



安徽医科大学学报

Acta Universitatis Medicinalis Anhui

ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目：食管鳞癌患者口腔和食管菌群分布特征
作者：孔金玉, 冯星月, 钱梦凡, 王健, 孙蔚, 刘怡文, 李若楠, 高社干
收稿日期：2026-02-24
网络首发日期：2026-05-12
引用格式：孔金玉, 冯星月, 钱梦凡, 王健, 孙蔚, 刘怡文, 李若楠, 高社干. 食管鳞癌患者口腔和食管菌群分布特征[J/OL]. 安徽医科大学学报.
<https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20260512.1348.006>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

食管鳞癌患者口腔和食管菌群分布特征

孔金玉¹, 冯星月¹, 钱梦凡¹, 王健², 孙蔚¹, 刘怡文¹, 李若楠¹, 高社干¹

(¹河南科技大学临床医学院, 河南科技大学第一附属医院, 洛阳肿瘤医院, 河南科技大学肿瘤研究所, 河南省微生态与食管癌防治重点实验室, 洛阳 471003; ²河南科技大学临床医学院, 河南科技大学第一附属医院影像中心, 洛阳 471003)

2026-02-24 接收

基金项目: 河南省医学科技攻关计划项目(编号: LHGJ20250560); 河南科技大学第一附属医院肿瘤学国家临床重点专科建设开放联合基金科技攻关项目(编号: ZLKFJJ20230504)

作者简介: 孔金玉, 女, 主治医师;

高社干, 男, 主任医师, 博士生导师, 通信作者, E-mail: gsg112258@163.com

摘要 **目的** 探讨食管鳞状细胞癌(ESCC)患者口腔和食管菌群的分布特征及其相关性。**方法** 纳入46例经病理确诊的ESCC患者, 采集其口腔和癌组织样本, 利用16S rRNA基因测序技术分析微生物组成, 并通过生物信息学方法比较2个部位的菌群多样性、组成差异及相关性。**结果** ESCC患者口腔菌群Alpha多样性显著高于自身食管菌群, 但2个部位整体群落构成相似。LEfSe分析显示螺旋体门、普雷沃菌属、卡托菌属、肠球菌属、牙周梭杆菌、小韦荣球菌、生痰二氧化碳噬纤维菌和微黄奈瑟球菌在ESCC患者癌组织中显著富集; 而放线菌门、变形菌门、链球菌属、奈瑟球菌属、嗜血杆菌属、缓症链球菌、副流感嗜血杆菌、牙龈卟啉单胞菌、溶血嗜血杆菌和坦纳普雷沃菌则在口腔中显著富集。相关性分析表明, 2个部位菌群在螺旋体门、密螺旋体属、挑食短链小球菌、猕猴奈瑟菌、噬淀粉密螺旋体、牙周梭杆菌和脑膜炎奈瑟球菌等分类水平上存在显著相关性($P<0.05$)。**结论** ESCC患者口腔与食管菌群既存在差异又具有相关性, 提示口腔微生物可能通过迁移或局部免疫调节参与食管微生态的塑造。

关键词 食管鳞状细胞癌; 微生态; 口腔菌群; 食管菌群; 生物多样性; 16S rRNA基因测序

中图分类号 R 735.1

文献标志码 A

Microbiota distribution in oral and esophageal sites of esophageal squamous cell carcinoma patients

Kong Jinyu¹, Feng Xingyue¹, Qian Mengfan¹, Wang Jian², Sun Wei¹, Liu Yiwen¹, Li Ruonan¹,
Gao Shegan¹

(¹Henan Key Laboratory of Microbiome and Esophageal Cancer Prevention and Treatment, Luoyang Cancer Hospital, Cancer Institute, The First Affiliated Hospital, and College of Clinical Medicine of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003; ²Department of Image Center, the First Affiliated Hospital, and College of Clinical Medicine of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003)

Abstract *Objective* To investigate the distribution characteristics and correlation of paired oral and esophageal microbiota in patients with esophageal squamous cell carcinoma (ESCC). *Methods* A total of 46 pathologically confirmed ESCC patients were enrolled, and oral swabs and cancerous tissue samples were collected. The microbial composition was analyzed using 16S rRNA gene sequencing, and bioinformatics methods were employed to compare the microbiota diversity, compositional differences, and correlations between the two sites. *Results* The Alpha diversity of the oral microbiota in ESCC patients was significantly higher than that of their esophageal microbiota, though the overall community structure was similar between the two sites. LEfSe analysis revealed that *Spirochaetes*, *Prevotella*, *Catonella*, *Enterococcus*, *Fusobacterium periodonticum*, *Veillonella parvula*, *Capnocytophaga sputigena*, and *Neisseria subflava* were significantly enriched in ESCC tumor tissues. In contrast, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Streptococcus*, *Neisseria*, *Haemophilus*, *Streptococcus mitis*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Porphyromonas gingivalis*, *Haemophilus haemolyticus*, and *Prevotella tannerae* were significantly enriched in the oral cavity. Correlation analysis demonstrated significant associations between the two sites at taxonomic levels such as *Spirochaetes*, *Treponema*, *Granulicatella elegans*, *Neisseria macacae*, *Treponema amylovorum*, *Fusobacterium periodonticum*, and *Neisseria meningitidis* ($P < 0.05$). *Conclusion* The oral and esophageal microbiota in ESCC patients exhibit both distinct differences and similarities. Oral microbiota may influence the esophageal microenvironment through migration or local immune modulation.

