

重症肺炎患者肠道微生物群落的宏基因组学研究及其对抗菌药物疗效的预测价值

王利军 张红红 龙春欢

【摘要】目的 研究重症肺炎（SP）患者肠道微生物群落的宏基因组学及其对抗菌药物疗效的预测价值。**方法** 回顾性选择2022年3月至2024年3月于石家庄市人民医院就诊的126例SP患者为研究对象，根据其使用抗菌药物后的疗效分为有效组（84例）和无效组（42例）。收集两组患者的粪便样本并进行DNA提取，随后进行16S rRNA基因V4区域的测序分析，将测序分析结果纳入宏基因组学研究。采用独立样本 t 检验、主坐标分析（PCoA）、非参数协方差分析（PERMANOVA）和相似性分析（ANOSIM）分析两组患者肠道菌群丰度、微生物网络和基因功能等差异。**结果** 两组患者年龄、性别、BMI、饮酒史、吸烟史、并发症、是否合并基础疾病和基础疾病用药差异均无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。稀释性曲线和物种累积曲线显示，该体系测序数量充足，测序深度合理。 α 多样性分析结果显示，两组间Shannon指数和Simpson指数差异均有统计学意义（ $t = 3.958$ 、 $P = 0.025$ ， $t = 6.583$ 、 $P < 0.001$ ）； β 多样性分析结果显示两组样本菌群显著分离（ $F = 6.665$ 、 $P < 0.001$ ）。两组样本在门层级水平上共检测出18个菌门，主要为厚壁菌门、变形菌门、拟杆菌门、放线菌门和软壁菌门等；在属层级水平上，共检测出952个菌属，其中有8个菌属的相对丰度在3%以上，两组患者的优势菌种不一致。丰度比较结果显示：在门水平上，有效组厚壁菌门和变形菌门相对丰度低于无效组（ $t = 14.889$ 、 $P < 0.001$ ， $t = 2.508$ 、 $P = 0.013$ ），有效组拟杆菌门、放线菌门和软壁菌门相对丰度高于无效组（ $t = 17.776$ 、 $P < 0.001$ ， $t = 16.802$ 、 $P < 0.001$ ， $t = 1.997$ 、 $P = 0.048$ ）；在属水平上，有效组肠球菌属、链球菌属、克雷伯菌属和瘤胃球菌属相对丰度高于无效组（ $t = 16.663$ 、 $P < 0.001$ ； $t = 6.313$ 、 $P < 0.001$ ； $t = 9.826$ 、 $P < 0.001$ ； $t = 13.158$ 、 $P < 0.001$ ），有效组双歧杆菌属、大肠埃希菌属和梭菌属相对丰度低于无效组（ $t = 16.642$ 、 $P < 0.001$ ， $t = 18.814$ 、 $P < 0.001$ ， $t = 12.762$ 、 $P < 0.001$ ）。网络分析显示，有效组微生物网络节点和边的数量显著高于无效组，微生物网络结构比无效组更加复杂。基因功能富集分析显示，有效组相对丰度较高的基因功能是ATP结合、IMP生物合成过程和氯酸盐生物合成过程；无效组相对丰度较高的基因功能是胞质、核糖体的结构成分等。通路富集分析显示，有效组相对丰度较高的信号通路为淀粉降解、蔗糖降解和异亮氨酸生物合成；无效组相对丰度较高的信号通路为异戊二烯生物合成和甲基赤四醇磷酸途径。**结论** 抗菌药物治疗有效的SP患者样本丰度较高的菌群为肠球菌属、链球菌属和克雷伯菌属等；抗菌药物治疗无效的SP患者样本丰度较高的菌群为肠球菌属、大肠埃希菌属和双歧杆菌属等，肠道微生物群落的宏基因组学对抗菌药物的疗效具有一定预测价值。

【关键词】 肠道微生物；重症肺炎；宏基因组学；抗菌药物

Metagenomics study of intestinal microbial community in patients with severe pneumonia and its predictive value for antibiotic treatment Wang Lijun, Zhang Honghong, Long Chunhuan. Department of

Respiratory and Critical Care Medicine, Shijiazhuang People's Hospital, Shijiazhuang 050000, China

Corresponding author: Wang Lijun, Email: wlj851024@163.com

【Abstract】Objective To investigate the metagenomics of gut microbiota in patients with severe pneumonia (SP) and the predictive value for the efficacy of antimicrobial agents. **Methods** Total of 126

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2024.06.006

基金项目：石家庄市科学技术研究与发展计划项目（No. 211460803）

作者单位：050000 石家庄市，石家庄市人民医院呼吸与危重症医学科

通信作者：王利军，Email: wlj851024@163.com

patients with SP treated in Shijiazhuang People's Hospital from March 2022 to March 2024 were selected as the research objects, retrospectively. According to the efficacy of antibiotics, 126 cases were divided into effective group (84 cases) and ineffective group (42 cases). Stool samples were collected from both groups for DNA extraction, followed by sequencing analysis of the V4 region of the 16S rRNA gene. The results of sequencing analysis were included in the metagenomics study. The abundance, microbial network and gene function of the patients were analyzed by independent sample *t* test, principal coordinate analysis (PCoA), non-parametric analysis of covariance (PERMANOVA) and analysis of similarity (ANOSIM).

