

儿童哮喘专题

不同严重程度支气管哮喘儿童肠道菌群差异的探索性分析

温亚锦^{1*}, 何雯^{1*}, 韩晓^{2#}, 张晓波^{1#}

1. 复旦大学附属儿科医院呼吸科, 上海 201102; 2. 复旦大学附属儿科医院儿科研究院, 上海 201102

[摘要] **目的**·探讨不同严重程度支气管哮喘患儿肠道菌群的特征及差异, 并构建重症哮喘肠道菌群预测模型。**方法**·选取2020年9月1日—2022年8月31日期间在复旦大学附属儿科医院呼吸科门诊就诊且主要诊断为哮喘的5~14岁儿童, 根据2020年版《儿童支气管哮喘的规范化诊治建议》纳入重症哮喘儿童, 根据年龄、性别匹配同期轻中度哮喘儿童、健康体检儿童。使用16S rRNA高通量测序对3组儿童新鲜粪便标本进行肠道菌群检测, 比较各组儿童肠道菌群的多样性及群落结构, 分析差异物种, 绘制重症哮喘预测模型受试者操作特征曲线 (receiver operating characteristic curve, ROC曲线) 并比较曲线下面积 (area under curve, AUC)。**结果**·共纳入重症哮喘儿童50例、性别和年龄匹配的轻中度哮喘儿童54例以及健康对照儿童39例。与健康对照组儿童相比, 轻中度哮喘组和重症哮喘组儿童肠道菌群的 α 多样性显著降低 ($P<0.05$)。健康对照儿童、轻中度哮喘儿童、重症哮喘儿童组密螺旋体属 (*Treponema*) 的相对丰度依次增加 ($P<0.001$); 与健康对照组儿童相比, 轻中度哮喘组和重症哮喘组乳杆菌属 (*Lactobacillus*) 的相对丰度较高 (均 $P<0.05$)。重症哮喘儿童肠道菌群中普雷沃菌属 (*Prevotella*)、乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、真杆菌属 (*Eubacterium_eligens_group*)、密螺旋体属 (*Treponema*)、纺锤链杆菌属 (*Fusicatenibacter*) 的相对丰度较高; 轻中度哮喘组巴恩斯菌属 (*Barnesiella*)、霍尔曼德曼菌属 (*Holdemanella*)、罗姆布茨菌属 (*Romboutsia*)、苏黎世杆菌属 (*Turicibacter*) 的相对丰度较高; 健康对照组儿童未培养细菌 (uncultured)、*Muribaculaceae* 菌属的相对丰度较高。其中, 重症哮喘患儿肠道菌群中巴恩斯菌属的相对丰度较低, 其预测重症哮喘的敏感度及特异度均高于其他菌属 (AUC 0.713, 95%CI 0.604~0.815)。**结论**·哮喘患儿的肠道菌群的多样性低于健康对照儿童, 且不同严重程度哮喘儿童的肠道菌群存在较多显著差异物种。其中巴恩斯菌属在重症哮喘患儿肠道菌群中丰度显著降低, 提示肠道菌群分析在儿童哮喘严重程度评估中的重要价值。

[关键词] 儿童哮喘; 严重程度; 肠道菌群; 16S rRNA; 巴恩斯菌属**[DOI]** 10.3969/j.issn.1674-8115.2023.06.001 **[中图分类号]** R725.6 **[文献标志码]** A

Exploratory analysis of gut microbiota differences in childhood asthma with different severity

WEN Yajin^{1*}, HE Wen^{1*}, HAN Xiao^{2#}, ZHANG Xiaobo^{1#}

1. Department of Respiratory Medicine, Children's Hospital of Fudan University, Shanghai 201102, China; 2. Institute of Pediatrics, Children's Hospital of Fudan University, Shanghai 201102, China

[Abstract] **Objective**·To explore the characteristics and differences of gut microbiota in children with different severity of bronchial asthma, and build a prediction model of gut microbiota in severe asthma. **Methods**·In this study, children aged 5 to 14 diagnosed with asthma in the Department of Respiratory Medicine of Children's Hospital of Fudan University from Sep 1, 2020 to Aug 31, 2022 were selected, and children with severe asthma (SA) according to the *Recommendations for Standardized Diagnosis and Management of Bronchial Asthma in Children* (2020) were included. Children with mild to moderate asthma (MMA) and healthy children in the same period were matched according to age and gender. Stool samples collected from the three groups were subjected to 16S rRNA gene sequencing and the gut microbiota diversity, structure, and composition were assessed. The area under