Key words esophageal squamous cell carcinoma; microbiota; oral microbiota; esophageal microbiota; microbial diversity; 16S rRNA gene sequencing

Fund programs Medical Science and Technology Research Plan Project of Henan Province (No. LHGJ20250560); Key Research and Development Project of the Open Joint Fund for the Construction of the National Clinical Key Specialty in Oncology, the First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology (No. ZLKFJJ20230504)

Corresponding author Gao Shegan, E-mail: gsg112258@163.com

人类口腔作为消化系统的起始部位,其微生物组成具有极高的丰度和多样性,在口腔内发现的微生物的集体基因组称为口腔微生物组^[1]。食管邻近口腔,传统认为食管微生物来源于口腔和胃,近年来发现食管黏膜存在定植菌^[2-3]。由于口腔与食管在解剖结构上直接相连,其微生物群落可能通过下行迁移等方式相互影响,使得食管微环境与口腔菌群构成存在潜在关联。目前大多数研究是针对单个消化道部位的菌群与疾病的关系(如肠道菌群与食管癌)^[2]或者是同一消化道部位多种标本类型的菌群构成比较,例如口腔的唾液和牙菌斑菌群^[4]以及食管刷标本和食管活检组织菌群^[5]等,目前关于同一人群在不同消化道区段菌群组成差异的研究仍较为有限。牙龈卟啉单胞菌在食管菌群^[6]和口腔菌群^[7]中的含量与食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)的发生发展相关,但均基于食管或口腔单一部位开展。研究^[8]表明健康人群中食管微生物组与口腔微生物组相似,但食管癌患者口腔微生物与食管微生物之间的相互关系尚未得到充分研究。该研究纳入46例ESCC患者,采集其口腔和癌组织样本,利用16S rRNA基因测序技术探讨ESCC患者口腔与食管2个部位的菌群分布特征及其相关性。

1 材料与方法

1.1 研究对象

本研究采用自身配对设计。2022—2023年期间,纳入河南科技大学第一附属医院46例ESCC患者的口腔拭子和自身癌组织样本,所有患者经上消化道内镜检查和病理学确诊。纳入标准:①年龄≥18岁;②经病理学诊断为ESCC。排除标准:①继发性或复发性ESCC;②近1个月内服用过抗生素药物;③合并其他恶性肿瘤;④存在严重肝肾功能异常和免疫缺陷;⑤既往接受过ESCC相关手术、放疗或化疗。本研究方案经河南科技大学第一附

属医院伦理委员会批准（审批号：K-2025-B104），所有入组患者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 样本收集

口腔样本采集方法：受试者于晨起空腹状态下，使用无菌口腔采样拭子（货号：CY-98000-P1，深圳华晨阳科技有限公司），在 ESCC 患者口腔 4 个象限第二、第三磨牙牙龈部位进行采样。采样时旋转拭子 3 周后，将拭子头置入无菌采集管，折断外露手柄后立即密封保存。口腔拭子样本随即放入 -80 °C 冰箱保存，随后干冰运输至测序公司。组织样本采集方法：在进行上消化道内镜检查时，从内镜活检钳孔送入活检钳，将其放至患者病变处，随即钳取患者癌组织于无菌冻存管中，及时放入 -80 °C 冰箱保存，把所有标本封口后使用干冰运输至测序公司。

1.2.2 DNA 提取及 PCR 扩增

按照细菌基因组提取试剂盒（货号：DP302-02，北京天根生化科技有限公司）说明书的步骤提取微生物组总 DNA，采用 Qubit（货号：Q32854，美国 Invitrogen 公司）定量。为了提高细菌物种检测的覆盖率和分辨率，本研究采用 5 R 16S rRNA 基因测序。实验前先将引物用双重去离子水稀释成 1 μmol/L，对 5 R 16 S rRNA 基因的 5 个可变区（V2、V3、V5、V6、V8）进行 PCR 扩增。利用 AMPure XT 磁珠（货号：A63880，美国 Beckman Coulter 公司）对 PCR 产物进行纯化，并通过 Qubit 荧光定量系统测定浓度。随后采用 Agilent 2100 生物分析仪结合 Illumina 文库定量试剂盒对纯化产物进行质量评估。符合标准的测序文库（浓度 > 0.3 ng/μL）经梯度稀释后，按计算比例混合，使用 NaOH 溶液变性处理获得单链 DNA。最终在 Illumina NovaSeq 6000 平台上完成双末端测序（PE150 模式）。

1.2.3 生物信息学分析

测序数据首先通过样本特异性 barcode 进行区分，并去除接头序列及索引标签。其次使用 fqtrim 软件对测序数据进行数据过滤，去除低质量序列（长度 < 100 bp 和 N 的含量 > 5% 的序列）。然后采用 Short Multiple Regions Framework 方法整合分析 16 S rRNA 基因上 5 个扩增区域的序列，进行细菌的分类学鉴定^[9]。最后，为排除实验过程中可能引入的污染菌，在样本采集、DNA 提取和 PCR 扩增过程中分别设置阴性对照组。将阴性对照组中流行度 > 30% 的菌判定为污染菌，并在后续分析中予以剔除，余下的菌群，即认为是组织中存在的菌群^[10]。基于过滤后的菌群数据，进行菌群生物多样性分析和差异菌群鉴定。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 26.0 和 R(v3.4.4) 软件完成统计处理, 可视化图表通过 GraphPad Prism 8.0 生成。采用 Wilcoxon 符号秩检验分析食管及口腔菌群两组 Alpha 多样性差异, 结果以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示。基于 Bray-Curtis 距离矩阵进行主坐标分析 (principal co-ordinates analysis, PcoA)。通过线性判别分析 (linear discriminant analysis, LDA) 结合效应大小的方法 (即 LEfSe 算法), 鉴定组间特征性微生物标志物 (LDA 得分 > 3)。采用 Spearman 秩相关分析口腔与食管菌群在门、属、种水平上的关联性, 并计算相关系数 ρ 。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 样本测序数据

口腔样本以 O 表示, 癌组织样本以 T 表示。共得到 19 279 552 条原始序列, 经过质控和过滤后得到高质量分析数据 18 677 984 条, 其中 ESCC 患者口腔样本共 9 658 891 条序列, 癌组织样本共 9 620 661 条序列。Q20 为 97.51%, Q30 为 94.31%; GC 含量为 53.27%。

