sporadic colorectal neoplasms: is PTEN loss predictor of local recurrence? // *Am J Surg.* – 2008. – Vol. 195, № 6. – P. 719–725.
25. *Zhou X. P., Loukola A., Salovaara R. et al.* PTEN mutational spectra, expression levels, and subcellular localization in microsatellite stable and unstable colorectal cancers // *Am J Pathol.* – 2002. – Vol. 161, № 2. – P. 439–447.
26. *Bohn B. A., Mina S., Krohn A. et al.* Altered PTEN function caused by deletion or gene disruption is associated with poor prognosis in rectal but not in colon cancer // *Hum Pathol.* – 2013. – Vol. 44, № 8. – P. 1524–1533.
27. *Choi Y. J., Jung J., Chung H. K. et al.* PTEN regulates TLR5-induced intestinal inflammation by controlling Mal/TIRAP recruitment // *FASEB J.* – 2013. – Vol. 27, № 1. – P. 243–254.
28. *Im E., Jung J., Pothoulakis C., Rhee S. H.* Disruption of Pten speeds onset and increases severity of spontaneous colitis in *Il10(-/-)* mice // *Gastroenterology.* – 2014. – Vol. 147, № 3. – P. 667–679.e10.
29. *Langlois M. J., Roy S. A., Auclair B. A. et al.* Epithelial phosphatase and tensin homolog regulates intestinal architecture and secretory cell commitment and acts as a modifier gene in neoplasia // *FASEB J.* – 2009. – Vol. 23, № 6. – P. 1835–1844.
30. *Lee D. H., Anderson K. E., Harnack L. J. et al.* Heme iron, zinc, alcohol consumption, and colon cancer: Iowa Women's Health Study // *J Natl Cancer Inst.* – 2004. – Vol. 96, № 5. – P. 403–407.
31. *Balder H. F., Vogel J., Jansen M. C. et al.* Heme and chlorophyll intake and risk of colorectal cancer in the Netherlands cohort study // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2006. – Vol. 15, № 4. – P. 717–725.

32. Sesink A.L., Termont D.S., Kleibeuker J.H., Van der Meer R. Red meat and colon cancer: the cytotoxic and hyperproliferative effects of dietary heme // *Cancer Res.* – 1999. – Vol. 59, № 22. – P. 5704–5709.
33. Ijssennagger N., Rijniere A., de Wit N. et al. Dietary haem stimulates epithelial cell turnover by downregulating feedback inhibitors of proliferation in murine colon // *Gut.* – 2012. – Vol. 61, № 7. – P. 1041–1049.
34. Kinzler K.W., Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer // *Cell.* – 1996. – Vol. 87, № 2. – P. 159–170.
35. Ijssennagger N., Derrien M., van Doorn G. M. et al. Dietary heme alters microbiota and mucosa of mouse colon without functional changes in host–microbe cross-talk // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7, № 12. – P. e49868.
36. Ijssennagger N., Rijniere A., de Wit N. J. et al. Dietary heme induces acute oxidative stress, but delayed cytotoxicity and compensatory hyperproliferation in mouse colon // *Carcinogenesis.* – 2013. – Vol. 34, № 7. – P. 1628–1635.
37. Ijssennagger N., Belzer C., Hooiveld G. J. et al. Gut microbiota facilitates dietary heme–induced epithelial hyperproliferation by opening the mucus barrier in colon // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2015. – Vol. 112, № 32. – P. 10038–10043.
38. Ullman T.A., Itzkowitz S. H. Intestinal inflammation and cancer // *Gastroenterology.* – 2011. – Vol. 140, № 6. – P. 1807–1816.
39. Eaden J.A., Abrams K.R., Mayberry J. F. The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis // *Gut.* – 2001. – Vol. 48, № 4. – P. 526–535.
40. Canavan C., Abrams K.R., Mayberry J. Meta-analysis: colorectal and small bowel cancer risk in patients with Crohn's disease // *Aliment Pharmacol Ther.* – 2006. – Vol. 23, № 8. – P. 1097–1104.