[基金项目] 上海市科学技术委员会重点课题 (22511106001); 上海市“科技创新行动计划”自然科学基金 (20ZR1408300); 上海市青年科技启明星计划 (22QA1401500)。

[作者简介] 温亚锦 (1996—), 女, 硕士生; 电子信箱: wenyajinch@163.com。何雯 (1996—), 女, 住院医师, 硕士生; 电子信箱: hewen@fudan.edu.cn。*为共同第一作者。

[通信作者] 韩晓, 电子信箱: sqhx12@126.com。张晓波, 电子信箱: zhangxiaobo0307@163.com。*为共同通信作者。

[Funding Information] Key Project of Science and Technology Commission of Shanghai Municipality (22511106001); Natural Science Foundation of Shanghai (20ZR1408300); Shanghai Rising-Star Program (22QA1401500)。

[Corresponding Author] HAN Xiao, E-mail: sqhx12@126.com. ZHANG Xiaobo, E-mail: zhangxiaobo0307@163.com. *Co-corresponding authors.

the receiver operating characteristic (ROC) curve (AUC) was applied to compare the predictive efficacy for SA. **Results** Fifty children were enrolled in the SA group, 54 children matched by gender and age were in the MMA group and 39 healthy children were in the healthy control group. The α diversity of gut microbiota significantly decreased in the asthma children ($P<0.05$), compared with that in the healthy control group. The relative abundance of *Treponema* was the highest in the SA group, followed by the MMA group and healthy control group ($P<0.001$). The relative abundance of *Lactobacillus* in the MMA group and SA group was higher than that in the healthy control group (both $P<0.05$). The SA group had a higher relative abundance of *Prevotella*, *Lactobacillus*, *Eubacterium_eligens_group*, *Treponema*, and *Fusicatenibacter*. The MMA group had a higher relative abundance of *Barnesiella*, *Holdemanella*, *Romboutsia* and *Turicibacter*. The healthy control group had a higher relative abundance of the uncultured and *Muribaculaceae*. Among them, the relative abundance of *Barnesiella* decreased in the SA group, and it was found to have the highest sensitivity and specificity in predicting SA (AUC 0.713, 95%CI 0.604–0.815). **Conclusion** The diversity of gut microbiota in asthma children is lower than that in healthy children, and the composition of gut microbiota differs among childhood asthma with different severity. The abundance of *Barnesiella* decreases in the SA group significantly, suggesting that analysis of gut microbiota may help in the assessment of childhood asthma with different severity.

[Key words] childhood asthma; severity; gut microbiota; 16s rRNA; *Barnesiella*

支气管哮喘(哮喘)是儿童时期最常见的慢性气道疾病,具有明显的异质性和复杂的病理生理表现^[1]。其中,重症哮喘表现为控制水平差,严重影响患儿的生活质量。2020年版《儿童支气管哮喘规范化诊治建议》明确了儿童重症哮喘的诊治流程:对于已接受含中剂量吸入性糖皮质激素(inhaled corticosteroid, ICS)的联合用药方案治疗但哮喘仍未达到良好控制的患儿,要全面分析并排除可能的相关影响因素,再结合儿童的症状控制水平和对在用药治疗效应评估,最终确定是否为对常用抗哮喘治疗药物不敏感的重症哮喘^[2]。2014年美国呼吸协会和欧洲呼吸学会估计重症哮喘在哮喘人群中占比5%~10%^[3]。目前国内尚无明确的儿童重症哮喘的流行病学资料,但不可否认的是重症哮喘病情持续、反复发作,严重影响儿童的生活和学习,对家庭造成了极大的精神压力和经济负担^[4-5]。

肠道菌群是指定植在人和动物消化道内的一个非常复杂的微生物群落。健康成人肠道菌群的主要种类包括拟杆菌门、厚壁菌门、放线菌门、变形菌门和疣微菌门^[6]。研究^[7]表明肠道菌群与儿童的健康及疾病状态相关,肠道菌群失调与新生儿小肠结肠炎、晚发型败血症、湿疹、哮喘、食物过敏、肥胖、糖尿病、自身免疫性疾病、神经精神疾病等的发生和发展密切相关。已有多项研究^[8-13]表明发生在生命早期的肠道菌群失调是导致哮喘发生的关键影响因素,但很少有研究关注肠道菌群与儿童哮喘严重程度的相关性。