Results There were no significant differences in age, gender, BMI, drinking history, smoking history, complications, comorbidities and medication for underlying diseases between the two groups (all $P > 0.05$). The dilution curve and species accumulation curve showed that the sequencing amount of this system was sufficient and the sequencing depth was reasonable. The results of α diversity analysis showed that there were significant differences in Shannon index and Simpson index between the two groups ($t = 3.958$, $P = 0.025$; $t = 6.583$, $P < 0.001$). β diversity analysis showed that the two groups of samples were significantly separated ($F = 6.665$, $P < 0.001$). Total of 18 phyla were detected in the two groups of samples, mainly including *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* and *Tenericutes*. At the genus level, a total of 952 bacterial genera were detected, of which 8 genera had a relative abundance above 3%. The dominant species of the two groups were not consistent. The abundance comparison showed that: at the phylum level, the relative abundance of *Firmicutes* and *Proteobacteria* in the effective group was lower than that of the ineffective group ($t = 14.889$, $P < 0.001$; $t = 2.508$, $P = 0.013$), and the relative abundance of *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* and *Tenericutes* in the effective group was higher than that in the ineffective group ($t = 17.776$, $P < 0.001$; $t = 16.802$, $P < 0.001$; $t = 1.997$, $P = 0.048$). At the genus level, the relative abundance of *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella* and *Ruminococcus* in the effective group was higher than that of the ineffective group ($t = 16.663$, $P < 0.001$; $t = 6.313$, $P < 0.001$; $t = 9.826$, $P < 0.001$; $t = 13.158$, $P < 0.001$). The relative abundance of *Bifidobacterium*, *Escherichia coli* and *Clostridium* in effective group was lower than that of the ineffective group ($t = 16.642$, $P < 0.001$; $t = 18.814$, $P < 0.001$; $t = 12.762$, $P < 0.001$). Network analysis showed that the number of nodes and edges of the effective group was significantly higher than that of the ineffective group, and the structure of the microbial network was more complex than that of the ineffective group. Gene function enrichment analysis showed that the gene functions with higher relative abundance in the effective group were ATP binding, IMP biosynthesis process and chlorate biosynthesis process. The functions of genes with higher relative abundance in the ineffective group were cytoplasm and structural components of ribosomes. Pathway enrichment analysis showed that the signaling pathways with high relative abundance in the effective group were starch degradation, sucrose degradation and isoleucine biosynthesis. The signaling pathways with high relative abundance in the ineffective group were isoprene biosynthesis and methylerythritol phosphate pathway.

Conclusions *Enterococcus*, *Streptococcus* and *Klebsiella* were the most abundant bacteria in samples of patients with SP effectively treated with antibiotics. *Enterococcus*, *Escherichia coli* and *Bifidobacterium* were the most abundant bacteria in samples of patients with SP ineffectively treated with antibiotics, and the metagenomics of intestinal microbial community has a certain predictive value for the efficacy of antibiotics.

【Key words】 Intestinal microorganisms; Severe pneumonia; Metagenomics; Antibiotic

重症肺炎 (severe pneumonia, SP) 是肺部炎症未经及时有效治疗而逐渐恶化的呼吸系统疾病^[1]。SP病情危重, 具有临床表现多样、病原菌复杂多样、病情迅猛和致死率高的特点, 常常累及患者多器官, 引发肺组织严重损伤、呼吸衰竭、败血症、休克和多器官衰竭等并发症, 严重影响患者身心健康^[2-3]。肠道微生物群落是一个由细菌、真菌、肠道原生生物、古生菌、病毒和噬菌体构成的稳定系统, 对维持人体健康起到了重要作用^[4]。据报道,

肠道微生物群落与肺部疾病密切相关, 肠道微生物群落可以影响肺的免疫反应^[5], 同样肺部肠道微生物群落也可以通过多种通路影响肠道微生物群落, 二者间的相互联系被称为“肠-肺轴”学说^[6]。宏基因组测序是目前研究肠道微生物群落的重要方法, 通过对患者生物样品中的微生物进行高通量测序, 并对测序结果进行多层次解析, 可以高效、准确地获取肠道微生物群落的所有信息^[7]。肠道微生物群落改变必然会引起人体改变, 因此通过宏基因

组学对肠道微生物群落进行测序分析,可以全面揭示肠道微生物群落与人体之间的调控路径^[8]。

鉴于目前关于SP患者肠道微生物群落的宏基因组学研究较少,本研究拟通过宏基因组学技术揭示肠道微生物群落与SP患者及其抗菌药物治疗效果间的联系,旨在从新的角度阐释该疾病,为临床治疗和护理提供理论支持,提高该疾病的疗效和生存率,现报道如下。

资料与方法

一、研究对象

选择2022年3月至2024年3月于石家庄市人民医院就诊的126例SP患者为研究对象,其中男性64例、女性62例,年龄18~65岁,平均年龄(42.41 ± 3.35)岁。

纳入标准:①年龄 ≥ 18 岁;②患者符合中国成人SP相关诊断标准^[9]。排除标准:①入组前接受过影响本研究效果的药物治疗,如抗菌药物等;②合并其他严重感染的患者;③哺乳期或妊娠期女性;④合并恶性肿瘤或免疫疾病的患者;⑤合并其他器官功能衰竭的患者;⑥患者资料不全或无法配合调查。

