



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Original

La asociación entre *Fusobacterium nucleatum* y el cáncer colorrectal: una revisión sistemática y metaanálisis



Paola Villar-Ortega^a, Manuela Expósito-Ruiz^b, Miguel Gutiérrez-Soto^c, Miguel Ruiz-Cabello Jiménez^d, José María Navarro-Marí^e y José Gutiérrez-Fernández^{a,e,*}

^a Departamento de Microbiología, Universidad de Granada-Instituto de Investigación BioSanitaria-ibs-Granada, Granada, España

^b Departamento de Bioestadística de FIBAO. Hospital Universitario Virgen de las Nieves-Instituto de Investigación BioSanitaria-ibs-Granada, Granada, España

^c Departamento de Urgencias, Hospital de Montilla, Montilla, Córdoba, España

^d UGC de Digestivo, Hospital Universitario Virgen de las Nieves-Instituto de Investigación BioSanitaria-ibs-Granada, Granada, España

^e Laboratorio de Microbiología, Hospital Universitario Virgen de las Nieves-Instituto de Investigación BioSanitaria-ibs-Granada, Granada, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 20 de julio de 2020

Aceptado el 6 de enero de 2021

On-line el 23 de febrero de 2021

Palabras clave:

Cáncer colorrectal

Fusobacterium nucleatum

Microbiota

Disbiosis

Inflamación crónica

R E S U M E N

Introducción: Se desconocen los factores etiológicos exactos del cáncer colorrectal (CCR), aunque se ha intentado relacionar con factores genéticos y ambientales. La posible asociación con *Fusobacterium nucleatum* podría abrir posibilidades en el diagnóstico precoz.

Objetivo: Revisar los estudios que analizan la asociación entre *F. nucleatum* y el CCR.

Métodos: Se utilizaron las publicaciones disponibles en la base de datos MEDLINE PubMed hasta el día 1 de enero de 2020, que incluían los términos «cáncer colorrectal» y «*Fusobacterium nucleatum*». Se realizó un metaanálisis con el software Stata.

Resultados: Un total de 57 artículos fueron incluidos en la revisión sistemática. El metaanálisis indicó una mayor presencia de *F. nucleatum* en muestras de tejido tumoral de CCR, con respecto a muestras control de tejido sano, con una *odds ratio* de 4,558 (IC 95%: 3,312-6,272), y cuando se utilizaron muestras control de adenomas colorrectales, con una *odds ratio* de 3,244 (IC 95%: 2,359-4,462).

Conclusión: Hay una mayor presencia de *F. nucleatum* en el CCR. Sin embargo, se necesitan estudios que demuestren esta relación.

© 2021 Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

The association between *Fusobacterium nucleatum* and cancer colorectal: a systematic review and meta-analysis

A B S T R A C T

Keywords:

Colorectal cancer

Fusobacterium nucleatum

Microbiota

Dysbiosis

Chronic inflammation

Introduction: The etiological factors of colorectal cancer (CRC) are not precisely known, although genetic and environmental factors have been implicated. A possible association with *Fusobacterium nucleatum* may provide opportunities for an early diagnosis.

Objective: To review studies that address the association between *F. nucleatum* and CRC.

Methods: The MEDLINE PubMed database was searched using the terms «colorectal cancer» and «*Fusobacterium nucleatum*», retrieving publications published up to January 1 2020. Stata software was used for a meta-analysis.

Results: The systematic review included 57 articles. Meta-analysis results indicated a more frequent presence of *F. nucleatum* in CRC tumor tissue samples in comparison to control samples of healthy tissue, with an odds ratio of 4.558 (95% CI: 3.312-6.272), and in comparison, to control samples of colorectal adenomas, with an odds ratio of 3.244 (95% CI: 2.359-4.462).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: josegf@go.ugr.es (J. Gutiérrez-Fernández).

Conclusion: There is a more frequent presence of *F. nucleatum* in the CRC. However, further studies are needed to verify this relationship.

© 2021 Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

La etiología del cáncer colorrectal (CCR) es multifactorial e incluyen alteraciones genéticas y epigenéticas¹. También podrían intervenir factores extrínsecos como la disbiosis intestinal², pero existe una variabilidad interindividual, debido a múltiples factores genéticos y ambientales³, por ello resultaría de especial interés investigar la existencia de un denominador microbiano común. *Fusobacterium nucleatum* (FN) ha sido una de las bacterias más estudiadas^{4–6}. Es una bacteria anaerobia, gramnegativa, que reside en la cavidad oral como microbiota comensal, pero también es un patógeno oportunista en las enfermedades periodontales, principalmente en gingivitis y periodontitis⁷. Su poder patógeno reside en sus factores de virulencia, entre los que destacan: la presencia de fimbrias, lipopolisacáridos, factores inhibidores de la quimiotaxis de los leucocitos polimorfonucleares y la elaboración de metabolitos tóxicos tisulares⁸. Sin embargo, el más importante es la adhesina FadA, ya que se ha demostrado que es el mayor estimulante de la inflamación al crear un ambiente proinflamatorio crónico que activaría señales oncogénicas, estimulando las células epiteliales^{9,10}. Estudios recientes han demostrado un aumento de FadA en el tejido neoplásico del CCR, junto con otros marcadores proinflamatorios como COX-2, IL-8, IL-6, IL1 β y TNF- α ¹¹.

La posibilidad de que FN pueda formar parte del proceso de carcinogénesis podría abrir posibilidades en el diagnóstico precoz. Por lo tanto, estaría justificado analizar exhaustivamente la evidencia actual sobre la relación entre FN y el CCR. El objetivo de este trabajo fue integrar la información disponible sobre la relación entre FN y el CCR, a través de un metaanálisis.

Material y métodos

El metaanálisis tuvo un componente cualitativo (revisión sistemática) y otro cuantitativo. La revisión sistemática fue una descripción de los trabajos publicados que considera los estudios individuales como «sujetos» de estudio. Así, se realizó una búsqueda sistemática de todos los artículos publicados, en inglés o español, en revistas indexadas en MEDLINE, ISI Web of Knowledge y Cochrane Library. Los términos de búsqueda utilizados fueron «colorectal cancer» y «*Fusobacterium nucleatum*». Los criterios de selección fueron el límite temporal, ya que la búsqueda se restringió a todos los artículos publicados, en formato paper y/o electrónico, antes de enero de 2020, el tipo de estudio, seleccionando los estudios de investigación, y el idioma, limitados a los redactados en inglés y en español. Se utilizó como criterios de exclusión los trabajos sobre la relación de FN con otras enfermedades diferentes al CCR, la relación del CCR con bacterias diferentes a FN y el aislamiento de FN en especies diferentes al ser humano; así como las revisiones. Se requirió que los pacientes con CCR estuvieran incluidos en los estudios, y que el objetivo del estudio fuera la búsqueda directa o indirecta de FN y que intentara establecer una posible asociación entre la infección y el CCR. Se utilizó un sistema de calidad interno, que verificó la fiabilidad del método anterior elegido, basado en la revisión detenida de cada publicación con rastreo de la bibliografía de las publicaciones para evitar las pérdidas.

El componente cuantitativo se refirió a la agrupación estadística de los resultados, actuando los estudios individuales como los sujetos de la investigación, obteniéndose, en cada publicación y en

conjunto con las demás, la significación estadística del análisis, el intervalo de confianza al 95%, la *odds ratio* (OR) y los pesos de los trabajos. Para estimar la medida ponderada se utilizó el modelo de efectos aleatorios por el método de DerSimonian y Laird¹², el cual se ve menos afectado ante la heterogeneidad entre los estudios. Para valorar la heterogeneidad se utilizó la prueba del inverso de la varianza. Además, se calculó el índice de inconsistencia I^2 de Higgins, cuyo valor indica el porcentaje de variabilidad debida a la heterogeneidad entre estudios. Valores por encima del 75% indican un nivel de heterogeneidad fuerte, y sugeriría la necesidad de realizar estudios adicionales. Las pruebas de Begg¹³ y Egger¹⁴ se usaron para detectar sesgo de publicación. El análisis de los datos se realizó con el software Stata Release, versión 14.