41. Earley H., Lennon G., Balfe Á. et al. The abundance of *Akkermansia muciniphila* and its relationship with sulphated colonic mucins in health and ulcerative colitis // *Sci Rep.* – 2019. – Vol. 9, № 1. – P. 15683.
42. Png C.W., Lindén S. K., Gilshenan K. S. et al. Mucolytic bacteria with increased prevalence in IBD mucosa augment in vitro utilization of mucin by other bacteria // *Am J Gastroenterol.* – 2010. – Vol. 105, № 11. – P. 2420–2428.
43. Zhou X., Chen C., Zhong Y. N. et al. Effect and mechanism of vitamin D on the development of colorectal cancer based on intestinal flora disorder // *J Gastroenterol Hepatol.* – 2019. – Опубликовано онлайн до печати.
44. Jenab M., Bueno-de-Mesquita H.B., Ferrari P. et al. Association between pre-diagnostic circulating vitamin D concentration and risk of colorectal cancer in European populations: a nested case–control study // *BMJ.* – 2010. – Vol. 340, № b5500.
45. De Robertis M., Massi E., Poeta M. L. et al. The AOM/DSS murine model for the study of colon carcinogenesis: From pathways to diagnosis and therapy studies // *J Carcinog.* – 2011. – Vol. 10, № 9.
46. Baxter N.T., Zackular J. P., Chen G. Y., Schloss P. D. Structure of the gut microbiome following colonization with human feces determines colonic tumor burden // *Microbiome.* – 2014. – Vol. 2, № 20.
47. Dingemans C., Belzer C., van Hijum S. A. et al. *Akkermansia muciniphila* and *Helicobacter typhlonius* modulate intestinal tumor development in mice // *Carcinogenesis.* – 2015. – Vol. 36, № 11. – P. 1388–1396.
48. Ganesh B.P., Klopffleisch R., Loh G., Blaut M. Commensal *Akkermansia muciniphila* exacerbates gut inflammation in *Salmonella Typhimurium*–infected gnotobiotic mice // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, № 9. – P. e74963.
49. Shin NR, Lee JC, Lee HY, et al. An increase in the *Akkermansia* spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet–induced obese mice. *Gut.* 2014;63(5):727–735. doi:10.1136/gutjnl-2012-303839
50. Lee H., Ko G. Effect of metformin on metabolic improvement and gut microbiota // *Appl Environ Microbiol.* – 2014. – Vol. 80, № 19. – P. 5935–5943.
51. Kosciow K., Deppenmeier U. Characterization of a phospholipid–regulated  $\beta$ –galactosidase from *Akkermansia muciniphila* involved in mucin degradation // *Microbiologyopen.* – 2019. – Vol. 8, № 8. – P. e00796.
52. Ravichandran K. S. Find–me and eat–me signals in apoptotic cell clearance: progress and conundrums // *J Exp Med.* – 2010. – Vol. 207, № 9. – P. 1807–1817.
53. Piller F., Le Deist F., Weinberg K. I. Altered O–glycan synthesis in lymphocytes from patients with Wiskott–Aldrich syndrome // *J Exp Med.* – 1991. – Vol. 173, № 6. – P. 1501–1510.
54. Eda S., Yamanaka M., Beppu M. Carbohydrate–mediated phagocytic recognition of early apoptotic cells undergoing transient capping of CD43 glycoprotein // *J Biol Chem.* – 2004. – Vol. 279, № 7. – P. 5967–5974.
55. Stace C.L., Ktistakis N. T. Phosphatidic acid– and phosphatidylserine–binding proteins // *Biochim Biophys Acta.* – 2006. – Vol. 1761, № 8. – P. 913–926.
56. Yamaji–Hasegawa A., Tsujimoto M. Asymmetric distribution of phospholipids in biomembranes // *Biol Pharm Bull.* – 2006. – Vol. 29, № 8. – P. 1547–1553.
57. Fourcade O., Simon M. F., Vioché C. et al. Secretory phospholipase A2 generates the novel lipid mediator lysophosphatidic acid in membrane microvesicles shed from activated cells // *Cell.* – 1995. – Vol. 80, № 6. – P. 919–927.