根据获得的相对丰度表绘制韦恩图 (图 1)。在种水平上, 口腔拭子检测出 1 437 个物种, 癌组织共检测出 1 392 个物种, 两组共有物种 900 个; 口腔拭子特有物种 537 个, 癌组织特有物种 492 个, 口腔物种多于食管。在属水平上, 口腔拭子共检测出 230 个属, 癌组织共检测出 260 个属, 两组共有 152 个属; 口腔拭子特有菌属 78 个, ESCC 组织特有菌属 108 个, 癌组织中菌属多于口腔。

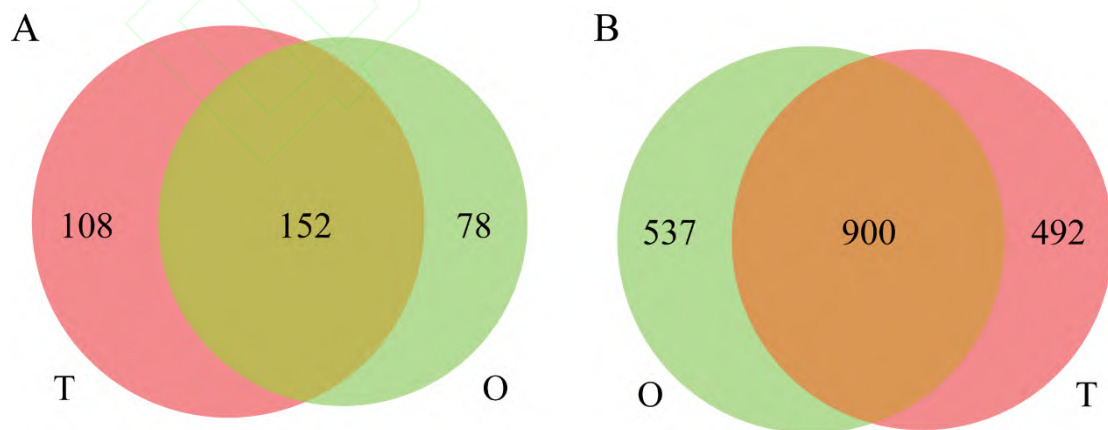


图 1 ESCC 患者口腔及食管菌群韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of oral and esophageal microbiota in ESCC patients

注: A: Genus level; B: Species level.

2.2 Alpha 多样性分析

口腔拭子 Observed species 指数 242.50 (207.75, 286.25) 和 Chao1 指数 252.11 (213.61, 293.03) 高于癌组织 Observed species 指数 143.50 (113.00, 180.00) 和 Chao1 指数 145.71 (114.27, 183.13), 差异有统计学意义 ($P < 0.001$), 表明 ESCC 患者口腔菌群丰富度显著高于食管组织菌群。另外, 口腔拭子 Shannon 指数 5.63 (4.80, 5.92) 和 Simpson 指数 0.95 (0.90, 0.97) 显著高于癌组织 Shannon 指数 4.69 (3.99, 4.99) 和 Simpson 指数 0.92 (0.86, 0.94), 表明口腔微生物 Alpha 多样性高于 ESCC 癌组织 ($P < 0.05$)。见图 2。

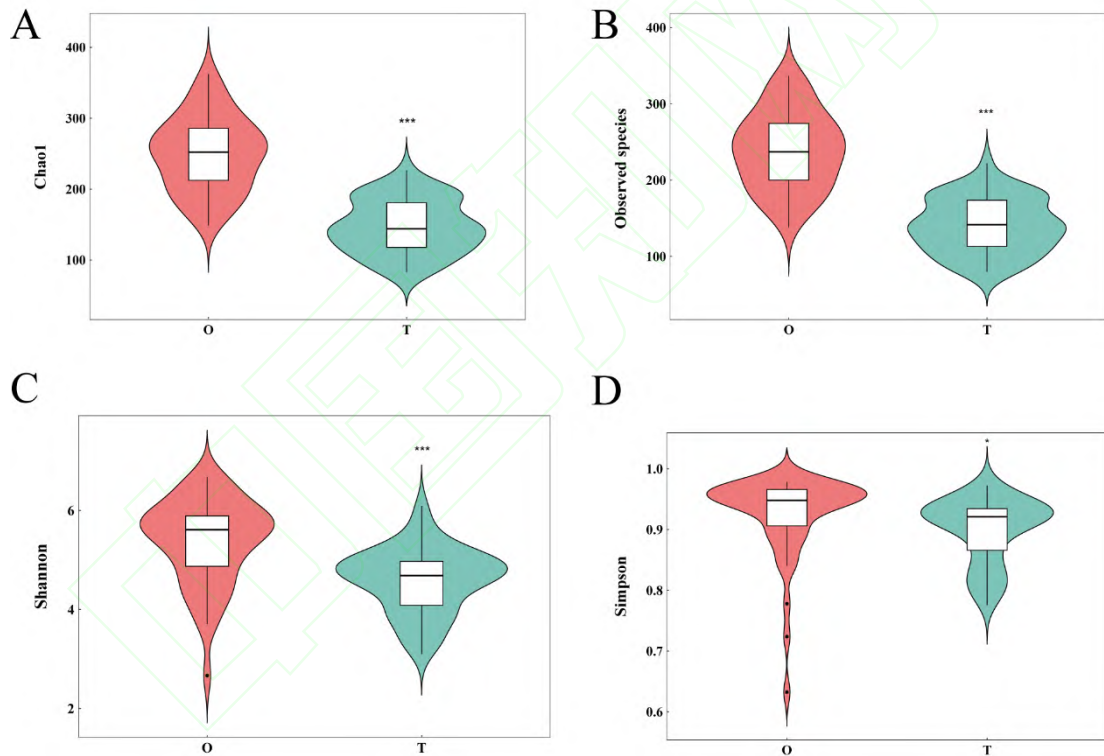


图 2 ESCC 患者口腔与食管菌群 Alpha 多样性指数分析

Fig. 2 Analysis of Alpha diversity index of oral and esophageal microbiota in ESCC patients