Resultados

Revisión sistemática

La búsqueda de los artículos recuperó 199 publicaciones, de los que se seleccionaron 57 trabajos (tabla 1 y fig. 1) que fueron publicados entre 2011 y 2019, al menos en su versión on-line. Se han denominado Controles-1 las muestras control de zona no tumoral (40 trabajos-70,2%: 15 tejidos adyacentes no tumorales; 4 muestras fecales; 2 muestras sanguíneas; una muestra salival; 18 muestras de tejidos sin tumor) y Controles-2 las obtenidas de adenomas (16-28,1%). La columna Prueba-1 indica la prueba descrita por los autores para detectar el microorganismo. Además, algunos de los trabajos incluyen el uso de pruebas de laboratorio adicionales, que se ha denominado Prueba-2. Para finalizar, se han recogido, también, la conclusión más importante de los artículos de investigación (columna «Comentarios artículo»).

Se comprobó un aumento del número de los trabajos publicados con el paso de los años, pero no fue hasta 2017 cuando aumentó significativamente esta investigación. El sexo de los casos se describió en 20 (35,1%) trabajos; en los Controles-1 en 11 (19,3%) estudios y en los Controles-2 en 5 (31,2%) trabajos. Hasta el año 2015 ningún trabajo describió el sexo de los participantes en el estudio. Los trabajos más recientes sí tienden a indicar el sexo de la población estudiada. Cuando se analiza la distribución de los estudios con datos cuantitativos, para los Casos, Controles-1 y Controles-2, estos aparecen indicados en 40 (70,2%), 22 (38,6%) y 10 (25%) artículos, respectivamente.

Análisis cuantitativo

En cuanto al número de positivos en las muestras de CCR, los mayores porcentajes de positivos se obtuvieron en los estudios de Castellarin et al.¹⁵, Kostic et al.⁴, Fukugaiti et al.²³ y Guevara et al.⁶, en los que la totalidad de las muestras de CCR analizadas obtuvieron un resultado positivo en las pruebas de laboratorio. Por el contrario, el menor porcentaje de resultados positivos se encontró en el estudio de Noshu et al.²⁴, donde solo un 8,6% de las muestras arrojaron un resultado positivo. En cuanto al número de muestras de los Casos en cada trabajo, es muy variado. Así el menor número se encontró en los estudios de Mira-Pascual et al.¹⁹ y Fukugaiti et al.²³, con un total de 7 casos analizados cada uno. El mayor tamaño muestral para los Casos se correspondió con el estudio de Liu et al.⁴², con un análisis de 2.759 muestras. Cabe destacar que solo hay 4 (7%)

Tabla 1
Revisión sistemática de la bibliografía publicada en la base de datos MEDLINE PubMed hasta el día 1 de enero de 2020 sobre la relación entre *Fusobacterium nucleatum* y el cáncer colorrectal

Autor	Año Publicación física	Sexo total (m:h)	Casos CCR	Sexo Casos CCR (m:h)	Control-1: No CCR (n)	Sexo Control-1	Descripción Grupo Control-1	Control-2: Sexo Adenomas (n)	Sexo Control-2	¿Qué se analiza?	Prueba 1	Prueba 2	FN+/total Casos	FN+/total Control-1	FN+/total Control-2	Comentarios artículos
Castellarin et al. ¹⁵	2012	NC	11	NC	99	NC	Tejidos adyacentes no tumorales	NC	NC	RNA	PCR	NC	11/11	9/11	NC	Mayor porcentaje de FN en CCR que en tejido normal
Rubinstein et al. ¹⁶	2013	NC	51	NC	14	NC	Tejidos de sujetos sin tumor	NC	NC	RNAm	PCR	NC	NC	NC	NC	Mayor porcentaje de FadA en CCR que en tejido normal
Kostic et al. ⁴	2013	NC	27	NC	31	NC	Tejidos de sujetos sin tumor	28	NC	DNA y RNA	PCR	FISH	27/27	15/31	24/28	FN crea un estado proinflamatorio que favorece la progresión a CCR
Warren et al. ¹⁷	2013	NC	65	NC	65	NC	Tejidos adyacentes no tumorales	NC	NC	rRNA	Metatranscriptómica	NC	NC	NC	NC	Mayor porcentaje de FN en CCR que en tejido sano adyacente
Flanagan et al. ¹⁸	2014	NC	122	NC	174	NC	Tejidos adyacentes no tumorales	52	NC	DNA	PCR	NC	70/122	33/174	12/52	FN puede usarse como marcador para el CCR
Mira-Pascual et al. ¹⁹	2014	NC	7	NC	5	NC	Tejidos de sujetos sin tumor	NC	NC	DNA y RNA	PCR	Pirosecuenciación	2/7	0/5	NC	El aumento de niveles de las bacterias estudiadas se correlaciona con el CCR
Tahara et al. ²⁰	2014	NC	149	NC	89	NC	Tejidos adyacentes no tumorales	NC	NC	DNA	PCR	NC	78/149	27/89	NC	Mayor porcentaje de FN en CCR que en controles
Ito et al. ²¹	2015	NC	511	225:286	20	NC	Tejidos de sujetos sin tumor	456	39:59	DNA	PCR	NC	286/511	3/20	142/456	Mayor porcentaje de FN en CCR que en controles
Mima et al. ²²	2015	NC	598	NC	558	NC	Tejidos adyacentes no tumorales	NC	NC	DNA	PCR	NC	76/598	19/558	NC	FN crea un estado proinflamatorio que favorece la progresión a CCR
Yu et al. ¹⁰	2015	NC	42	NC	52	NC	Tejidos adyacentes no tumorales	47	NC	DNA	PCR	NC	NC	NC	NC	Mayor porcentaje de FN en CCR que en controles
Fukugaiti et al. ²³	2015	4:13	7	2:5	10	2:8	Heces	NC	NC	DNA	PCR	FISH	7/7	9/10	NC	Mayor porcentaje de FN en CCR que en controles
Nosho et al. ²⁴	2016	NC	511	225:286	NC	NC	No hay tejido control	NC	NC	DNA	PCR	NC	44/511	NC	NC	Menor porcentaje de positivos para FN en la cohorte japonesa
Repass et al. ²⁵	2016	NC	40	NC	40	NC	Tejidos adyacentes no tumorales	NC	NC	DNA	PCR	NC	NC	NC	NC	Mayor porcentaje de FN en CCR que en tejido normal
Li et al. ²⁶	2016	46:55	101	46:55	101	46:55	Tejidos adyacentes no tumorales	NC	NC	DNA	PCR	FISH	88/101	NC	NC	Mayor cantidad de FN en CCR se asocia con menor tiempo de supervivencia
Yu et al. ²⁷	2016	NC	93	NC	20	NC	Tejidos de sujetos sin tumor	112	NC	DNA	PCR	NC	62/93	4/20	47/112	FN puede jugar un papel en la vía serrada de la carcinogénesis para CCR
Mima et al. ²⁸	2016	NC	1.102	NC	NC	NC	No hay tejido control	NC	NC	DNA	PCR	NC	138/1.102	NC	NC	Aumenta la proporción de FN desde los CCR del recto a los cecales

Tabla 1 (continuación)