本研究经石家庄市人民医院伦理委员会批准,伦理批号:院科伦审[2021]第(141)号;参与患者均已知情,并由患者、监护人或直系亲属签署知情同意书。

二、治疗方法与分组

抗菌药物治疗采用亚胺培南西司他丁钠(国瑞药业,H20074008)联合乌司他丁(广东天普生化医药,H19990133)。抗菌药物治疗前后进行胸片检查,根据治疗后的胸片表现及临床症状改善程度评估抗菌药物疗效,其中,有效为治疗后患者高热、咳嗽等临床症状明显改善且肺部CT显示病灶缩小幅度 $\geq 50\%$ ^[10]。根据使用抗菌药物后疗效将患者分为有效组(84例)和无效组(42例)。

三、患者临床基线资料收集

回顾性收集患者的临床基线资料,包括患者性别、年龄、身体质量指数(body mass index, BMI)、饮酒史、吸烟史、并发症、是否合并基础疾病(如血管病变、神经病变、高血压和血脂异常)以及基础疾病用药。

四、粪便标本采集及DNA提取

患者入院治疗后第2天清晨使用无菌粪便收集

盒收集粪便样本,将样本密封,编号后冻存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱。使用DNA试剂盒(德国Qinagen公司)提取粪便样本的DNA样本,提取过程需严格按照说明书流程并遵守生物保护程序。

五、测序基因处理

取40 μl DNA样本,利用分光光度计和1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA样本纯度,纯度合格后于上海派逊诺生物科技有限公司对细菌的16S rRNA基因的V3~V4区进行PCR扩增,引物为341F和805R。PCR条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 、3 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 、30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 、30 s, 73 $^{\circ}\text{C}$ 、30 s, 循环27次; 72 $^{\circ}\text{C}$ 、10 min, 降温至4 $^{\circ}\text{C}$ 。随后进行16S rRNA基因V4区域的测序分析。

六、宏基因组学

粪便菌落结构分析:首先进行聚类形成操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU),相似度为97%。利用RDP-classifier工具对每个OTU所代表的序列进行物种注释,进而追溯其物种来源,并细致划分到不同的分类层级,如界、门、纲、目、科、属和种。绘制稀释性曲线和物种累积曲线评估样本量的大小和测序深度。在样本多样性分析方面,利用Mothur软件计算Shannon和Simpson指数,从而分析粪便样本的 α 多样性。同时,借助UniFrac软件进一步探讨样本间的 β 多样性,这包括利用主坐标分析(principal co-ordinates analysis, PCoA)及Bray-Curtis矩阵分析评估微生物菌群的复杂性,并深入分析两组样本在菌群组成上的异同。

粪便菌群功能预测分析:采用京都基因和基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)数据库(网址:<https://www.kegg.jp/>)和Kobas软件分析粪便微生物菌群功能及分布特征。

七、统计学处理

应用SPSS 22.0软件进行数据分析,菌群丰度(厚壁菌门、变形菌门、拟杆菌门、放线菌门、软壁菌门、肠球菌属、链球菌属、克雷伯菌属、双歧杆菌属、大肠埃希菌属、瘤胃球菌属、毛螺菌属和梭菌属)符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用两独立样本 t 检验。计数资料使用百分比(%)表示,组间比较采用Pearson卡方检验。通过Bray-Curtis距离进行不同生物样本之间菌群结构的相似性分析(analysis of similarity, ANOSIM);通过非参数协方差分析(permutational multivariate analysis of variance, PERMANOVA)结合PCoA来深入探究菌

群的变异情况。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、入组患者临床基线资料

两组患者间的年龄、性别、BMI、饮酒史、吸烟史、并发症、是否合并基础疾病和基础疾病用药差异均无统计学意义(P 均 > 0.05),见表1。

二、稀释性曲线和物种累积曲线的构建

随着样本测序深度的增加,两组患者粪便样本的稀释性曲线逐渐趋向平坦,表明测序数量充足,测序深度合理,如图1A所示。随着样本量的增多,物种累积曲线最终趋于平缓状态,且增加测序深度抽样后ASV数目不会明显增加,说明样本量充足,如图1B所示。

三、两组样本多样性分析

1. α 多样性分析: 两组样本的 α 多样性分析显示,有效组样本Shannon指数为(3.02 ± 0.65),Simpson指数为(0.97 ± 0.33)显著高于无效组(2.85 ± 0.45 、 0.53 ± 0.20),差异具有统计学意义($t = 3.958$ 、 $P = 0.025$, $t = 6.583$ 、 $P < 0.001$)。见图2。

2. β 多样性分析: 两组患者粪便样本的 β 多样

性分析显示,有效组组内菌群结构的Bray-Curtis距离为(0.66 ± 0.12),无效组内菌群结构为(0.60 ± 0.11),有效组与无效组组间Bray-Curtis距离为(0.63 ± 0.24),126例粪便样本组内的Bray-Curtis距离为(0.52 ± 0.12);ANOSIM分析结果显示,有效组与无效组组间Bray-Curtis距离显著高于组内Bray-Curtis距离($R = 5.698$ 、 $P < 0.001$),如3A所示;PCoA分析和PERMANOVA分析结果显示,横纵坐标主成分贡献率分别为68.6%和25.1%,累积贡献率为93.7%,两组样本菌群呈现显著分离($F = 6.665$ 、 $P < 0.001$),如图3B所示。