基于此,本研究采用观察性病例对照设计,分析不同严重程度支气管哮喘患儿肠道菌群的特征及差

异,并构建重症哮喘肠道菌群预测模型,以探讨肠道菌群分析对儿童哮喘严重程度评估的作用,为进一步完善哮喘的多维评估方式、实现哮喘的最佳评估与诊疗提供依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2020年9月1日—2022年8月31日期间在复旦大学附属儿科医院呼吸科门诊就诊且主要诊断为哮喘(ICD-10诊断编码J45-J46)的5~14岁儿童作为研究对象。最终纳入重症哮喘儿童50例,性别和年龄匹配的轻中度哮喘儿童54例,同时期的性别、年龄匹配的健康体检儿童39例。留取新鲜粪便标本,提取粪便DNA进行肠道菌群16sRNA高通量测序。

患儿入组标准:①年龄5~14岁。②符合2016年版《儿童支气管哮喘诊断与防治指南》^[1]的哮喘及咳嗽变异性哮喘诊断标准,包括<6岁喘息儿童其临床特点高度提示哮喘者。其中,重症哮喘的诊断符合2020年版《儿童支气管哮喘的规范化诊治建议》^[2],入组时不符合重症哮喘诊断的其他哮喘儿童纳入轻中度哮喘组。

排除标准:①过去1个月内有严重腹泻或严重便秘者,或合并胃肠道疾病者。②过去1个月内有呼吸系统感染者。③过去1个月内使用过抗生素治疗者。④长期或过去1个月内服用糖皮质激素、免疫抑制剂者。⑤过去2周内使用益生菌等微生态制剂者。⑥合并其他重大疾病如糖尿病等代谢性疾病、肺囊性纤维

化、心力衰竭、急性或慢性感染者。

退出标准:①主动要求退出者。②研究者认为不适合继续研究的其他情况。

1.2 研究方法

1.2.1 一般情况调查 记录患者个人信息,包括年龄、性别、身高、体质量指数 (body mass index, BMI)。

1.2.2 粪便标本收集 入组后,所有儿童需留取新鲜晨便,用采便勺在大便中部采集4~5勺后装入大便管中,立即放入-80℃冰箱储存。提取粪便DNA,并对细菌16S rRNA的V3~V4区域进行PCR扩增,引物序列为5'-TACGGRAGGCAGCAG-3' (343F) 和5'-AGGGTATCTAATCCT-3' (798R),而后于上海欧易云平台完成高通量测序。

1.2.3 肠道菌群生物信息学分析

(1) 原始数据质控和可操作分类单元聚类 高通量测序得到的原始图像数据文件经碱基识别分析转化为原始测序序列 (raw data), 对其进行去杂、拼接、进一步的质控和去除嵌合体, 得到有效序列 (valid tags)。使用Vsearch (version 2.4.2) 软件, 对质控得到的有效序列按照97%的相似度进行可操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU) 分类, 并选取每个OTU中丰度最大的序列作为该OTU的代表序列。采用RDP classifier Naive Bayesian分类算法对代表序列与Silva (V138) 数据库进行比对注释, 得到OTU的注释信息。

(2) 肠道菌群多样性分析 使用R 4.0.4软件分析样本中肠道菌群多样性情况, 包括 α 多样性和 β 多样性。 α 多样性主要衡量样本内物种丰富度和分布均匀度。本研究使用的度量指标为Chao1指数。 β 多样性主要评估不同分组样本之间的多样性差异, 通常将其与降维方法结合使用。本研究使用的是主坐标分析法 (principal co-ordinates analysis, PCoA), 即先基于binary-jaccard算法计算出样本间相似距离, 然后对样本间相似距离分别进行PCoA分析及相似性分

析 (analysis of similarities, ANOSIM)。

(3) 群落结构与差异菌属分析 对样本在门、纲、目、科、属等各个不同的分类层级进行注释以及汇总, 并将门、属分类水平下丰度排序前10位的物种在各组中的分布绘制成柱状图。使用线性判别分析效应量 (linear discriminant analysis effect size, LEfSe) 揭示3组儿童肠道菌群在属水平上的物种差异。

(4) 受试者操作特征曲线绘制 根据特征菌群丰度数据, 利用10折交叉验证, 共分10次随机划分训练集及验证集, 先对训练集构建随机森林模型, 再用此模型预测验证集, 构建受试者操作特征曲线 (receiver operator characteristic curve, ROC曲线), 最后对10次模型结果进行平均处理得到最终ROC曲线。