Autor	Año Publicación física	Sexo total (m:h)	Casos CCR	Sexo Casos CCR (m:h)	Control-1: No CCR (n)	Sexo Control-1	Descripción Grupo Control-1	Control-2: Adenomas (n)	Sexo Control-2	¿Qué se analiza?	Prueba 1	Prueba 2	FN+/total Casos	FN+/total Control-1	FN+/total Control-2	Comentarios artículos
Yu et al. ⁵	2017	NC	74	NC	54	NC	Tejidos de sujetos sin tumor	NC	NC	DNA	PCR	NC	39/74	2/54	NC	FN promueve la progresión de CCR a través de la modulación de las vías de la autofagia
Suehiro et al. ²⁹	2017	NC	158	NC	60	NC	Tejidos de sujetos sin tumor	19	NC	DNA	PCR	NC	NC	NC	NC	Media de copias de FN: 17,5 en el grupo control, 122 adenoma, 317 CCR
Liang et al. ³⁰	2017	NC	203	NC	236	NC	Tejidos de sujetos sin tumor	NC	NC	DNA	PCR	Secuenciación metagenómica	NC	NC	NC	Mayor porcentaje de FN en CCR que en controles
Wong et al. ³¹	2017	NC	104	NC	102	NC	Tejidos de sujetos sin tumor	103	NC	DNA	PCR	NC	NC	NC	NC	Mayor cantidad de FN en los adenomas con respecto a los controles p = 0,022
Mehta et al. ³²	2017	NC	1.019	NC	NC	NC	No hay tejido control	NC	NC	DNA	PCR	NC	125/1.019	NC	NC	La asociación de la dieta con CCR es modificada por FN
Chen et al. ³³	2017	NC	98	40:58	NC	NC	No hay tejido control	NC	NC	DNA	FISH	NC	61/98	NC	NC	FN invasivo activa la vía de señalización beta-catenina
Ye et al. ³⁴	2017	NC	25	NC	25	NC	Tejidos adyacentes no tumorales	NC	NC	DNA	PCR	NC	4/25	2/25	NC	Mayor porcentaje de FN en CCR que en controles
Amitay et al. ³⁵	2017	220:280	46	15:31	231	121:110	Tejidos de sujetos sin tumor	223	84:139	DNA	PCR	NC	25/46	58/231	53/223	Mayor porcentaje de FN en CCR que en controles
Park et al. ³⁶	2017	82:78	160	82:78	NC	NC	No hay tejido control	NC	NC	DNA	PCR	NC	107/160	NC	NC	La mayor cantidad de FN en muestras tumorales se correlaciona con la presencia de macrófagos intratumorales
Eklöf et al. ³⁷	2017	NC	39	19:20	65	30:35	Tejidos de sujetos sin tumor	NC	NC	DNA	PCR	NC	27/39	15/65	NC	Mayor cantidad de FN en CCR que en controles
Bullman et al. ³⁸	2017	NC	77	NC	NC	NC	No hay tejido control	NC	NC	RNA	PCR	FISH	45/77	NC	NC	La reducción de FN con antibióticos produce una menor proliferación cancerígena
Drewes et al. ³⁹	2017	NC	58	NC	34	NC	Tejidos de sujetos sin tumor	NC	NC	RNA	PCR	FISH	17/58	1/34	NC	Mayor cantidad de bacterias en CCR que en tejido sano
Yamaoka et al. ⁴⁰	2018	NC	100	NC	72	NC	Tejidos adyacentes no tumorales	NC	NC	DNA	PCR	NC	75/100	46/72	NC	Mayor cantidad de FN en CCR que en controles
Guevara et al. ⁶	2018	NC	37	NC	37	NC	Tejidos de sujetos sin tumor	NC	NC	Anticuerpos anti-FN	ELISA	NC	37/37	12/37	NC	La proteína Fap2 de FN es antigénica
Dai et al. ⁴¹	2018	206:320	255	92:163	271	114:157	Heces	NC	NC	DNA	Metagenómica	NC	NC	NC	NC	Mayor porcentaje de FN en CCR que en controles
Liu et al. ⁴²	2018	NC	2.759	NC	NC	NC	No hay tejido control	NC	NC	DNA	PCR	NC	951/2.759	NC	NC	Asociación positiva de dietas empíricas inflamatorias (EDIP) con CCR FN+

Tabla 1 (continuación)

Autor	Año Publicación física	Sexo total (m:h)	Casos CCR	Sexo Casos CCR (m:h)	Control-1: No CCR (n)	Sexo Control-1	Descripción Grupo Control-1	Control-2: Adenomas (n)	Sexo Control-2	¿Qué se analiza?	Prueba 1	Prueba 2	FN+/total Casos	FN+/total Control-1	FN+/total Control-2	Comentarios artículos
Chen et al. ⁴³	2018	NC	25	NC	7	NC	No hay tejido control	8	NC	DNA	FISH	Inmunofluorescencia	NC	NC	NC	Mayor expresión de TOX y CD4+ en tejidos FN– comparados con los FN+. Correlación negativa entre la abundancia de FN y la expresión de TOX
Guo et al. ⁴⁴	2018	NC	215	NC	156	NC	Tejidos de sujetos sin tumor	NC	NC	DNA	PCR	NC	NC	NC	NC	La relación FN/ <i>Bifidobacterium</i> tuvo una sensibilidad del 84,6% y una especificidad del 92,3% en detectar CCR
Komiya et al. ⁴⁵	2018	NC	14	NC	NC	NC	No hay tejido control	NC	NC	DNA	PCR	NC	8/14	NC	NC	Muestras de FN en tejido tumoral y en saliva
Lee et al. ⁴⁶	2018	NC	246	NC	NC	NC	No hay tejido control	NC	NC	DNA	PCR	NC	NC	NC	NC	Altos niveles de FN se asocian con una menor supervivencia en las metástasis de CCR
Rezasoltani et al. ⁴⁷	2018	NC	NC	NC	31	15:16	Tejidos de sujetos sin tumor	87	33:54	DNA	PCR	NC	NC	NC	NC	Relación significativa entre el tamaño del pólipo y la cuantificación de FN
Hamada et al. ⁴⁸	2018	609:432	1.041	609:432	NC	NC	No hay tejido control	NC	NC	DNA	PCR	NC	135/1.041	NC	NC	La asociación de FN con el CCR es diferente dependiendo de si el tumor tiene alterada la vía de los microsatélites
Oh et al. ⁴⁹	2018	231:362	593	231:362	NC	NC	No hay tejido control	NC	NC	DNA	PCR	NC	204/593	NC	NC	El pronóstico del tumor en relación con FN depende de la localización del CCR
Proença et al. ⁵⁰	2018	NC	43	NC	70	NC	Tejidos adyacentes no tumorales	27	NC	DNA	PCR	NC	33/43	23/70	14/27	FN es un factor de riesgo para CCR
Zhang et al. ⁵¹	2019	41:53	94	41:53	NC	NC	No hay tejido control	NC	NC	DNA	PCR	Microarray	21/90	NC	NC	FN induce la expresión del gen BIRC3 en CCR
Saito et al. ⁵²	2019	30:51	24	7:17	10	7:3	Tejidos de sujetos sin tumor	47	16:31	rRNA	PCR	NC	14/24	NC	28/47	FN puede asociarse con CCR y adenomas, y es un potencial marcador diagnóstico para ambos
Guo et al. ⁵³	2019	NC	46	NC	36	NC	Sangre	NC	NC	DNA	Secuenciación genómica	NC	NC	NC	NC	Mayor presencia de FN en los tejidos tumorales que en las muestras sanguíneas
Feng et al. ⁵⁴	2019	13:12	15	8:7	10	5:5	Tejidos de sujetos sin tumor	NC	NC	DNA	PCR	Western blot	10/15	5/10	NC	La expresión de la proteína CREB se correlaciona con la metástasis de CCR ya sea en FN+ como FN–
Tunsoj et al. ⁵⁵	2019	NC	25	NC	22	NC	Tejidos de sujetos sin tumor	25	NC	DNA	PCR	Secuenciación 16S rRNA	15/25	5/25	4/22	PCR para la detección de FN podría ser incluida como biomarcador de CCR
Bundgaard-Nielsen et al. ⁵⁶	2019	141:132	99	55:44	76	35:41	Tejidos adyacentes no tumorales	96	51:47	DNA	PCR	Secuenciación 16S rRNA	23/99	NC	3/96	No hay evidencia de que FN intervenga en el desarrollo de adenomas, pero puede tener un papel en la transición de adenoma a CCR

Tabla 1 (continuación)