四、两组样本肠道微生物菌群物种组成结构

两组样本在门层级水平上共检测出18个菌门,主要包括厚壁菌门、变形菌门、拟杆菌门、放线菌门和软壁菌门,两组患者的优势菌门不一致,如图4所示。

在属层级水平上,共检测出952个菌属,其中有8个菌属的相对丰度在3%以上,相对丰度在3%以上的菌属如图5所示。

五、两组样本肠道微生物菌群丰度

两组样本肠道微生物菌群丰度结果显示,在门水平上,有效组样本的厚壁菌门和变形菌门相对丰度低于无效组,差异有统计学意义(P 均 < 0.05);

表1 有效组和无效组患者临床基线资料

| 指标 | 有效组 (84例) | 无效组 (42例) | 统计量 | P值 |
|---|------------------|------------------|------------------|-------|
| 年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁) | 42.16 \pm 3.52 | 42.59 \pm 3.31 | $t = 0.659$ | 0.511 |
| 性别 [例 (%)] | | | $\chi^2 = 0.254$ | 0.614 |
| 男 | 44 (52.38) | 20 (47.62) | | |
| 女 | 40 (47.62) | 22 (52.38) | | |
| BMI ($\bar{x} \pm s$, kg/m ²) | 24.35 \pm 2.20 | 24.31 \pm 2.26 | $t = 0.095$ | 0.924 |
| 饮酒史 [例 (%)] | | | $\chi^2 = 0.969$ | 0.325 |
| 是 | 21 (25.00) | 14 (33.33) | | |
| 否 | 63 (75.00) | 28 (66.67) | | |
| 吸烟史 [例 (%)] | | | $\chi^2 = 0.643$ | 0.423 |
| 是 | 26 (30.95) | 16 (38.10) | | |
| 否 | 58 (69.05) | 26 (61.90) | | |
| 并发症 [例 (%)] | | | $\chi^2 = 0.034$ | 0.854 |
| 是 | 11 (13.10) | 6 (14.29) | | |
| 否 | 73 (86.90) | 36 (85.71) | | |
| 是否合并基础疾病 [例 (%)] | | | $\chi^2 = 0.197$ | 0.657 |
| 是 | 19 (22.62) | 11 (26.19) | | |
| 否 | 65 (77.38) | 31 (73.81) | | |
| 基础疾病用药情况 [例 (%)] | | | $\chi^2 = 0.232$ | 0.630 |
| 是 | 15 (17.86) | 9 (21.43) | | |
| 否 | 69 (82.14) | 33 (78.57) | | |

注: 卡方检验均采用 Pearson χ^2 检验

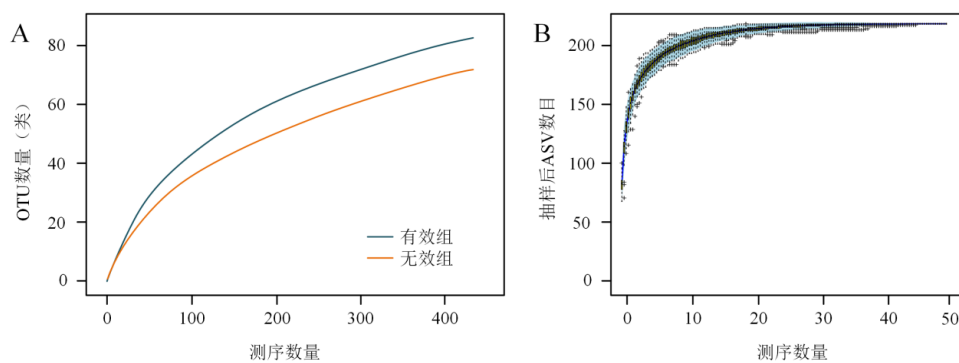
有效组的拟杆菌门、放线菌门和软壁菌门相对丰度高于无效组, 差异有统计学意义 (P 均 < 0.05)。在属水平上, 有效组的肠球菌属、链球菌属、克雷伯菌属和瘤胃球菌属相对丰度高于无效组, 差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05); 有效组的双歧杆菌属、双歧杆菌属和梭菌属相对丰度低于无效组, 差异有统计学意义 (P 均 < 0.05), 见表2。