1.3 统计学分析

使用Vsearch、R语言等软件对测序数据进行处理分析。应用SPSS 26.0软件包进行统计数据分析。定量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示。对服从正态分布、满足方差齐性的数据, 3组间比较使用单因素方差分析, 两两比较采用least significant difference (LSD) 法。对不符合正态分布的数据, 采用非参数秩和检验, 3组间比较使用Kruskal-Wallis秩和检验, 2组间比较使用Wilcoxon秩和检验。定量资料使用率或构成比表示, 组间比较使用 χ^2 检验或Fisher确切概率法。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 入组儿童的基本临床特征

纳入哮喘患儿共104例, 其中, 54例为轻中度哮喘患儿, 50例为重症哮喘患儿。纳入健康体检儿童39例。重症哮喘儿童、轻中度哮喘儿童、健康体检儿童在性别、年龄、BMI方面进行比较, 3组间差异没有统计学意义 (表1)。

表1 3组儿童基本资料

Tab 1 Basic information of the three groups of children

Item	Normal group (n=39)	Mild to moderate asthma group (n=54)	Severe asthma group (n=50)	P value
Age/year	7.50 \pm 2.75	7.61 \pm 2.45	7.12 \pm 2.49	0.546
Male/n(%)	27 (69.2)	38 (70.4)	34 (68.0)	0.310
BMI/(kg·m ⁻²)	17.21 \pm 2.80	18.13 \pm 2.16	16.53 \pm 2.15	0.148

2.2 3组儿童肠道菌群分析

2.2.1 测序及质量控制 共对143个样本进行测序, 各样本的OTU个数分布在638~3 174之间。各样本丰度等级曲线(图1A)的长短高度不一, 说明各样本

的物种分布情况不同。如图1B所示, Shannon指数曲线随着抽取序列数的增加而趋于平缓, 说明本研究中文本的测序数据量合理, 足以反映样本的微生物信息。

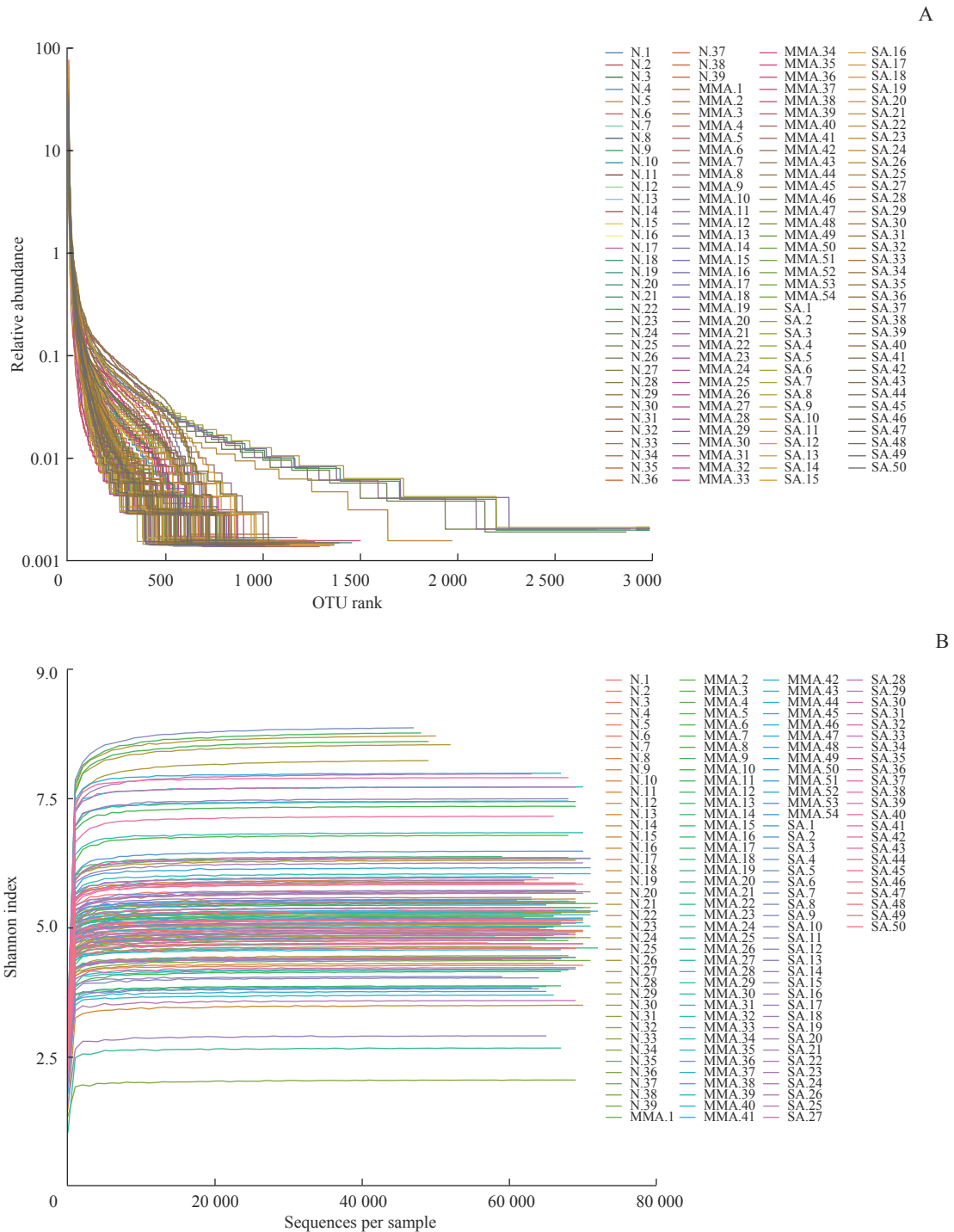
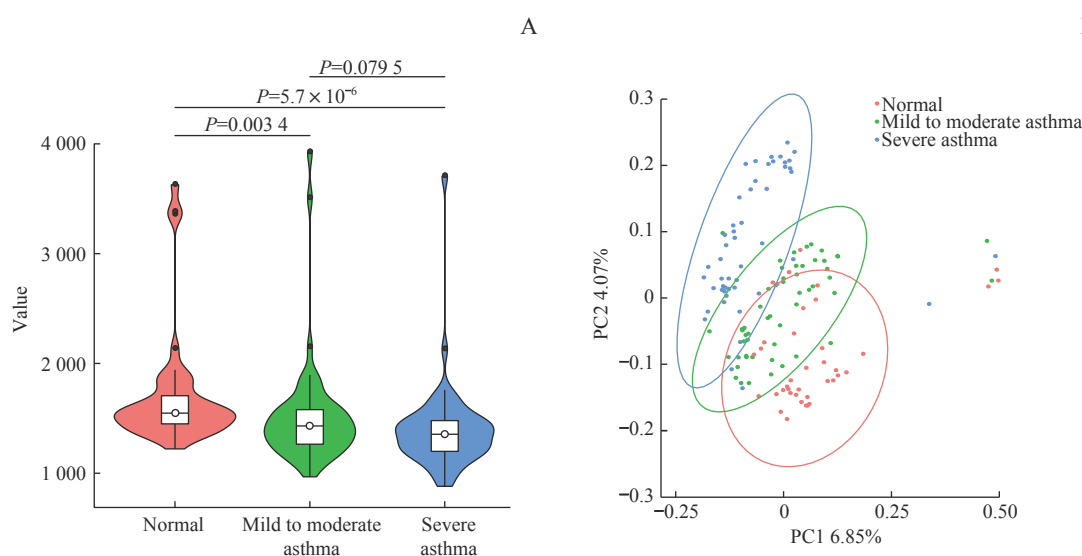