Autor	Año Publicación física	Sexo total (m:h)	Casos CCR	Sexo Casos CCR (m:h)	Control-1: No CCR (n)	Sexo Control-1	Descripción Grupo Control-1	Control-2: Adenomas (n)	Sexo Control-2	¿Qué se analiza?	Prueba 1	Prueba 2	FN+/total Casos	FN+/total Control-1	FN+/total Control-2	Comentarios artículos
Güven et al. ⁵⁷	2019	NC	71	NC	77	NC	Saliva de controles no cancerosos	NC	NC	DNA	PCR	NC	NC	NC	NC	Mayor cantidad de FN en la saliva de los pacientes con CCR en comparación con los controles
Yachida et al. ⁵⁸	2019	NC	258	NC	291	NC	Heces	67	NC	DNA	Electroforesis capilar	Estudio metag-enómico y metabólico	NC	NC	NC	La abundancia de FN se correlaciona con la progresión tumoral desde carcinoma intramucoso a estadios más avanzados
Leung et al. ⁵⁹	2019	10:9	19	10:9	19	10:9	Tejidos adyacentes no tumorales	NC	NC	DNA	PCR	NC	NC	NC	NC	Mayor porcentaje de FN en CCR que en tejido normal
Kunzmann et al. ⁶⁰	2019	60:130	190	60:130	190	60:130	Tejidos adyacentes no tumorales	NC	NC	DNA	PCR	NC	61/190	129/190	NC	FN es más abundante en el tejido tumoral que en tejido circundante
Butt et al. ⁶¹	2019	NC	485	NC	485	NC	Sangre	NC	NC	Anticuerpos anti-FN	Serología	NC	NC	NC	NC	Los anticuerpos dirigidos contra FN no tienen asociación con el riesgo de desarrollar CCR
De Carvalho et al. ⁶²	2019	NC	152	NC	57	NC	Tejidos adyacentes no tumorales	NC	NC	DNA	PCR	NC	35/152	6/57	NC	La detección de DNA de FN se asocia con la localización proximal de los tumores, positividad para la mutación MSI, BRAF, pérdida de MLH1, MSH2 y PMS2. También con menor supervivencia
Chen et al. ⁶³	2019	36:55	91	36:55	NC	NC	No hay tejido control	NC	NC	DNA	PCR	NC	25/91	NC	NC	Mayor cantidad de FN en el tejido del CCR se asocia con un menor tiempo de supervivencia
Mima et al. ⁶⁴	2019	208:304	256	208:304	NC	NC	No hay tejido control	NC	NC	DNA	PCR	NC	140/256	NC	NC	Mayor cantidad de FN y otras bacterias asociadas al CCR aumentan el riesgo de rotura anastomótica tras la cirugía
Liang et al. ⁶⁵	2019	NC	274	NC	353	NC	Heces	353	NC	DNA	PCR	Prueba inmunohistoquímica fecal	71/274	97/385	145/353	Identificación del marcador m3 para el diagnóstico de CCR
Haruki et al. ⁶⁶	2019	423:301	724	423:301	NC	NC	No hay tejido control	NC	NC	DNA	PCR	NC	99/724	NC	NC	Asociación inversa entre la cantidad de FN y la expresión tumoral de BECN1
Chen et al. ⁶⁷	2019	NC	148	NC	NC	NC	No hay tejido control	NC	NC	DNA y RNA	PCR	FISH	88/148	NC	NC	FN se encuentra en mayor cantidad en los CCR con metástasis

CCR: cáncer colorrectal; FN: *Fusobacterium nucleatum*; NC: no consta información.

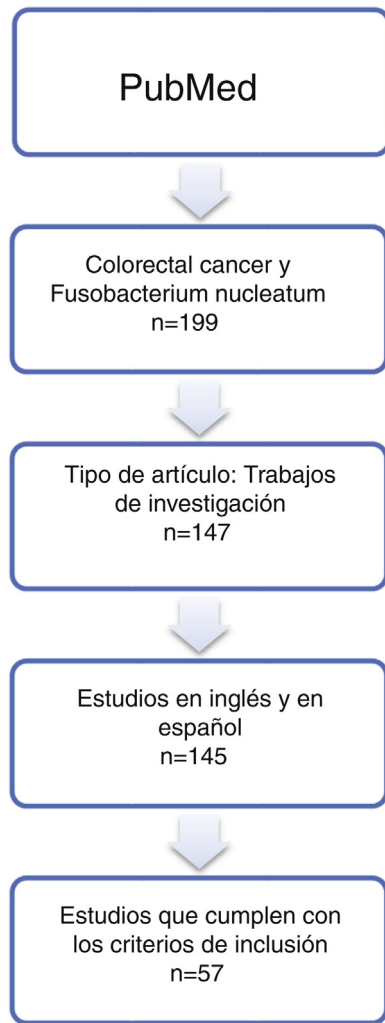


Figura 1. Diagrama de flujo de la revisión sistemática.

trabajos que superen los 1.000 individuos con CCR, y que fueron llevados a cabo entre los años 2017 y 2018.

En la **tabla 2** se reflejan los estudios (18 de los 40, 45%) que compararon, en Casos y Controles-1, la positividad de marcadores de infección por FN con datos cuantitativos de muestras de tejidos colónicos con pruebas de biología molecular. Por su peso, destacan los estudios Mima et al.²⁸, Flanagan et al.¹⁸ y Tahara et al.²⁰. Todos estos artículos tienen un peso superior al 10%. La estimación global de la OR de los resultados individuales obtenidos en estos trabajos dio un resultado de 4,558 (IC 95%: 3,312-6,272), que nos permite concluir que hay asociación significativa ($p < 0,001$) entre FN y el CCR cuando se utilizaron los Controles-1. Para calcular la heterogeneidad se llevó a cabo la prueba del inverso de la varianza, con un valor de $\chi^2 \text{exp.} = 30,54$, con 17 grados de libertad y $p = 0,023$, por lo que las diferencias encontradas entre los estudios no fueron debidas al azar. El estudio de heterogeneidad se corroboró utilizando la I^2 de Higgins, con un resultado de $I^2 = 44,3\%$ (**tabla 2** y **fig. 2**). No hubo sesgo de publicación evidente, tal y como se indica en las pruebas de Begg y Egger que no fueron significativas ($p = 0,767$ y $p = 0,210$, respectivamente) (**fig. 3**).

En la **tabla 3** se reflejan los estudios (9 de los 16, 56,25%) que compararon, en Casos y Controles-2 (adenomas colorrectales), la positividad de marcadores genéticos de infección por FN con datos cuantitativos de muestras de tejidos colónicos con pruebas de biología molecular. Destacan por su peso los trabajos de Ito et al.²¹, Flanagan et al.¹⁸, Yu et al.²⁷ y Amitay et al.³⁵, con un peso

Tabla 2

Relación de los 18 estudios que compararon, en Casos y Controles-1, la positividad de marcadores de infección por *Fusobacterium nucleatum* en muestras de biopsia intestinal mediante biología molecular

Estudio	OR	IC 95%	% peso
Castellarin et al., 2011	6,053	0,258-142,040	0,96
Kostic et al., 2013	58,548	3,282-1.044,602	1,14
Flanagan et al., 2014	5,752	3,413-9,693	10,85
Mira-Pascual et al., 2014	5,000	0,192-130,024	0,90
Tahara et al., 2014	2,523	1,449-4,393	10,46
Ito et al., 2015	7,203	2,085-24,884	4,62
Mima et al., 2015	4,130	2,463-6,926	10,91
Yu et al., 2017	28,971	6,567-127,806	3,55
Yu et al., 2016	8,000	2,465-25,968	4,96
Ye et al., 2017	2,190	0,363-13,219	2,61
Amitay et al., 2017	3,551	1,850-6,815	9,34
Yamaoka et al., 2018	1,696	0,876-3,282	9,24
Eklöf et al., 2017	7,500	3,074-18,297	6,97
Drewes et al., 2017	13,683	1,730-108,242	2,06
Proença et al., 2018	6,743	2,838-16,026	7,20
Feng et al., 2019	2,000	0,388-10,309	3,04
Tunnsjø et al., 2019	6,000	1,693-21,262	4,50
De Carvalho et al., 2019	2,543	1,007-6,421	6,68
D + L pooled OR	4,558	3,312-6,272	100,00

Heterogeneidad $\chi^2 = 30,54$ (g.l. = 17) $p = 0,023$.

I^2 (variación en OR atribuible a la heterogeneidad) = 44,3%.

Estimación de la varianza entre estudios Tau-cuadrado = 0,1736.

Test de OR = 1: $z = 9,31$, $p = 0,000$.

superior al 12%. La estimación global de la OR de los resultados individuales obtenidos en estos trabajos dio un resultado de 3,244 (IC 95%: 2,359-4,462), lo cual muestra una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de FN y el CCR ($p < 0,001$). Para analizar la heterogeneidad se llevó a cabo la prueba del inverso de la varianza, con un valor de $\chi^2 \text{exp.} = 12,33$, con 8 grados de libertad y $p = 0,137$, lo cual muestra que existe homogeneidad entre los estudios comparados. Además, la I^2 de Higgins mostró un valor del 35,1%, indicando un bajo nivel de heterogeneidad (**tabla 3** y **fig. 4**).

No hubo sesgo de publicación evidente, tal y como se indica en las pruebas de Begg y Egger que no fueron significativas ($p = 0,108$ y $p = 0,441$, respectivamente) (**fig. 5**).