注: A: Chao1 index; B: Observed species index; C: Shannon index; D: Simpson index; * $P < 0.05$,

*** $P < 0.001$ vs Oral microbiota.

2.3 Beta 多样性分析

主成分分析 (principal components analysis, PCA) 显示, PC1 和 PC2 分别解释了 36.21% 和 8.51% 的样本变异, 但两组样本间未呈现完全分离的分布模式。除此之外, 基于 Bray-Curtis 距离的 PCoA 图结果显示, 来自口腔的样本都明显聚集在一起, 但食管癌组织样本间距离较分散, 这表明口腔菌群组成的变异度低于食管。另外, ESCC 患者口腔和食管样本间距离较近, 不能将两组菌群区分开, 说明两组整体群落构成存在相似性。见图 3。

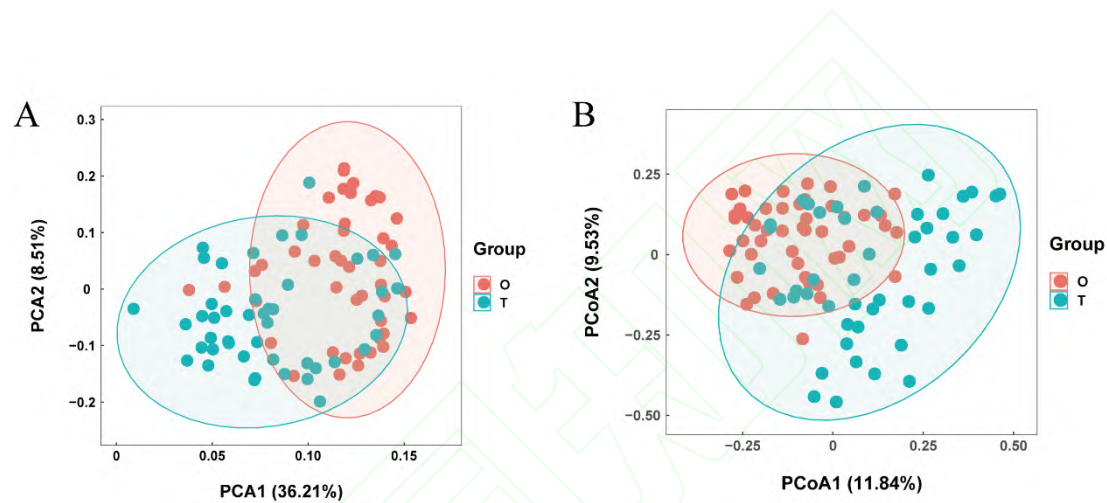


图 3 ESCC 患者口腔与食管菌群 Beta 多样性分析

Fig. 3 Analysis of Beta diversity of oral and esophageal microbiota in ESCC patients

注: A: PCA plot; B: PCoA plot.

2.4 菌群分布特征

两组共获得 16 个门, 33 个纲, 56 个目, 113 个科, 338 个属和 1 929 个种。选取丰度前 30 个物种, 比较口腔和食管菌群组成的相对丰度。见图 4。

2.4.1 门水平菌群组成分析

口腔及食管的主要菌门分别为厚壁菌门 (*Firmicutes*, 37.45% vs 40.11%)、拟杆菌门 (*Bacteroidetes*, 25.85% vs 28.48%)、变形菌门 (*Proteobacteria*, 23.70% vs 19.58%)、梭杆菌门 (*Fusobacteriota*, 5.03% vs 8.72%)、螺旋体门 (*Spirochaetes*, 1.99% vs 2.12%) 和放线菌门 (*Actinobacteriota*, 4.65% vs 0.65%), 这 6 大菌门分别占两组菌群的 98.68%

注：A: Phylum level;B: Genus level;C: Species level.

2.5 LEfSe 分析

采用 LEfSe 分析探索 ESCC 患者口腔和食管的特征性菌群 ($LDA > 3$, $P < 0.05$), 见图 5。结果显示口腔和食管具有其各自的特征性菌群, 两组共有 156 种差异性菌群, 其中有 95 个富集在 ESCC 患者口腔中, 61 个富集在 ESCC 患者癌组织。在门水平, 螺旋体门 (*Spirochaetes*) 特异性富集于食管癌组织, 而放线菌门 (*Actinobacteria*)、变形菌门 (*Proteobacteria*)、单糖菌门 (*TM7*)、互养菌门 (*Synergistetes*) 和 *SRI* 则显著富集于口腔环境。在属水平, 食管癌组织特征性菌群包括普雷沃菌属 (*Prevotella*)、卡托菌属 (*Catonella*)、肠球菌属 (*Enterococcus*)、普罗维登斯菌属 (*Providencia*) 和消化链球菌属 (*Peptostreptococcus*); 与之对应, 口腔优势菌属为链球菌属 (*Streptococcus*)、奈瑟球菌属 (*Neisseria*)、嗜血杆菌属 (*Haemophilus*)、卟啉单胞菌属 (*Porphyromonas*) 和罗斯菌属 (*Rothia*)。在种水平, 牙周梭杆菌 (*Fusobacterium periodonticum*)、小韦荣球菌 (*Veillonella parvula*)、生痰二氧化碳噬纤维菌 (*Capnocytophaga sputigena*)、微黄奈瑟球菌 (*Neisseria subflava*) 和雷特氏普罗维登斯菌 (*Providencia rettgeri*) 是食管癌组织的菌群标志物; 而缓症链球菌 (*Streptococcus mitis*)、副流感嗜血杆菌 (*Haemophilus parainfluenzae*)、牙龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*)、溶血嗜血杆菌 (*Haemophilus haemolyticus*) 和坦纳普雷沃菌 (*Prevotella tanneriae*) 是口腔的菌群标志物。