六、菌群微生物网络

有效组微生物网络的节点和边的数量显著高于无效组, 微生物网络结构比无效组更加复杂, 见图6。

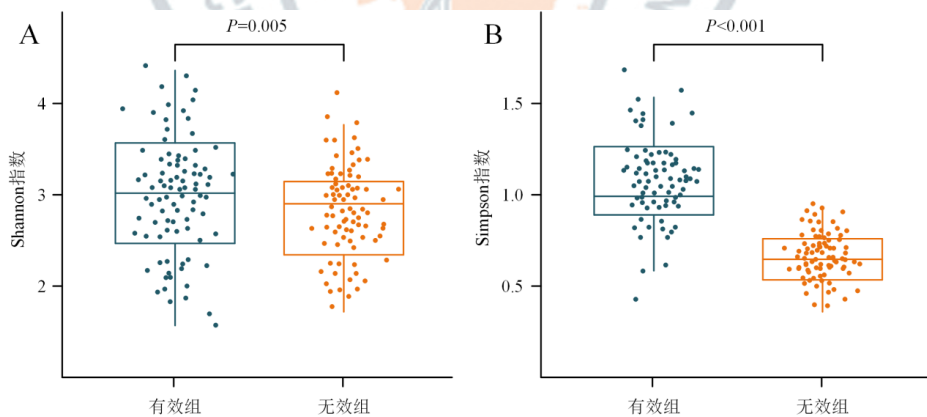
七、两组基因功能和信号通路差异

有效组相对丰度较高的基因功能是ATP结合、IMP生物合成过程和氨基酸生物合成过程等; 无效



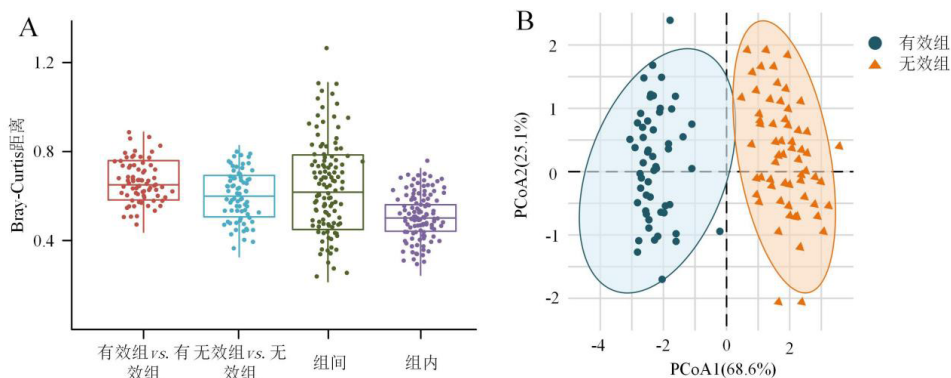
注: A: 稀释性曲线, B: 物种累积曲线

图1 粪便样本多样性分析



注: A: Shannon指数; B: Simpson指数

图2 两组粪便微生物菌群 α 多样性分析箱式图



注: A: Bray-Curtis矩阵分析; B: PCoA分析

图3 两组粪便微生物菌群 β 多样性分析

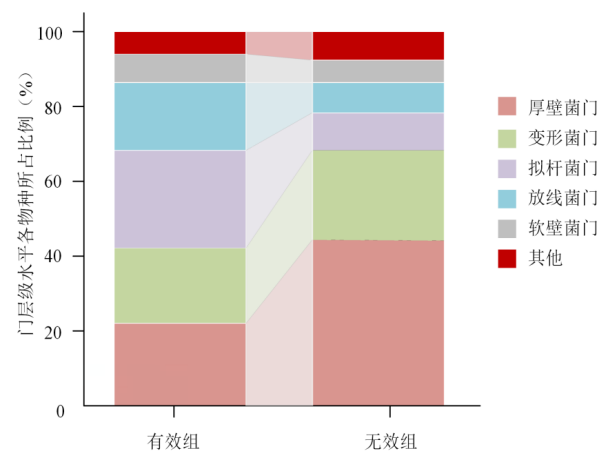


图4 两组样品门层级水平主要物种的分布

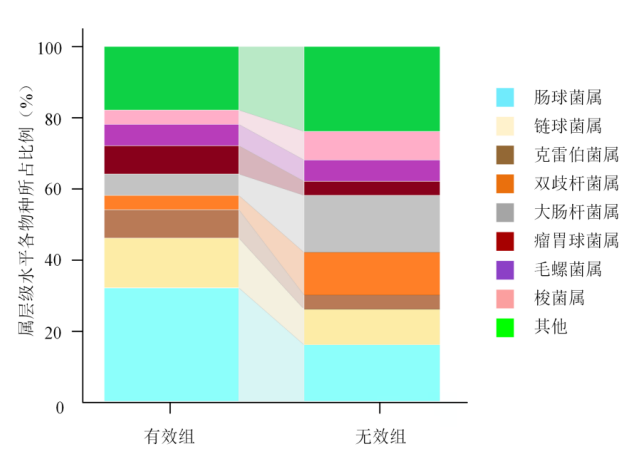
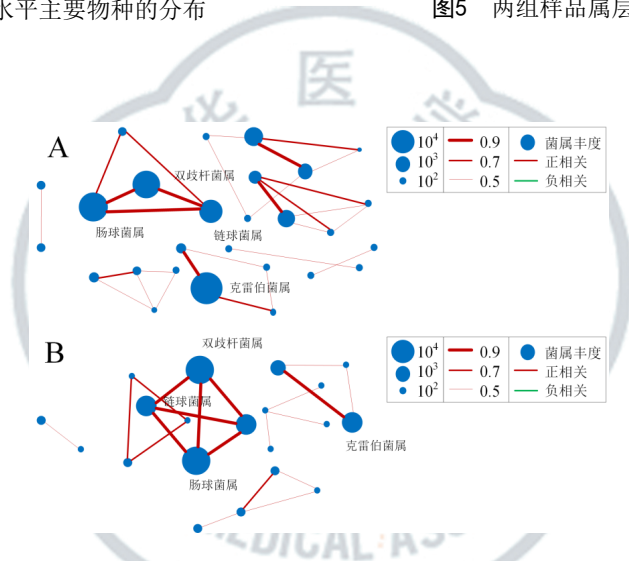