图1 3组儿童肠道菌群测序及质量控制

Fig 1 Sequencing and quality control of gut microbiota in the three groups of children

2.2.2 α 及 β 多样性分析 在同一个测序深度下, 计算得出不同样本的 α 多样性指数 Chao1, 并对 3 组儿童的 Chao1 指数差异进行分析 (图 2A), 发现与健康对照组相比, 轻中度哮喘组和重症哮喘组的 Chao1 指数下降, 且差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 重症哮喘组和轻中度哮喘组的 Chao1 指数差

异无统计学意义 ($P > 0.05$)。对于不同样本 β 多样性的分析, 使用基于 binary-jaccard 距离的 PCoA 分析, 可将 3 组儿童明显区分。ANOSIM 比较结果 (图 2B) 显示, 3 组儿童的肠道菌群分布差异存在统计学意义 ($P = 0.001$)。



Note: A. Comparison of Chao1 index (α diversity). B. PCoA analysis (β diversity).

图2 3组儿童肠道菌群 α 及 β 多样性分析

Fig 2 α and β diversity analysis of gut microbiome of the three groups of children

2.2.3 物种组成分析

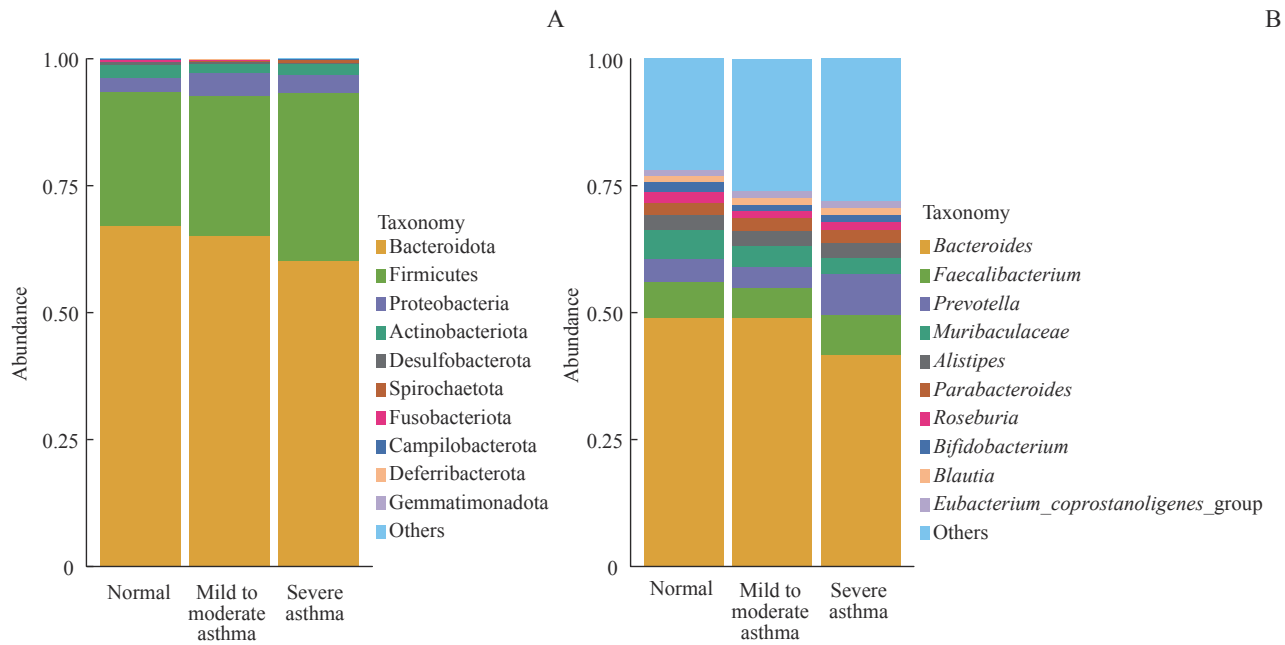
(1) 群落结构比较 在门水平上, 3组儿童肠道菌群相对丰度最高的4种均为拟杆菌门 (Bacteroidota)、厚壁菌门 (Firmicutes)、变形菌门 (Proteobacteria)、放线菌门 (Actinobacteriota), 结果见图3A。在健康对照组、轻中度哮喘组、重症哮喘组中, 这4种菌群相对丰度的总和分别占各组所有菌群的98.8%、98.9%、98.8%。此外, 健康对照儿童与轻中度哮喘儿童肠道菌群相对丰度位于第5位的为脱硫杆菌门 (Desulfobacterota), 分别占2组所有菌群的0.055%、0.048%; 而重症哮喘儿童肠道菌群相对丰度位于第5位的为螺旋菌门 (Spirochaetota), 占该组所有菌群的0.047%。

在属水平上, 3组儿童的肠道菌群相对丰度最高的5种均为拟杆菌属 (*Bacteroides*)、粪杆菌属 (*Faecalibacterium*)、普雷沃菌属 (*Prevotella*)、*Muribaculaceae* 菌属、另枝菌属 (*Alistipes*); 在健康

对照组、轻中度哮喘组、重症哮喘组中, 这5种菌群相对丰度的总和分别占各组所有菌群的69.1%、65.8%、63.6% (图3B)。

(2) 差异物种分析 随后, 本研究对入组儿童的肠道菌群丰度进行LEfSe差异分析。结果显示: 在健康对照儿童、轻中度哮喘儿童、重症哮喘儿童组中, 密螺旋体属 (*Treponema*) 的相对丰度依次增加 ($P < 0.001$); 与健康对照儿童组相比, 轻中度哮喘组和重症哮喘组乳杆菌属 (*Lactobacillus*) 的相对丰度较高 ($P < 0.05$)。

在属水平上, 重症哮喘儿童肠道菌群中普雷沃菌属 (*Prevotella*)、乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、真杆菌属 (*Eubacterium_eligens_group*)、密螺旋体属 (*Treponema*)、纺锤链杆菌属 (*Fusicatenibacter*) 的相对丰度较高; 轻中度哮喘组巴恩斯菌属 (*Barnesiella*)、霍尔曼德曼菌属 (*Holdemanella*)、罗姆布茨菌属 (*Romboutsia*)、苏黎世杆菌属



Note: A. Relative abundance of gut microbiome in phylum level in the three groups of children. B. Relative abundance of gut microbiome in genus level in three groups of children.