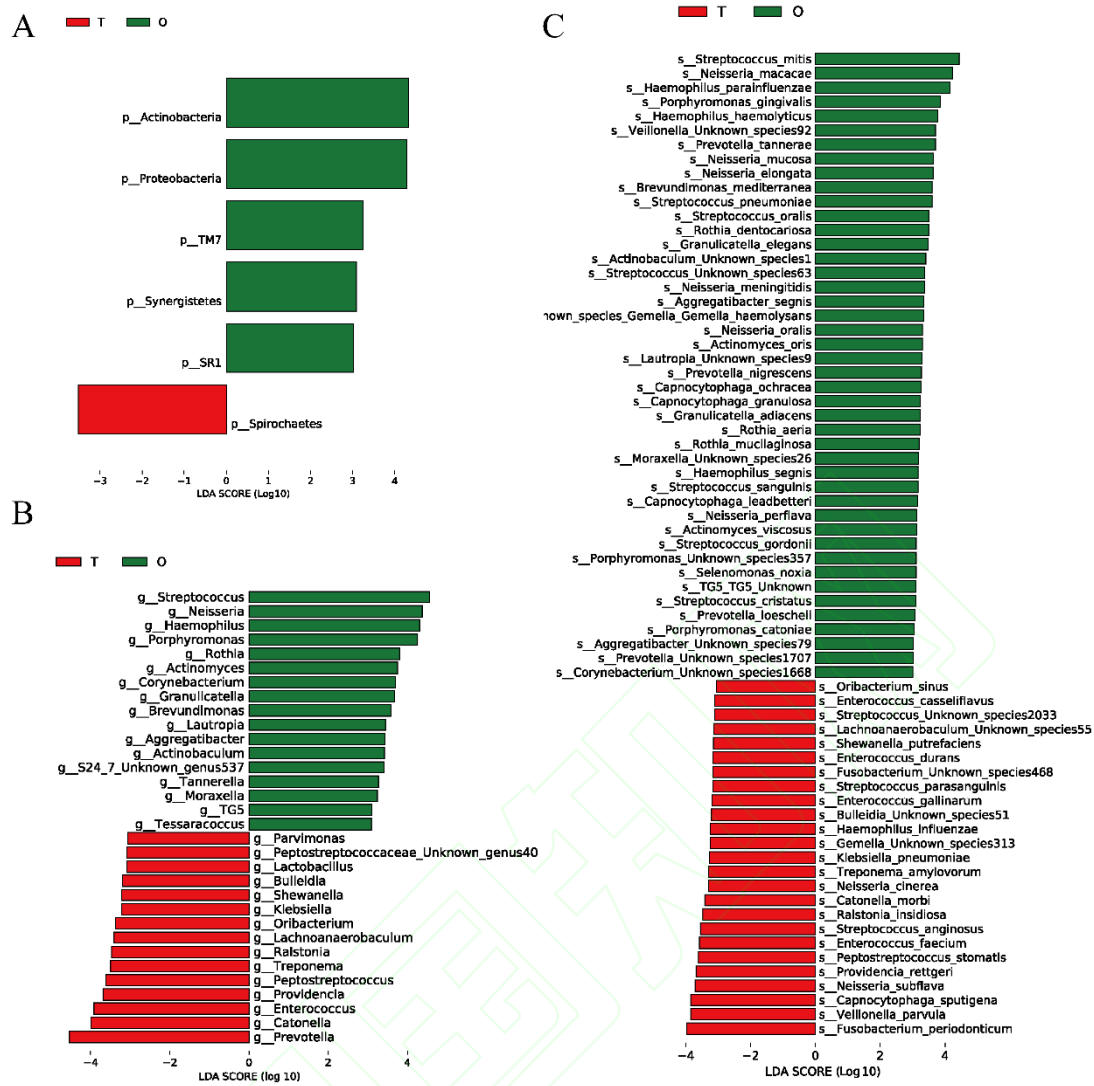


图 5 ESCC 患者口腔和食管菌群 LefSe 分析

Fig. 5 LefSe analysis of oral and esophageal microbiota in ESCC patients

注: A: Phylum level; B: Genus level; C: Species level.

2.6 口腔和配对食管菌群相关性分析

ESCC 患者口腔和食管菌群中螺旋体门(*Spirochaetes*, $\rho = 0.541$)、厚壁菌门(*Firmicutes*, $\rho = 0.425$)和无壁菌门(*Tenericutes*, $\rho = 0.442$)具有相关性 ($P < 0.05$, 表 1)。属水平, ESCC 患者口腔和食管菌群之间密螺旋体属(*Treponema*, $\rho = 0.541$)、卡托菌属(*Catonella*, $\rho = 0.479$)和莫拉菌属(*Moraxella*, $\rho = 0.456$)等具有相关性 ($P < 0.05$, 表 2)。种水平, ESCC 患者口腔和食管菌群中 15 个菌种具有相关性, 包括挑食短链小球菌(*Granulicatella elegans*, $\rho = 0.661$)、猕猴奈瑟菌(*Neisseria macacae*, $\rho = 0.537$)、噬淀粉密螺旋体(*Treponema*

amylovorum, $\rho = 0.531$)、牙周梭杆菌 (*Fusobacterium periodonticum*, $\rho = 0.529$) 和脑膜炎奈瑟球菌 (*Neisseria meningitidis*, $\rho = 0.528$) 等 (表 3)。

表 1 ESCC 患者口腔和食管菌门相关性分析($n=46$)

Tab. 1 Correlation analysis of oral and esophageal dominant plyium in ESCC patient($n=46$)