Discusión

En este estudio se observa que la relación entre FN y el CCR es un tema que suscita interés, ya que hay un crecimiento exponencial de los trabajos que investigan esta relación. En cuanto al tamaño muestral de los estudios, 31 (54,4%) contaban con un número de muestras de casos inferior a 100, y solo 4 (7%) presentaban más de 1.000 muestras. Igualmente, en los trabajos publicados, solo 22 (55%) presentaban datos numéricos para los Controles-1 y 10 (17,5%) para los Controles-2. No obstante, en los últimos años se ha ido corrigiendo este hecho y en los estudios más actuales la tendencia es publicar los valores correspondientes. Ante todo, es necesario que los estudios que se lleven a cabo en el futuro presenten los datos numéricos cuantitativos para la positividad de FN en las muestras, ya que aporta una evidencia sólida y tratable estadísticamente sobre su asociación con el CCR. Otro hecho importante es la influencia del sexo en los resultados, que apenas ha sido estudiada en este campo, ya que en muchos estudios se prescinde de estos datos. El desglose por sexos de esta relación podría poner en evidencia si este podría considerarse un factor de riesgo en relación con la presencia de FN, ya que las enfermedades crónicas no transmisibles se relacionan con el estilo de vida de hombres y mujeres. En esta revisión sistemática solo se indica el sexo de los pacientes en 20 (35,1%) estudios del total de 57 artículos recopilados.

De forma semejante podrían estudiarse en futuros trabajos otras variables, como la dieta, ya que es un factor que algunos estudios,

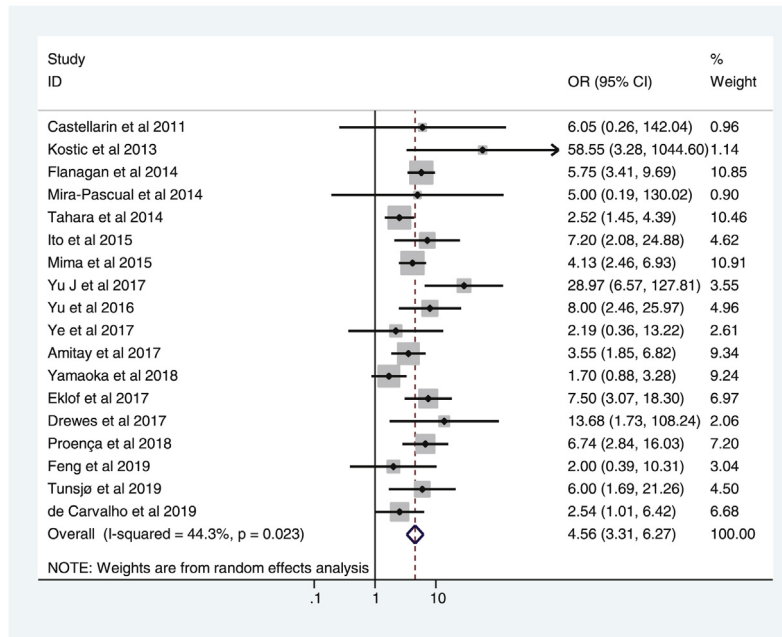


Figura 2. Forest plot de los 18 estudios que compararon, en Casos y Controles-1, la positividad de marcadores de infección por *Fusobacterium nucleatum* en muestras de biopsia intestinal mediante biología molecular.

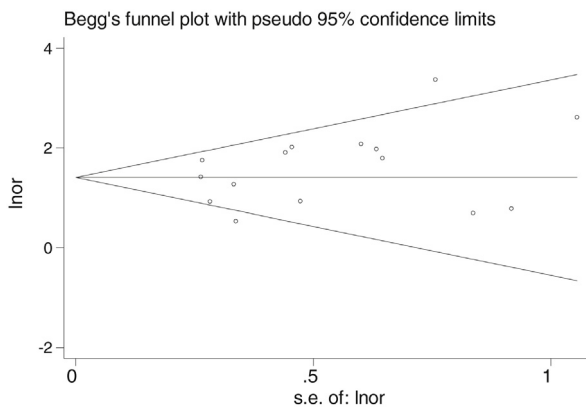


Figura 3. Funnel plot de los 18 estudios que compararon, en Casos y Controles-1, la positividad de marcadores de infección por *Fusobacterium nucleatum* en muestras de biopsia intestinal mediante biología molecular.

Tabla 3

Relación de 9 estudios que compararon, en Casos y Controles-2, la positividad de los marcadores de infección por *Fusobacterium nucleatum* en muestras de biopsia intestinal mediante biología molecular

Estudio	OR	IC 95%	% peso
Kostic et al., 2013	10,102	0,517-197,311	1,11
Flanagan et al., 2014	4,487	2,145-9,388	12,37
Ito et al., 2015	2,811	2,158-3,661	29,36
Yu et al., 2016	2,766	1,562-4,899	16,85
Amitay et al., 2017	3,819	1,980-7,366	14,35
Proença et al., 2018	3,064	1,089-8,623	7,54
Saito et al., 2019	0,950	0,350-2,580	7,97
Tunnsjø et al., 2019	6,750	1,755-25,956	4,86
Bundgaard-Nielsen et al., 2019	9,382	2,713-32,442	5,59
D + L pooled OR	3,244	2,359- 4,462	100,00

Heterogeneidad $\chi^2 = 12,33$ (g.l. = 8) $p = 0,137$.

I^2 (variación en OR atribuible a la heterogeneidad) = 35,1%.

Estimación de la varianza entre estudios Tau-cuadrado = 0,0719.

Test de OR = 1: $z = 7,24$ $p = 0,000$.

como el de Hussan et al.⁶⁸, han recogido y evidenciado que una dieta rica en fibra se relaciona con un menor riesgo de desarrollar CCR a pesar de tener un mayor número de muestras positivas de FN en la mucosa colónica, lo que parecería contradictorio.

También cabe destacar que la mayoría de las muestras analizadas en los trabajos procedían de tejidos, es decir, las muestras de CCR procedían del tejido tumoral y las muestras de los controles procedían de tejido sano, ya que, en principio, su estudio debe aportar una información más completa. De lo publicado hasta la fecha, se ha deducido que existe una importante presencia de FN en el tejido del CCR en comparación con tejidos sanos adyacentes^{15,18,20,28,69}, con un aumento gradual de FN desde la mucosa sana hasta el adenoma y de este al adenocarcinoma, lo que sugiere que FN puede jugar un papel importante desde las etapas más iniciales de la génesis tumoral colónica^{4,10,18,70}; que hay una asociación entre esta presencia y la invasión de ganglios linfáticos por el CCR^{15,26,71} y que FN acompaña a las células tumorales en las metástasis³⁸. De esta forma se ha explicado que la cantidad de FN en el CCR se relaciona con el estadio, resistencia a la quimioterapia, mayor recurrencia y menor supervivencia, siendo un factor predictivo independiente^{10,26,28,38,70,72,73}.

Solo 4 (7%) trabajos llevaron a cabo los análisis en muestras fecales, uno (1,8%) en muestras sanguíneas y otro (1,8%) en muestras salivares, concluyendo que existe una sobreabundancia de FN en las heces de pacientes con CCR. FN es 132 veces más abundante en las heces de pacientes con CCR y su determinación se ha señalado como un marcador útil para detectar el CCR²⁹⁻³¹, mostrando una sensibilidad y especificidad del 80,2% y 80,7%, respectivamente, que aumentan al 92-93% cuando se combina con la detección de sangre oculta en heces⁷⁴. Sería de interés comprobar la asociación de FN y el CCR simultáneamente en muestras de tejido, fecales, salivares y sanguíneas, ya que en caso de aumentar los estudios y descubrir asociación significativa tendría un gran interés diagnóstico para el paciente puesto que son muestras relativamente fáciles de recoger y sin necesidad de llevar a cabo una colonoscopia para su obtención.

En base a todos los estudios realizados hasta la actualidad se podría aceptar la participación de FN en el mecanismo de carcinogénesis del CCR, ya que existe una asociación estadísticamente

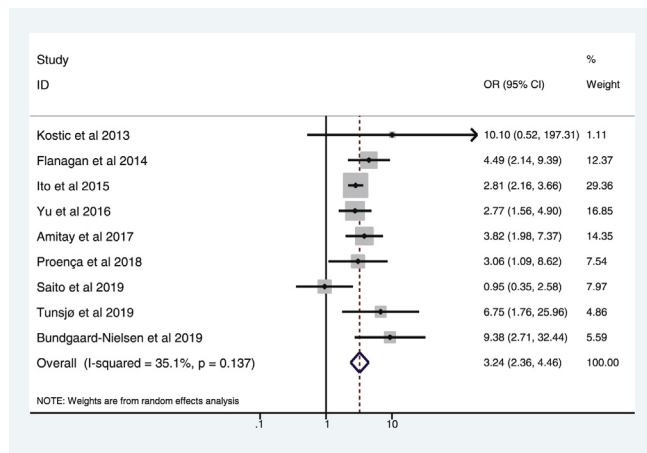


Figura 4. Forest plot de los 8 estudios que compararon, en Casos y Controles-2, la positividad de marcadores de infección por *Fusobacterium nucleatum* en muestras de biopsia intestinal mediante biología molecular.