图3 3组儿童肠道菌群相对丰度柱形图

Fig 3 Column diagram of relative abundance of gut microbiome in the three groups of children

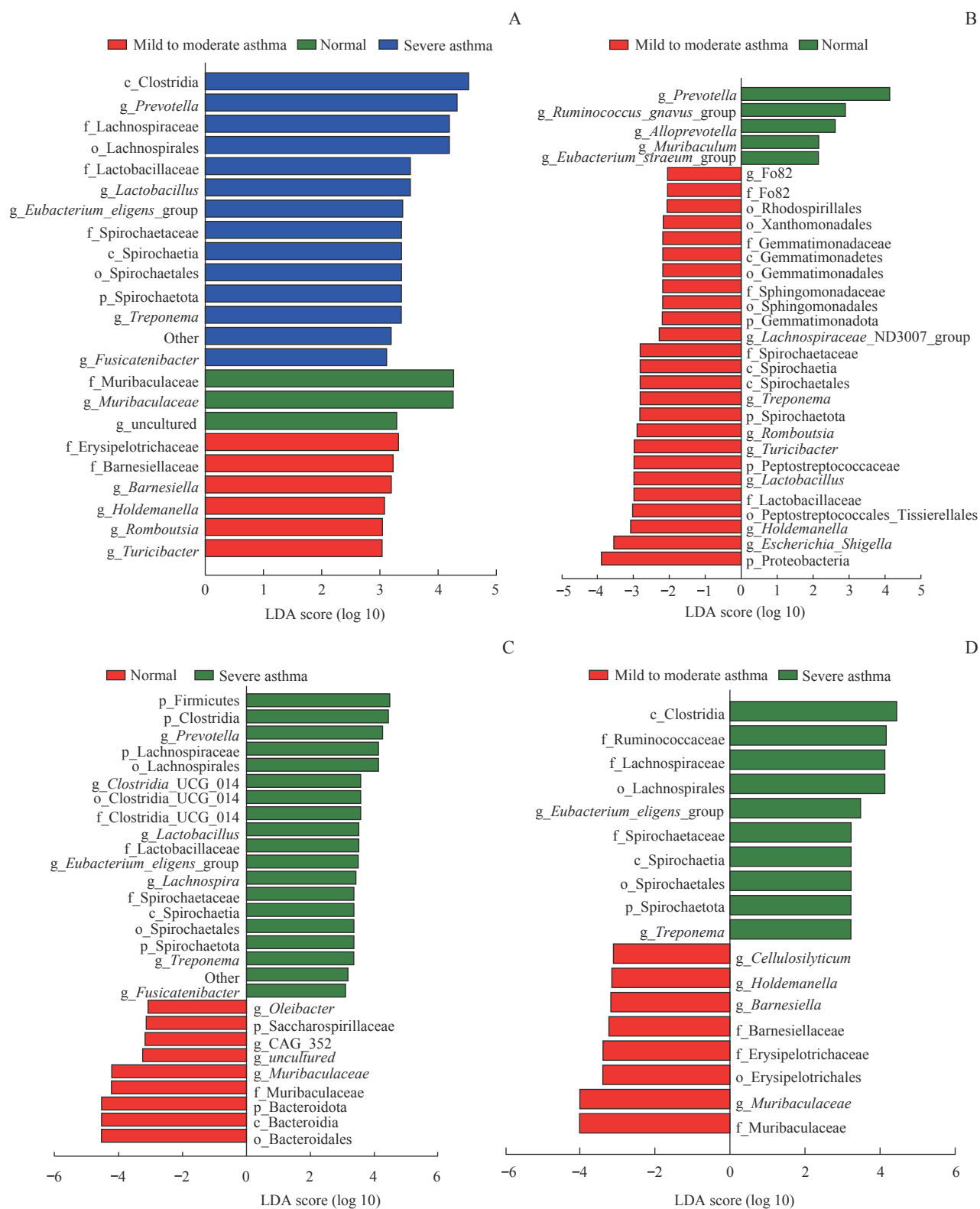
(*Turicibacter*) 的相对丰度较高 (均 $P < 0.05$); 健康对照组未培养细菌 (uncultured 菌属)、*Muribaculaceae* 菌属的相对丰度较高 (图 4A)。