Plyium	O(%)	T(%)	ρ value	P value
<i>Firmicutes</i>	37.45	40.11	0.425	0.003
<i>Bacteroidetes</i>	25.85	28.48	0.196	0.192
<i>Proteobacteria</i>	23.70	19.58	0.295	0.046
<i>Fusobacteria</i>	5.03	8.72	0.038	0.801
<i>Actinobacteria</i>	4.65	0.65	0.132	0.380
<i>Spirochaetes</i>	1.99	2.12	0.541	<0.001
<i>Cyanobacteria</i>	0.49	0.12	0.052	0.732
<i>TM7</i>	0.31	0.08	0.414	0.004
<i>Absconditabacteria_SRI</i>	0.26	0.02	0.267	0.073
<i>Synergistetes</i>	0.20	0.01	0.026	0.863
<i>GN02</i>	0.02	0.08	0.285	0.055
<i>Tenericutes</i>	0.04	0.04	0.442	0.002

表 2 ESCC 患者口腔和食管 TOP30 菌属相关性分析($n=46$)

Tab. 2 Correlation analysis of oral and esophageal dominant genus in ESCC patients($n=46$)

Genus	O(%)	T(%)	ρ value	P value
-------	------	------	--------------	-----------

<i>Prevotella</i>	16.81	22.55	0.021	0.892
<i>Streptococcus</i>	20.92	12.99	0.233	0.119
<i>Veillonella</i>	8.02	9.78	0.038	0.804
<i>Neisseria</i>	10.41	5.70	0.294	0.047
<i>Haemophilus</i>	7.46	3.40	0.268	0.072
<i>Fusobacterium</i>	3.38	6.83	0.243	0.104
<i>Capnocytophaga</i>	3.00	3.82	0.153	0.109
<i>Porphyromonas</i>	5.06	1.45	0.157	0.298
<i>Selenomonas</i>	1.27	3.88	0.111	0.461
<i>Actinobacillus</i>	0.60	4.30	0.281	0.059
<i>Treponema</i>	1.98	2.12	0.541	<0.001
<i>Aggregatibacter</i>	1.99	1.35	0.148	0.326
<i>Leptotrichia</i>	1.50	1.75	0.002	0.987
<i>Catonella</i>	0.27	2.06	0.479	0.001
<i>Granulicatella</i>	1.56	0.58	0.339	0.021
<i>Campylobacter</i>	0.46	1.07	0.417	0.004
<i>Rothia</i>	1.36	0.13	0.263	0.077
<i>Actinomyces</i>	1.29	0.19	0.018	0.907
<i>Gemella</i>	0.64	0.80	0.416	0.004
<i>Peptostreptococcus</i>	0.22	1.07	0.325	0.028
<i>Dialister</i>	0.33	0.93	0.368	0.012

<i>Corynebacterium</i>	1.03	0.09	0.031	0.837
<i>Lachnoanaerobaculum</i>	0.28	0.74	0.051	0.738
<i>Brevundimonas</i>	0.81	0.03	0.03	0.844
<i>Moraxella</i>	0.56	0.16	0.456	0.001
<i>Oribacterium</i>	0.09	0.56	0.013	0.931
<i>Lautropia</i>	0.57	0.04	0.283	0.057
<i>Bulleidia</i>	0.08	0.38	0.034	0.825
<i>Tannerella</i>	0.41	0.04	0.299	0.044
<i>Lactobacillus</i>	0.07	0.35	0.153	0.310

表 3 ESCC 患者口腔和食管 TOP30 菌种相关性分析(n=46)

Tab.3 Correlation analysis of TOP30 species in oral cavity and esophagus of ESCC patients(n=46)

Species	O (%)	T(%)	ρ value	P value
<i>Streptococcus mitis</i>	12.87	6.97	0.149	0.324
<i>Veillonella dispar</i>	4.39	6.04	0.419	0.004
<i>Prevotella melaninogenica</i>	3.72	6.64	0.033	0.827
<i>Prevotella intermedia</i>	1.98	4.84	0.455	0.002
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	4.65	1.79	0.258	0.084
<i>Veillonella parvula</i>	2.15	3.38	0.242	0.105
<i>Neisseria macacae</i>	4.37	1.14	0.537	<0.001
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1.91	3.34	0.062	0.684

<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2.55	1.53	0.292	0.049
<i>Neisseria subflava</i>	1.63	2.17	0.493	<0.001
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	2.10	0.96	0.480	0.001
<i>Prevotella tanneriae</i>	1.99	1.00	0.399	0.006
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	0.55	2.43	0.529	<0.001
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	0.45	1.71	0.160	0.288
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	1.62	0.14	0.309	0.037
<i>Prevotella oris</i>	0.19	1.53	0.046	0.763
<i>Neisseria cinerea</i>	0.70	0.88	0.269	0.071
<i>Prevotella pallens</i>	0.46	1.11	0.164	0.277
<i>Haemophilus segnis</i>	0.74	0.62	0.478	0.001
<i>Neisseria meningitidis</i>	0.68	0.66	0.528	<0.001
<i>Prevotella nigrescens</i>	0.72	0.60	0.141	0.349
<i>Peptostreptococcus stomatis</i>	0.22	1.07	0.325	0.028
<i>Capnocytophaga leadbetteri</i>	0.73	0.54	0.238	0.112
<i>Neisseria mucosa</i>	1.04	0.22	0.502	<0.001
<i>Aggregatibacter segnis</i>	0.85	0.36	0.221	0.141
<i>Granulicatella adiacens</i>	0.70	0.38	0.123	0.416
<i>Neisseria perflava</i>	0.59	0.37	0.172	0.253
<i>Granulicatella elegans</i>	0.79	0.15	0.661	<0.001
<i>Treponema amylovorum</i>	0.25	0.68	0.531	<0.001