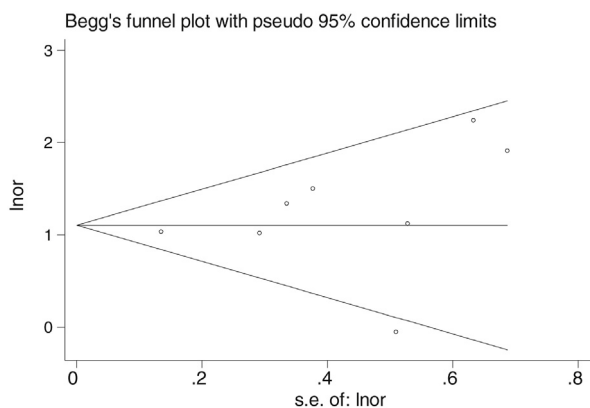


Figura 5. Funnel plot de los 8 estudios que compararon, en Casos y Controles-2, la positividad de marcadores de infección por *Fusobacterium nucleatum* en muestras de biopsia intestinal mediante biología molecular.

significativa entre la presencia de FN y el CCR; sin embargo, para determinar que esta bacteria es el verdadero origen del tumor deberían cumplirse los criterios de causalidad⁷⁵, principalmente la temporalidad, dirección y asociación. En este caso no se puede demostrar el criterio de temporalidad, por el cual el efecto debe ser precedido por la causa. La mayoría de los estudios que investigan la asociación entre FN y el CCR son retrospectivos, por lo que no se puede saber si la bacteria estaba presente antes de desarrollar el tumor o fue adquirida después; entonces, se necesita más evidencia para confirmar esta causalidad.

Múltiples estudios, entre los que destacan por su peso en el metaanálisis los de Mima et al.²⁸, Flanagan et al.¹⁸ y Tahara et al.²⁰, confirman que existe una relación entre FN y el CCR cuando se compara tejido sano procedente de Controles-1 y los Casos de CCR, si bien es necesario clarificar esta asociación, ya que, entre otras cosas, actualmente no hay estudios prospectivos que demuestren que la presencia de la bacteria preceda al desarrollo del tumor. En la actualidad se conoce que el sustrato etiopatogénico se corresponde con la activación de un estado inflamatorio crónico derivado de la adhesión de la bacteria a través de un mecanismo de disbiosis intestinal. Todo este proceso lleva a un inicio de vías asociadas con la carcinogénesis colorrectal, destacando la vía Wnt/ β -catenina cuya disregulación causa fallos en el crecimiento celular y progresión tumoral⁷⁶. El estudio en profundidad de la activación de estas vías proinflamatorias y los mecanismos por los cuales se producen abrirá múltiples posibilidades diagnóstico-terapéuticas en

uno de los tumores más incidentes de la actualidad, lo cual traería consigo un notable beneficio en el curso de esta enfermedad. Nuestro metaanálisis indica una mayor presencia de FN en muestras de tejido tumoral colorrectal con respecto a tejido sano con una OR de 4,558 y un intervalo de confianza al 95% de 3,312-6,272, lo que confirma la asociación significativa entre la presencia de FN en las muestras de tejido con el desarrollo de CCR; no obstante, es necesario clarificar el sentido de esta relación con estudios prospectivos que confirmen la temporalidad de la asociación, hecho que otros metaanálisis como el de Hussan et al.⁶⁸ también mencionan en su trabajos.

Por otra parte, estudios recientes como el de Yu et al.⁷⁰ describen el papel de FN en la quimiorresistencia en pacientes con CCR, indicando que un aumento de la cantidad de FN en el tejido tumoral se relaciona con una mayor tasa de quimiorresistencia. Por este motivo sería interesante la realización de más investigaciones sobre el tiempo de supervivencia de los pacientes en relación con la concentración de FN en el tejido tumoral, ya que este hecho podría significar la existencia de más dianas terapéuticas en esta enfermedad como el tratamiento erradicador de la bacteria.

En el caso de la comparación entre los Controles-2 (adenomas colorrectales) y los Casos de CCR, es importante destacar que no todos los artículos utilizaban muestras de los mismos tipos de adenomas colorrectales, estudiando una amplia variedad de tipos histológicos dentro de la denominación de adenoma colorrectal. Además, actualmente hay menos trabajos que relacionen la presencia de FN con los adenomas colorrectales, por tanto, la escasez de artículos unida a la falta de uniformidad de criterios para la selección de las muestras indica que en un futuro debería estudiarse esta asociación con más profundidad, debiéndose analizar también si FN contribuye más que a la formación del adenoma a la malignización de este.

Hay múltiples artículos, entre los que destacan Mima et al.²⁸, Yu et al.⁵ y Lee et al.⁴⁶, entre otros, que relacionan la supervivencia del CCR en función de la presencia o ausencia de FN, si bien no hay trabajos que demuestren que con la erradicación de la bacteria pudiera obtenerse un mejor pronóstico en el tratamiento del tumor o una mejora en el tratamiento quimioterápico. Tampoco hay estudios que relacionen el tener una buena higiene dental con la presencia de CCR, ya que al ser FN una bacteria colonizadora de la cavidad oral, podría estudiarse la relación entre su cantidad en dicha cavidad y en la mucosa colónica.

La principal limitación de esta revisión sistemática es la inclusión de trabajos publicados en MEDLINE PubMed y no en otras bases de datos ni las tesis doctorales sobre el tema. Por este motivo asumimos que, aunque escasa, se ha podido perder información publicada, que, por otro lado, presumiblemente podría ser poco relevante. En cuanto a la limitación del idioma, solo se han incluido trabajos publicados en inglés y en español, aunque la mayoría de las revistas indexadas en MEDLINE estaban publicadas en inglés, y solo se excluyeron por este motivo 2 trabajos. Incluso la asociación de mayor frecuencia de FN en las muestras de CCR no implica una causalidad que pueda permitir una estrategia preventiva. Podría ser una consecuencia del tejido tumoral que facilitara la infección posterior por FN.

Conclusiones

En base a los resultados de esta revisión sistemática y metaanálisis encontramos que existe asociación entre la presencia de FN y el CCR. Finalmente, para obtener una conclusión definitiva, es necesario que se desarrollen nuevos estudios comparativos, con un número suficiente de pacientes, que utilicen la combinación de varias técnicas microbiológicas para un mismo sujeto y muestra,