图5 两组样品属层级水平主要物种的分布



注：A为有效组，B为无效组

图6 菌群微生物网络

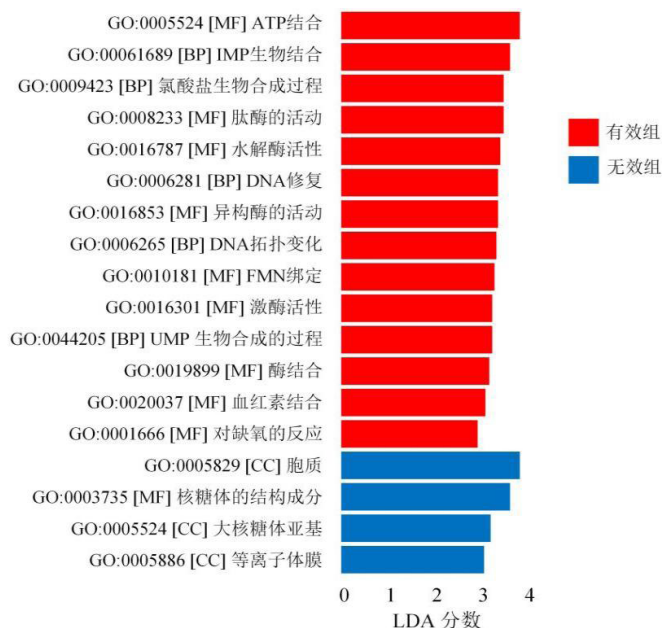
表 2 两组样本肠道微生物菌群丰度 ($\bar{x} \pm s$, %)

| 项目 | 有效组 (84例) | 无效组 (42例) | t值 | P值 |
|-----------|--------------|--------------|--------|---------|
| 门水平肠道菌群丰度 | | | | |
| 厚壁菌门 | 22.51 ± 5.36 | 41.29 ± 8.75 | 14.889 | < 0.001 |
| 变形菌门 | 20.33 ± 4.25 | 22.47 ± 5.01 | 2.508 | 0.013 |
| 拟杆菌门 | 26.94 ± 6.10 | 9.64 ± 2.21 | 17.776 | < 0.001 |
| 放线菌门 | 18.56 ± 4.01 | 7.62 ± 1.83 | 16.802 | < 0.001 |
| 软壁菌门 | 7.22 ± 2.61 | 6.24 ± 2.57 | 1.997 | 0.048 |
| 属水平肠道菌群丰度 | | | | |
| 肠球菌属 | 32.25 ± 5.71 | 16.53 ± 3.06 | 16.663 | < 0.001 |
| 链球菌属 | 13.81 ± 4.01 | 9.52 ± 2.56 | 6.313 | < 0.001 |
| 克雷伯菌属 | 7.52 ± 2.05 | 4.21 ± 1.05 | 9.826 | < 0.001 |
| 双歧杆菌属 | 4.33 ± 1.52 | 12.19 ± 3.77 | 16.642 | < 0.001 |
| 大肠埃希菌属 | 6.59 ± 1.26 | 14.25 ± 3.29 | 18.814 | < 0.001 |
| 瘤胃球菌属 | 6.88 ± 1.33 | 3.89 ± 0.89 | 13.158 | < 0.001 |
| 毛螺菌属 | 6.24 ± 1.27 | 6.53 ± 1.29 | 1.202 | 0.232 |
| 梭菌属 | 4.26 ± 0.98 | 7.02 ± 1.42 | 12.762 | < 0.001 |

组相对丰度较高的基因功能是胞质、核糖体的结构成分等,见图7。

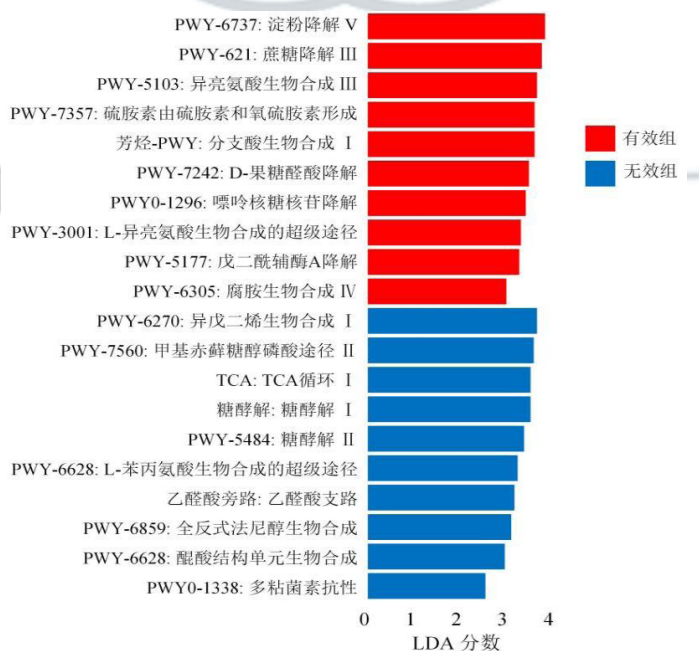
有效组相对丰度较高的信号通路为淀粉降

解、蔗糖降解和异亮氨酸生物合成等;无效组相对丰度较高的信号通路为异戊二烯生物合成、甲基赤藓糖醇磷酸途径等,见图8。



注: GO: 基因本体 (gene ontology), MF: 分子功能 (molecular function), BP: 生物过程 (biological process), CC: 细胞组分 (cellular component), LDA: 线性判别分析 (linear discriminant analysis)

图7 有效组和无效组基因功能差异



注: PWY: 通路 (pathway), TCA: 三羧酸 (tricarboxylic acid), LDA: 线性判别分析 (linear discriminant analysis)