3 讨论

已有研究^[3-7]表明口腔与食管微生物与食管癌发生发展相关，但针对 ESCC 患者口腔与自身配对的食管部位的微生物研究较少。本研究探讨了 ESCC 患者口腔和食管不同部位菌群分布特征，结果显示，ESCC 患者口腔和食管具有各自的菌群特征且存在部分相互重叠。已有研究^[11]报道，正常人群中消化道的不同部位菌群构成与其解剖特征相关，每个胃肠道位点既具有独特的微生物特征，又与相邻位点存在重叠。Segata et al^[12]在正常人群中证实了口腔与食管微生物的关系，该研究临床样本采集于 27 例健康个体的口腔 3 个部位（唾液、舌背和龈上菌斑）和食管上、中、下 3 段。结果显示：门水平，口腔和食管主要菌门为变形菌门、放线菌门、厚壁菌门、拟杆菌门、梭杆菌门和 *TM7*，口腔以放线菌门和拟杆菌门为主，食管以厚壁菌门为主。属水平，口腔和食管主要菌属为链球菌属、奈瑟球菌属、普雷沃氏菌、放线菌属和韦荣球菌属，口腔以奈瑟球菌属为主，食管以链球菌属为主。上述研究表明在正常人群中口腔和食管菌群具有相似性，但也有自身特征性菌群。目前针对 ESCC 患者口腔与食管微生物组关联特征的研究数据仍相对有限。

作为消化道的入口，口腔菌群环境复杂^[1]。本研究发现口腔菌群的丰富度和多样性明显高于食管菌群，Beta 多样性分析发现，口腔菌群与食管菌群未能完全区分开，说明口腔和食管菌群整体构成相似，这与 Li et al^[11]的结果一致。这种相似性可能是由唾液及其相关微生物与肿瘤的短暂接触（例如，在吞咽或肿瘤取出期间）引起的。口腔和食管相邻，口腔和食管菌群中均存在链球菌属、奈瑟球菌属、普雷沃菌属和嗜血杆菌属，但相对丰度不同^[13]。本研究发现 ESCC 患者口腔中变形菌门、放线菌门、*TM7*、*SRI* 和互养菌相对丰度高于食管。属水平，口腔中链球菌属、奈瑟球菌属、嗜血杆菌属、卟啉单胞菌属等菌丰度高于食管。Li et al^[14]研究发现在门水平，ESCC 唾液样本中的拟杆菌门、放线菌门和蓝藻门的相对丰度明显高于配对食管刷子样本；属水平，ESCC 唾液样本中奈瑟球菌属的含量明显高于配对食管刷子样本，这与本研究结果不完全一致，可能因为样本类型不一样导致的；本研究为口腔拭子和 ESCC 活检组织，而 Li et al^[14]研究收集的是口腔唾液与食管刷，但其中口腔菌群放线菌门和奈瑟球菌属高于食管菌群与本研究结果一致。

在本研究中, 普雷沃菌属、卡托菌属和肠球菌属是 ESCC 癌组织的特异性菌属, 而链球菌属、嗜血杆菌属和奈瑟球菌属在 ESCC 患者口腔菌群中富集, 这与 Nomburg et al^[13]的研究一致。除此之外, 本研究还比较了不同分类水平口腔菌群和食管菌群的相关性, 结果显示口腔菌群在门、属和种水平都存在相关性菌群, 表明两组这些菌群在口腔和食管上分布的一致性。Nomburg et al^[13]对坦桑尼亚 ESCC 肿瘤和唾液配对样本进行分析, 证明了 ESCC 患者配对唾液和肿瘤微生物组惊人地相似; 特别是, 发现唾液与肿瘤组织中梭杆菌属、韦荣球菌属、链球菌属和卟啉单胞菌属的相对丰度之间存在相关性, 其中普雷沃菌属和梭杆菌属在肿瘤微生物组中显著富集, 卟啉单胞菌属和韦荣球菌属在 ESCC 唾液中显著富集, 支持特定口腔细菌优先定植肿瘤的模式。然而, 在 16 种常见的菌属中有 4 个菌属在肿瘤和口腔微生物组之间的丰度相关, 表明肿瘤-口腔微生物组的相似性并不完全由唾液和肿瘤之间的短暂接触产生的。另一项研究^[8]也显示口腔和食管微生物相似, 其中梭杆菌属、卟啉单胞菌属和普雷沃菌属的相对丰度之间存在相关性, 该研究揭示了口腔微生物标志物在 ESCC 早期筛查和诊断中的潜在临床应用价值。本研究结果表明, 牙龈卟啉单胞菌在 ESCC 患者口腔内显著富集, 且其丰度与食管菌群存在关联, 提示其可能作为连接口腔与食管微生态的潜在关键菌种。已有研究^[6]证实, 牙龈卟啉单胞菌不仅能够定植于食管癌组织, 还与患者不良预后密切相关。Chen et al^[15]的研究进一步支持了其临床应用价值, 结果表明唾液中卟啉单胞菌属 (Pg) 可作为 ESCC 的特征性标志物, 其中 Pg/Pre 和 Pg/All 比值能显著提高 ESCC 的诊断效能, 尤其在早期病例中表现突出。综合本研究与既往证据表明, 牙龈卟啉单胞菌不仅是 ESCC 发生发展的潜在参与因子, 也具备作为预测 ESCC 发生与预后的无创生物标志物的临床潜力。

随着测序技术的发展, 研究者日益认识到微生物群落在健康与疾病中的作用往往超越单一菌种的简单叠加, 多种细菌通过复杂互作共同参与疾病进程^[16]。本研究发现, 螺旋体门、密螺旋体属等在口腔与食管微生物组中显著相关, 且牙周梭杆菌、小韦荣球菌等物种在食管肿瘤组织中富集。这些细菌可能通过提供定植位点、“相互喂食”以及协同代谢复杂底物等方式^[17], 为口腔病原体在食管肿瘤组织中定植创造条件。其中, 代谢物交换是双菌、多菌乃至群落相互作用的关键环节, 例如小韦荣球菌可为牙龈卟啉单胞菌提供一种群体感应依赖性生长促进因子^[18]。未来需结合宏基因组与代谢组学技术, 深入揭示这些细菌在肿瘤微生态中的功能与互作网络。

综上所述, 本研究通过对 46 例 ESCC 患者的配对口腔拭子和癌组织样本进行 16S rRNA 基因测序分析, 揭示了 2 个部位菌群的分布特征与相互关系。结果显示, 口腔菌群的 Alpha