y analicen simultáneamente tejidos neoplásico y sano, mediante técnicas estandarizadas y con una adecuada sensibilidad.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*. 2015;65:87–108.
- Furman D, Campisi J, Verdin E, Carrera-Bastos P, Targ S, Franceschi C, et al. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nat Med*. 2019;25:1822–32.
- Benson VS, Patnick J, Davies AK, Nadel MR, Smith RA, Atkin WS. International Colorectal Cancer Screening Network Colorectal cancer screening: a comparison of 35 initiatives in 17 countries. *Int J Cancer*. 2008;122:1357–67.
- Kostic AD, Chun E, Robertson L, Glickman JN, Gallini CA, Michaud M, et al. *Fusobacterium nucleatum* potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment. *Cell Host Microbe*. 2013;14:207–15.
- Yu J, Feng Q, Wong SH, Zhang D, Liang QY, Qin Y, et al. Metagenomic analysis of faecal microbiome as a tool towards targeted non-invasive biomarkers for colorectal cancer. *Gut*. 2017;66:70–8.
- Guevara LA Jr, Afafe ACF, Belza PJO, Dy KJS, Lee SJQ, Sy-Ortin TT, et al. Immunogenicity of a Fap2 peptide mimotope of *Fusobacterium nucleatum* and its potential use in the diagnosis of colorectal cancer. *Infect Agent Cancer*. 2018;13:11.
- Zerón, Gutiérrez de Velasco A, Porras Lira D. *Fusobacterium nucleatum* ¿Un patógeno periodontal promotor de carcinogénesis colorrectal? *Revista ADM*. 2016;73:280–5.
- Nougayrède JP, Homburg S, Taieb F, Boury M, Brzuszkiewicz E, Gottschalk G, et al. *Escherichia coli* induces DNA double-strand breaks in eukaryotic cells. *Science*. 2006;313:848–51.
- Xu M, Yamada M, Li M, Liu H, Chen SG, Han YW. FadA from *Fusobacterium nucleatum* utilizes both secreted and nonsecreted forms for functional oligomerization for attachment and invasion of host cells. *J Biol Chem*. 2007;282:25000–9.
- Yu YN, Yu TC, Zhao HJ, Sun TT, Chen HM, Chen HY, et al. Berberine may rescue *Fusobacterium nucleatum*-induced colorectal tumorigenesis by modulating the tumor microenvironment. *Oncotarget*. 2015;6:32013–26.
- Idrissi Janati A, Karp I, Sabri H, Emami E. Is a *Fusobacterium nucleatum* infection in the colon a risk factor for colorectal cancer?: a systematic review and meta-analysis protocol. *Syst Rev*. 2019;8:114.
- DerSimonian R, Laird N. Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials*. 1986;7:177–88.
- Begg CB, Mazumdar M. Operating characteristics of a rank correlation test for publication bias. *Biometrics*. 1994;50:1088–101.
- Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ*. 1997;315:629–34.
- Castellarin M, Warren RL, Freeman JD, Dreolini L, Krzywinski M, Strauss J, et al. *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genome Res*. 2012;22:299–306.
- Rubinstein MR, Wang X, Liu W, Hao Y, Cai G, Han YW. *Fusobacterium nucleatum* promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/β-catenin signaling via its FadA adhesin. *Cell Host Microbe*. 2013;14:195–206.
- Warren RL, Freeman DJ, Pleasance S, Watson P, Moore RA, Cochrane K, et al. Co-occurrence of anaerobic bacteria in colorectal carcinomas. *Microbiome*. 2013;1:16.
- Flanagan L, Schmid J, Ebert M, Soucek P, Kunicka T, Liska V, et al. *Fusobacterium nucleatum* associates with stages of colorectal neoplasia development, colorectal cancer and disease outcome. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014;33:1381–90.
- Mira-Pascual L, Cabrera-Rubio R, Ocon S, Costales P, Parra A, Suarez A, et al. Microbial mucosal colonic shifts associated with the development of colorectal cancer reveal the presence of different bacterial and archaeal biomarkers. *J Gastroenterol*. 2015;50:167–79.
- Tahara T, Yamamoto E, Suzuki H, Maruyama R, Chung W, Garriga J, et al. *Fusobacterium* in colonic flora and molecular features of colorectal carcinoma. *Cancer Res*. 2014;74:1311–8.
- Ito M, Kanno S, Noshio K, Sukawa Y, Mitsuhashi K, Kurihara H, et al. Association of *Fusobacterium nucleatum* with clinical and molecular features in colorectal serrated pathway. *Int J Cancer*. 2015;137:1258–68.
- Mima K, Sukawa Y, Nishihara R, Qian ZR, Yamauchi M, Inamura K, et al. *Fusobacterium nucleatum* and T cells in colorectal carcinoma. *JAMA Oncol*. 2015;1:653–61.
- Fukugaiti MH, Ignacio A, Fernandes MR, Ribeiro Júnior U, Nakano V, Avila-Campos MJ. High occurrence of *Fusobacterium nucleatum* and *Clostridium difficile* in the intestinal microbiota of colorectal carcinoma patients. *Braz J Microbiol*. 2015;46:1135–40.
- Noshio K, Sukawa Y, Adachi Y, Ito M, Mitsuhashi K, Kurihara H, et al. Association of *Fusobacterium nucleatum* with immunity and molecular alterations in colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2016;22:557–66.
- Repass J, Maherali N, Owen K. Reproducibility Project: Cancer Biology. Reproducibility project cancer biology. Registered report: *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Elife*. 2016;5:e10012.
- Li YY, Ge QX, Cao J, Zhou YJ, Du YL, Shen B, et al. Association of *Fusobacterium nucleatum* infection with colorectal cancer in Chinese patients. *World J Gastroenterol*. 2016;22:3227–33.
- Yu J, Chen Y, Fu X, Zhou X, Peng Y, Shi L, et al. Invasive *Fusobacterium nucleatum* may play a role in the carcinogenesis of proximal colon cancer through the serrated neoplasia pathway. *Int J Cancer*. 2016;139:1318–26.
- Mima K, Nishihara R, Qian ZR, Cao Y, Sukawa Y, Nowak JA, et al. *Fusobacterium nucleatum* in colorectal carcinoma tissue and patient prognosis. *Gut*. 2016;65:1973–80.
- Suehiro Y, Sakai K, Nishioka M, Hashimoto S, Takami T, Higaki S, et al. Highly sensitive stool DNA testing of *Fusobacterium nucleatum* as a marker for detection of colorectal tumours in a Japanese population. *Ann Clin Biochem*. 2017;54:86–91.
- Liang Q, Chiu J, Chen Y, Huang Y, Higashimori A, Fang J, et al. Fecal bacteria act as novel biomarkers for noninvasive diagnosis of colorectal cancer. *Clin Cancer Res*. 2017;23:2061–70.
- Wong SH, Kwong TNY, Chow TC, Luk AKC, Dai RZW, Nakatsu G, et al. Quantitation of faecal *Fusobacterium* improves faecal immunochemical test in detecting advanced colorectal neoplasia. *Gut*. 2017;66:1441–8.
- Mehta RS, Nishihara R, Cao Y, Song M, Mima K, Qian ZR, et al. Association of dietary patterns with risk of colorectal cancer subtypes classified by *Fusobacterium nucleatum* in tumor tissue. *JAMA Oncol*. 2017;3:921–7.
- Chen Y, Peng Y, Yu J, Chen T, Wu Y, Shi L, et al. Invasive *Fusobacterium nucleatum* activates beta-catenin signaling in colorectal cancer via a TLR4/P-PAK1 cascade. *Oncotarget*. 2017;8:31802–4.
- Ye X, Wang R, Bhattacharya R, Boulbes DR, Fan F, Xia L, et al. *Fusobacterium nucleatum* subspecies *animalis* influences proinflammatory cytokine expression and monocyte activation in human colorectal tumors. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2017;10:398–409.
- Amitay EL, Werner S, Vital M, Pieper DH, Höfler D, Gierse IJ, et al. *Fusobacterium* and colorectal cancer: causal factor or passenger? Results from a large colorectal cancer screening study. *Carcinogenesis*. 2017;38:781–8.
- Park HE, Kim JH, Cho NY, Lee HS, Kang GH. Intratumoral *Fusobacterium nucleatum* abundance correlates with macrophage infiltration and CDKN2A methylation in microsatellite-unstable colorectal carcinoma. *Virchows Arch*. 2017;471:329–36.
- Eklöf V, Löfgren-Burström A, Zingmark C, Edin S, Larsson P, Karling P, et al. Cancer-associated fecal microbial markers in colorectal cancer detection. *Int J Cancer*. 2017;141:2528–36.
- Bullman S, Pedamallu CS, Sicinska E, Clancy TE, Zhang X, Cai D, et al. Analysis of *Fusobacterium* persistence and antibiotic response in colorectal cancer. *Science*. 2017;358:1443–8.
- Drewes JL, White JR, Dejea CM, Fathi P, Iyadorai T, Vadivelu J, et al. High-resolution bacterial 16S rRNA gene profile meta-analysis and biofilm status reveal common colorectal cancer consortia. *NPJ Biofilms Microbiomes*. 2017;3:34.
- Yamaoka Y, Suehiro Y, Hashimoto S, Hoshida T, Fujimoto M, Watanabe M, et al. *Fusobacterium nucleatum* as a prognostic marker of colorectal cancer in a Japanese population. *J Gastroenterol*. 2018;53:517–24.
- Dai Z, Coker OO, Nakatsu G, Wu WKK, Zhao L, Chen Z, et al. Multi-cohort analysis of colorectal cancer metagenome identified altered bacteria across populations and universal bacterial markers. *Microbiome*. 2018;6:70.
- Liu L, Tabung FK, Zhang X, Nowak JA, Qian ZR, Hamada T, et al. Diets that promote colon inflammation associate with risk of colorectal carcinomas that contain *Fusobacterium nucleatum*. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018;16:1622–31.
- Chen T, Li Q, Wu J, Wu Y, Peng W, Li H, et al. *Fusobacterium nucleatum* promotes M2 polarization of macrophages in the microenvironment of colorectal tumours via a TLR4-dependent mechanism. *Cancer Immunol Immunother*. 2018;67:1635–46.
- Guo S, Li L, Xu B, Li M, Zeng Q, Xiao H, et al. A simple and novel fecal biomarker for colorectal cancer: ratio of *Fusobacterium nucleatum* to probiotics populations, based on their antagonistic effect. *Clin Chem*. 2018;64:1327–37.
- Komiya Y, Shimomura Y, Higurashi T, Sugi Y, Arimoto J, Umezawa S, et al. Patients with colorectal cancer have identical strains of *Fusobacterium nucleatum* in their colorectal cancer and oral cavity. *Gut*. 2019;68:1335–7.
- Lee DW, Han SW, Kang JK, Bae JM, Kim HP, Won JK, et al. Association between *Fusobacterium nucleatum*, pathway mutation, and patient prognosis in colorectal cancer. *Ann Surg Oncol*. 2018;25:3389–95.
- Rezasoltani S, Asadzadeh Aghdai H, Dabiri H, Akhavan Sepahi A, Modarresi MH, Nazemalhosseini Mojarad E. The association between fecal microbiota and different types of colorectal polyp as precursors of colorectal cancer. *Microb Pathog*. 2018;124:244–9.
- Hamada T, Zhang X, Mima K, Bullman S, Sukawa Y, Nowak JA, et al. *Fusobacterium nucleatum* in colorectal cancer relates to immune response differentially by tumor microsatellite instability status. *Cancer Immunol Res*. 2018;6:1327–36.
- Oh HJ, Kim JH, Bae JM, Kim HJ, Cho NY, Kang GH. Prognostic impact of *Fusobacterium nucleatum* depends on combined tumor location and microsatellite instability status in stage II/III colorectal cancers treated with adjuvant chemotherapy. *J Pathol Transl Med*. 2019;53:40–9.
- Pronça MA, Biselli JM, Succi M, Severino FE, Berardinelli GN, Caetano A, et al. Relationship between *Fusobacterium nucleatum*, inflammatory mediators and microRNAs in colorectal carcinogenesis. *World J Gastroenterol*. 2018;24:5351–65.
- Zhang S, Yang Y, Weng W, Guo B, Cai G, Ma Y, et al. *Fusobacterium nucleatum* promotes chemoresistance to 5-fluorouracil by upregulation of BIRC3 expression in colorectal cancer. *J Exp Clin Cancer Res*. 2019;38:14.