图8 有效组和无效组信号通路

讨 论

目前认为SP发病机制主要包括病原体感染、炎症反应、凝血紊乱和氧化应激等^[11]。当细菌、真菌和微生物等病原体入侵肺部时,会引发机体免疫反应,免疫系统释放白细胞介素和肿瘤坏死因子等炎症因子^[12];此外,氧化应激也是病原菌入侵后的机体反应,这一过程会加剧炎症反应和凝血功能异常,造成肺泡、血管内皮细胞等组织损伤^[13]。氧化应激和炎症反应还会引起血栓或凝血功能障碍,可能会堵塞肺部血管,造成肺部氧合功能异常^[14]。肠道面积约150~200 m²,巨大的表面积为多种微生物提供了良好的居住环境,据报道人体肠道每毫升肠内容物内就包含10万~1 000亿个细菌,是人体内包含细菌最多的部位^[15]。既往研究表明,肠道菌群帮助人体实现了诸多功能,如微生物的制造、离子吸收、组织发育、免疫和食物消化等^[16]。肠道菌群通常包含5个菌门,包括拟杆菌门、厚壁菌门、变形杆菌门、放线杆菌门和软壁菌门,其中的拟杆菌门和双歧杆菌门是健康人中最常见和最稳定的菌属^[17-18]。“肠-肺轴”是指临床发现的肺部疾病多与肠道菌群相互影响的现象^[19],该联系已在动物实验中得到证实,当采用脂多糖刺激小鼠肺部时会引起肠道菌群数量显著增加。此外还有研究表明,肺炎会导致肠道损伤,抑制肠道上皮细胞增殖^[20]。宏基因组学的主要技术路线^[21]:①从生物样本中获取目标DNA;②对目标DNA进行宏基因组测序;③通过测序结果比对确定目标生物样本中所含菌群;④对所获得信息进行生物信息学处理。宏基因组学技术是对生物样本的宏观分析,将生物样本看作一个整体,进而探讨微生物与人体、人体及外部环境间的相互作用^[22]。

本研究结果显示,抗菌药物有效组和无效组SP患者年龄、性别、BMI、饮酒史、吸烟史、并发症、是否合并基础疾病和基础疾病用药差异均无统计学意义,排除上述因素对抗菌药物治疗疗效的影响。 α 多样性分析结果显示,抗菌药物治疗有效组样本的Shannon指数和Simpson指数显著高于抗菌药物治疗无效组,这一发现提示了肠道微生物多样性在SP治疗中的重要性,高微生物多样性通常与更好的健康状态相关联,可能有助于抵抗病原体感染并促进疾病恢复。 β 多样性分析显示两组样本菌群呈现显著分离,不同疗效下的肠道微生物群落具有

独特的组成特征,这种差异可能反映了抗菌药物对肠道菌群的选择性压力以及不同患者个体间微生物生态差异。丰度比较结果提示,特定菌种增加或减少可能与抗菌药物治疗成功或失败有关,如拟杆菌门在维持肠道稳态和免疫功能中发挥着重要作用,其相对丰度增加可能有助于改善SP患者的肠道健康;相反,厚壁菌门和变形菌门中可能包含一些对抗菌药物敏感的致病菌或条件致病菌,其相对丰度降低可能反映抗菌药物治疗的有效性。

网络分析显示,有效组微生物网络的节点和边的数量显著高于无效组,微生物网络结构比无效组更加复杂。微生物网络的复杂性通常与生态系统的稳定性和恢复力相关联,有效组更加复杂的微生物网络结构可能反映了其肠道生态系统在抗菌药物治疗后更强的恢复能力和稳定性,从而有助于促进疾病的恢复。基因功能富集分析显示,有效组样本中ATP结合、IMP生物合成过程和氯酸盐生物合成过程等基因功能的相对丰度较高,这些功能可能与能量代谢、核苷酸合成和物质循环等关键生命过程相关,有助于维持肠道微生物的正常生理功能^[23-24]。相反,无效组样本中胞质、核糖体的结构成分等基因功能的相对丰度较高,这些功能可能与细胞基本结构和功能维持有关,但不足以应对抗菌药物压力和疾病挑战^[25]。通路富集分析显示,有效组样本中淀粉降解、蔗糖降解和异亮氨酸生物合成等信号通路的相对丰度较高,这些通路与营养物质代谢和氨基酸合成相关^[26],可能有助于改善患者的营养状态和免疫功能。

综上,抗菌药物治疗有效的SP患者样本丰度较高的菌群为肠球菌属、链球菌属和克雷伯菌属等;抗菌药物治疗无效的SP患者样本丰度较高的菌群为肠球菌属、大肠埃希菌属和双歧杆菌属等,肠道微生物群落的宏基因组学对抗菌药物的疗效具有一定预测价值。本研究受限于较小的样本量和单中心回顾性设计,可能存在一定偏倚,未来研究将扩大样本规模并采用多中心前瞻性设计,提升结果准确性和普适性,并进一步验证具体菌种在SP患者抗菌药物治疗过程中的作用机制,从而改善SP患者的预后。

参 考 文 献

- [1] 沈杨,余海波,曾强英.外周血可溶性Fas蛋白及其配体,髓过氧化物酶水平对重症肺炎患儿预后不良的预测价值[J/CD].中华实验和临床感染病杂志(电子版),2022,16(4):268-274.