多样性显著高于食管癌组织，但整体群落结构相似；螺旋体门、普雷沃菌属、牙周梭杆菌等菌群在食管癌组织中特异性富集，而放线菌门、链球菌属、缓症链球菌等则在口腔中显著富集；两部位菌群在螺旋体门、密螺旋体属等多个分类水平上存在显著关联。这些结果提示，ESCC 患者的口腔与食管菌群既存在差异又相互关联，口腔微生物可能通过下行迁移或局部免疫调节影响食管微生态。然而，本研究存在一定局限性：缺乏健康对照及癌前病变组、样本量有限，且为横断面设计无法明确菌群变化的时序性与因果关系。未来研究应纳入多阶段对照队列（如健康人群、癌前病变及 ESCC 患者），系统揭示微生物群落在食管癌发生发展中的动态演变规律，进而筛选可用于早期筛查与风险预测的微生物标志物，并进一步结合宏基因组、代谢组等多组学技术深入阐明其功能机制。

参考文献

[1] Asili P, Mirahmad M, Rezaei P, et al. The association of oral microbiome dysbiosis with gastrointestinal cancers and its diagnostic efficacy[J]. *J Gastrointest Cancer*, 2023, 54(4): 1082-101. doi:10.1007/s12029-022-00901-4.

[2] Hasuda H, Ikeda T, Makizaki Y, et al. Alterations in the gut microbiome in patients with esophageal carcinoma in response to esophagectomy and neoadjuvant treatment[J]. *Surg Today*, 2023, 53(6): 663-74. doi:10.1007/s00595-022-02607-3.

[3] 孔金玉,王 健,刘怡文,等.口腔和食管菌群与食管鳞癌相关性研究进展[J].*安徽医科大学学报*,2025,60(8):1559-65. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.08.028.

Kong J Y, Wang J, Liu Y W, et al. Research progress on the correlation between oral and esophageal microbiota and esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2025, 60(8): 1559-65. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.08.028.

[4] Kawasaki M, Ikeda Y, Ikeda E, et al. Oral infectious bacteria in dental plaque and saliva as risk factors in patients with esophageal cancer[J]. *Cancer*, 2021, 127(4): 512-9. doi:10.1002/cncr.33316.

[5] Li M, Shao D, Zhou J, et al. Signatures within esophageal microbiota with progression of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Chin J Cancer Res*, 2020, 32(6): 755-67. doi:10.21147/j.issn.1000-9604.2020.06.09.

- [6] Li R, Liu Y, Zhou F, et al. Clinical significance of *Porphyromonas gingivalis* enriching cancer stem cells by inhibiting programmed cell death factor 4 in esophageal squamous cell carcinoma[J]. ACS Infect Dis, 2023, 9(10): 1846-57. doi:10.1021/acsinfecdis.3c00182.
- [7] Wei J, Li R, Lu Y, et al. Salivary microbiota may predict the presence of esophageal squamous cell carcinoma[J]. Genes Dis, 2022, 9(4): 1143-51. doi:10.1016/j.gendis.2021.02.006.
- [8] Annavajhala M K, May M, Compres G, et al. Relationship of the esophageal microbiome and tissue gene expression and links to the oral microbiome: a randomized clinical trial[J]. Clin Transl Gastroenterol, 2020, 11(12): e00235. doi:10.14309/ctg.0000000000000235.
- [9] Nejman D, Livyatan I, Fuks G, et al. The human tumor microbiome is composed of tumor type-specific intracellular bacteria[J]. Science, 2020, 368(6494): 973-80. doi:10.1126/science.aay9189.
- [10] Fuks G, Elgart M, Amir A, et al. Combining 16S rRNA gene variable regions enables high-resolution microbial community profiling[J]. Microbiome, 2018, 6(1): 17. doi:10.1186/s40168-017-0396-x.
- [11] Li M, Shao D, Zhou J, et al. Microbial diversity and composition in six different gastrointestinal sites among participants undergoing upper gastrointestinal endoscopy in Henan, China[J]. Microbiol Spectr, 2022, 10(3): e0064521. doi:10.1128/spectrum.00645-21.
- [12] Dong L, Yin J, Zhao J, et al. Microbial similarity and preference for specific sites in healthy oral cavity and esophagus[J]. Front Microbiol, 2018, 9: 1603. doi:10.3389/fmicb.2018.01603.
- [13] Nomburg J, Bullman S, Nasrollahzadeh D, et al. An international report on bacterial communities in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Int J Cancer, 2022, 151(11): 1947-59. doi:10.1002/ijc.34212.
- [14] Li Z, Dou L, Zhang Y, et al. Characterization of the oral and esophageal microbiota in esophageal precancerous lesions and squamous cell carcinoma[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11: 714162. doi:10.3389/fcimb.2021.714162.
- [15] Chen X, Xian B, Wei J, et al. Predictive value of the presence of *Prevotella* and the ratio of

Porphyromonas gingivalis to *Prevotella* in saliva for esophageal squamous cell carcinoma[J].
Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 997333. doi:10.3389/fcimb.2022.997333.

[16] El-Sayed A, Aleya L, Kamel M. Microbiota's role in health and diseases[J]. Environ Sci
Pollut Res Int, 2021, 28(28): 36967-83. doi:10.1007/s11356-021-14593-z.

[17] Adekoya A E, West S R, Arriaga S K, et al. Infections as ecosystems: community metabolic
interactions in microbial pathogenesis[J]. Infect Immun, 2025, 93(9): e0053024.
doi:10.1128/iai.00530-24.

[18] Hoare A, Wang H, Meethil A, et al. A cross-species interaction with a symbiotic commensal
enables cell-density-dependent growth and *in vivo* virulence of an oral pathogen[J]. ISME J, 2021,
15(5): 1490-504. doi:10.1038/s41396-020-00865-y.