52. Saito K, Koido S, Odamaki T, Kajihara M, Kato K, Horiuchi S, et al. Metagenomic analyses of the gut microbiota associated with colorectal adenoma. *PLoS One*. 2019;14:e0212406.
53. Guo M, Xu E, Ai D. Inferring bacterial infiltration in primary colorectal tumors from host whole genome sequencing data. *Front Genet*. 2019;10:213.
54. Feng YY, Zeng DZ, Tong YN, Lu XX, Dun GD, Tang B, et al. Alteration of microRNA-4474/4717 expression and CREB-binding protein in human colorectal cancer tissues infected with *Fusobacterium nucleatum*. *PLoS One*. 2019;14:e0215088.
55. Tunstjø HS, Gundersen G, Rangnes F, Noone JC, Endres A, Bemanian V. Detection of *Fusobacterium nucleatum* in stool and colonic tissues from Norwegian colorectal cancer patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019;38:1367–76.
56. Bundgaard-Nielsen C, Baandrup UT, Nielsen LP, Sørensen S. The presence of bacteria varies between colorectal adenocarcinomas, precursor lesions and non-malignant tissue. *BMC Cancer*. 2019;19:399.
57. Guven DC, Dizdar O, Alp A, Akdoğan Kittana FN, Karakoc D, Hamaloglu E, et al. Analysis of *Fusobacterium nucleatum* and *Streptococcus gallolyticus* in saliva of colorectal cancer patients. *Biomark Med*. 2019;13:725–35.
58. Yachida S, Mizutani S, Shiroma H, Shiba S, Nakajima T, Sakamoto T, et al. Metagenomic and metabolomic analyses reveal distinct stage-specific phenotypes of the gut microbiota in colorectal cancer. *Nat Med*. 2019;25:968–76.
59. Leung PHM, Subramanya R, Mou Q, Lee KT, Islam F, Gopalan V, et al. Characterization of mucosa-associated microbiota in matched cancer and non-neoplastic mucosa from patients with colorectal cancer. *Front Microbiol*. 2019;10:1317.
60. Kunzmann AT, Proença MA, Jordao HW, Jiraskova K, Schneiderova M, Levy M, et al. *Fusobacterium nucleatum* tumor DNA levels are associated with survival in colorectal cancer patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019;38:1891–9.
61. Butt J, Jenab M, Pawlita M, Overvad K, Tjønneland A, Olsen A, et al. Antibody responses to *Fusobacterium nucleatum* proteins in prediagnostic blood samples are not associated with risk of developing colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2019;28:1552–5.
62. De Carvalho AC, de Mattos Pereira L, Datorre JG, Dos Santos W, Berardinelli GN, Matsushita MM, et al. Microbiota profile and impact of *Fusobacterium nucleatum* in colorectal cancer patients of Barretos Cancer Hospital. *Front Oncol*. 2019;9:813.
63. Chen Y, Lu Y, Ke Y, Li Y. Prognostic impact of the *Fusobacterium nucleatum* status in colorectal cancers. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98:e17221.
64. Mima K, Sakamoto Y, Kosumi K, Ogata Y, Miyake K, Hiyoshi Y, et al. Mucosal cancer-associated microbes and anastomotic leakage after resection of colorectal carcinoma. *Surg Oncol*. 2020;32:63–8.
65. Liang JQ, Li T, Nakatsu G, Chen YX, Yau TO, Chu E, et al. A novel faecal *Lachnospirillum* marker for the non-invasive diagnosis of colorectal adenoma and cancer. *Gut*. 2020;69:1248–57.
66. Haruki K, Kosumi K, Hamada T, Twombly TS, Väyrynen JP, Kim SA, et al. Association of autophagy status with amount of *Fusobacterium nucleatum* in colorectal cancer. *J Pathol*. 2020;250:397–408.
67. Chen S, Su T, Zhang Y, Lee A, He J, Ge Q, et al. *Fusobacterium nucleatum* promotes colorectal cancer metastasis by modulating *KRT7-AS/KRT7*. *Gut Microbes*. 2020;11:511–25.
68. Hussan H, Clinton SK, Roberts K, Bailey MT. *Fusobacterium's* link to colorectal neoplasia sequenced: A systematic review future insights. *World J Gastroenterol*. 2017;23:8626–50.
69. Yamamura K, Baba Y, Miyake K, Nakamura K, Shigaki H, Mima K, et al. *Fusobacterium nucleatum* in gastroenterological cancer: Evaluation of measurement methods using quantitative polymerase chain reaction and a literature review. *Oncol Lett*. 2017;14:6373–8.
70. Yu T, Guo F, Yu Y, Sun T, Ma D, Han J, et al. *Fusobacterium nucleatum* promotes chemoresistance to colorectal cancer by modulating autophagy. *Cell*. 2017;170:548–63.
71. Yan X, Liu L, Li H, Qin H, Sun Z. Clinical significance of *Fusobacterium nucleatum*, epithelial-mesenchymal transition, and cancer stem cell markers in stage III/IV colorectal cancer patients. *Onco Targets Ther*. 2017;10:5031–46.
72. Ramos A, Hemann MT. Drugs, bugs, and cancer: *Fusobacterium nucleatum* promotes chemoresistance in colorectal cancer. *Cell*. 2017;170:411–3.
73. Bashir A, Miskeen AY, Bhat A, Fazili KM, Ganai BA. *Fusobacterium nucleatum*: an emerging bug in colorectal tumorigenesis. *Eur J Cancer Prev*. 2015;24:373–85.
74. Dejea CM, Wick EC, Hechenbleikner EM, White JR, Mark Welch JL, Rossetti BJ, et al. Microbiota organization is a distinct feature of proximal colorectal cancers. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2014;111:18321–6, 8.
75. Bradford-Hill A. The environment and disease: association and causation. *Proc R Soc Med*. 1965;58:295–300.
76. Mantilla C, Suárez-Mellado, Duque-Jaramillo A, Navas MC. Mecanismos de señalización por β -catenina y su papel en la carcinogénesis. *CES Med*. 2015;29:109–28.