- [2] 李泽暄, 陈新光, 汤子鸣, 等. 急诊重症肺炎并发感染性休克的临床特点及相关影响因素分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2024, 19(6): 720-723, 728.
- [3] Lee WC, Chang CC, Ho MC, et al. Associations between severe influenza-complicated thromboembolism events, intensive care unit stays and mortality, and associated risk factors: A retrospective cohort study[J]. Influenza Other Respir Viruses, 2024, 18(9): e13354.
- [4] Qian Y, Sorgen AA, Steffen KJ, et al. Intestinal energy harvest mediates gut microbiota-associated weight loss following bariatric surgery[J]. Obes Surg, 2024, 34(10): 3771-3780.
- [5] Chen X, Chen Y, Zhang Y, et al. ZG16 impacts gut microbiota-associated intestinal inflammation and pulmonary mucosal function through bacterial metabolites[J]. Int Immunopharmacol, 2024, 141: 112995.
- [6] Wen L, Shi L, Kong XL, et al. Gut microbiota protected against *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia via restoring Treg/Th17 balance and metabolism[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 856633.
- [7] Metcalfe-Roach A, Cirstea MS, Yu AC, et al. Metagenomic analysis reveals large-scale disruptions of the gut microbiome in parkinson's disease[J]. Mov Disord, 2024, 39(10): 1740-1751.
- [8] Zeng G, Zeng L, Wang Y, et al. Correlation between gut microbiota characteristics and non-small cell lung cancer based on macrogenomics sequencing[J]. Hereditas, 2024, 161(1): 26.
- [9] 李文慧. 关于“中国成人社区获得性肺炎诊断和治疗指南(2016年版)”中重症肺炎诊断标准的商榷[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2017, 40(8): 639.
- [10] 凌洁, 陈娟红, 张帅. 莫西沙星联合比阿培南治疗老年重症肺炎患者疗效及对炎性因子肿瘤坏死因子相关激活蛋白和血管细胞黏附分子-1的影响[J]. 中国药物与临床, 2024, 24(16): 1058-1062.
- [11] 贺雨, 王玉娟, 高蓉, 等. 新型生物标志物可溶性髓样细胞触发受体-1在重症肺炎早期诊断中的应用价值[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2022, 16(5): 307-312.
- [12] Guo J, Chen J, Sun X. Bacillus megaterium infection presenting as pulmonary alveolar proteinosis, a case report[J]. BMC Infect Dis, 2024, 24(1): 868.
- [13] Qiu J, Ma J, Dong Z, et al. Lung megakaryocytes engulf inhaled airborne particles to promote intrapulmonary inflammation and extrapulmonary distribution[J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 7396.
- [14] Dai X, Xu R, Li N. The interplay between airway cilia and coronavirus infection, implications for prevention and control of airway viral infections[J]. Cells, 2024, 13(16): 1353.
- [15] Chen S, Zhang Z, Liu S, et al. Consistent signatures in the human gut microbiome of longevous populations[J]. Gut Microbes, 2024, 16(1): 2393756.
- [16] 高世勇, 魏新瑞, 唐博琪, 等. 基于宏基因组学的肠道微生物研究进展[J]. 中药药理与临床, 2024, 40(3): 115-119.
- [17] Luo Y, Peng S, Cheng J, et al. Chitosan-stabilized selenium nanoparticles alleviate high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) by modulating the gut barrier function and microbiota[J]. J Funct Biomater, 2024, 15(8): 236.
- [18] Kearns RP, Dooley JSG, Matthews M, et al. Do probiotics mitigate GI-induced inflammation and perceived fatigue in athletes? A systematic review[J]. J Int Soc Sports Nutr, 2024, 21(1): 2388085.
- [19] Sey EA, Warris A. The gut-lung axis: the impact of the gut mycobiome on pulmonary diseases and infections[J]. Oxf Open Immunol, 2024, 5(1): iqa008.
- [20] Cakir M, Grossman A. The molecular pathogenesis and management of bronchial carcinoids[J]. Expert Opin Ther Targets, 2011, 15(4): 457-491.
- [21] Samak ME, Solymay SM, Hanora A, et al. Metagenomic mining of two Egyptian Red Sea sponges associated microbial community[J]. BMC Microbiol, 2024, 24(1): 315.
- [22] Hartikainen AK, Jalanka J, Lahtinen P, et al. Fecal microbiota transplantation influences microbiota without connection to symptom relief in irritable bowel syndrome patients[J]. NPJ Biofilms Microbiomes, 2024, 10(1): 73.
- [23] 张明霞, 张强, 李文斌, 等. 高原缺氧对血脑屏障中ATP-结合盒转运蛋白表达的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2024, 40(10): 1488-1491.
- [24] Munroe JA, Doe CQ. Imp is expressed in INPs and newborn neurons where it regulates neuropil targeting in the central complex[J]. Neural Dev, 2023, 18(1): 9.
- [25] Petibon C, Malik Ghulam M, Catala M, et al. Regulation of ribosomal protein genes: An ordered anarchy[J]. Wiley Interdiscip Rev RNA, 2021, 12(3): e1632.
- [26] Schmidt C, Wehsling M, Le Mignon M, et al. Lactoyl leucine and isoleucine are bioavailable alternatives for canonical amino acids in cell culture media[J]. Biotechnol Bioeng, 2021, 118(9): 3395-3408.

(收稿日期: 2024-10-18)

(本文编辑: 孙荣华)

王利军, 张红红, 龙春欢. 重症肺炎患者肠道微生物群落的宏基因组学研究及其对抗菌药物疗效的预测价值[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2024, 18(6): 360-368.