同时, 我们对 3 组儿童肠道菌群进行两两比较, 发现: 与健康对照组相比, 轻中度哮喘儿童肠道菌群中 F082 菌属、毛螺菌科 ND3007_group 菌属 (*Lachnospiraceae*_ND3007_group)、密螺旋体属 (*Treponema*)、罗姆布茨菌属 (*Romboutsia*)、苏黎世杆菌属 (*Turicibacter*)、乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、霍尔德曼菌属 (*Holdemanella*)、埃希杆菌-志贺菌属 (*Escherichia-Shigella*) 的相对丰度较高, 而普雷沃菌属 (*Prevotella*)、活泼瘤胃球菌 (*Ruminococcus_gnavus_group*)、拟普雷沃菌 (*Alloprevotella*)、*Muribaculum* 菌属、真杆菌属 (*Eubacterium_eligens_group*) 的相对丰度较低 (图 4B); 与健康对照组相比, 重症哮喘儿童肠道菌群中普雷沃菌属 (*Prevotella*)、*Clostridia*-UCG-014 菌属、乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、真杆菌属 (*Eubacterium_eligens_group*)、毛螺菌属 (*Lachnospira*)、密螺旋体属 (*Treponema*)、纺锤链杆菌属 (*Fusicatenibacter*) 的相对丰度较高, 而

Oleibacter 菌属、CAG-352 菌属、uncultured 菌属、*Muribaculaceae* 菌属的相对丰度较低 (图 4C); 与轻中度哮喘组相比, 重症哮喘儿童肠道菌群真杆菌属 (*Eubacterium_eligens_group*)、密螺旋体属 (*Treponema*) 的相对丰度较高, 而 *Muribaculaceae* 菌属、巴恩斯菌属 (*Barnesiella*)、霍尔德曼菌属 (*Holdemanella*)、*Cellulosilyticum* 菌属的相对丰度较低 (图 4D)。

2.3 重症哮喘的肠道菌群预测模型

根据上述差异物种在各样本间的相对丰度, 基于随机森林模型, 利用 10 折交叉验证构建相应的预测重症哮喘模型的 ROC 曲线, 并比较上述差异物种 ROC 曲线及曲线下面积 (area under curve, AUC), 得到 AUC 最大的 5 种菌属为巴恩斯菌属 (*Barnesiella*)、霍尔德曼菌属 (*Holdemanella*)、真杆菌属 (*Eubacterium_eligens_group*)、苏黎世杆菌属 (*Turicibacter*)、密螺旋体属 (*Treponema*)。结果显示: 巴恩斯菌属 (AUC 0.713, 95%CI 0.604~0.815) 预测重症哮喘的敏感度及特异度均高于其他菌属 (图 5)。



Note: A. The LDA score of different species of gut microbiota in the three groups. B. The LDA score of different species of gut microbiota between the mild to moderate asthma group and healthy control group. C. The LDA score of different species of gut microbiota between the severe asthma group and healthy control group. D. The LDA score of different species of gut microbiota between the severe asthma group and mild to moderate asthma group.

图4 3组儿童差异物种 LefSe 分析

Fig 4 LefSe analysis of different species of gut microbiota in the three groups of children

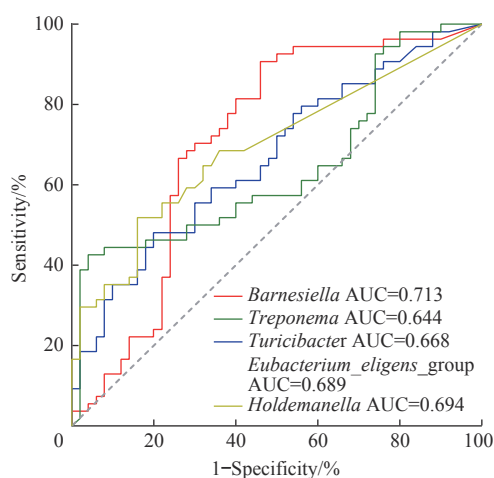


图5 巴恩斯菌属预测重症哮喘的ROC曲线

Fig 5 ROC curve of *Barnesiella* for predicting severe asthma

3 讨论

目前研究^[12]表明肠道菌群失调与哮喘等过敏性疾病的发生密切相关。本研究选取了重症哮喘、轻中度哮喘以及健康对照儿童进行肠道菌群分析,发现不同严重程度哮喘儿童的肠道菌群的丰度和分布均匀度存在差异,并筛选出可预测重症哮喘的特征性肠道菌属。

既往研究显示肠道菌群的多样性降低与儿童哮喘发生相关。例如,ABRAHAMSSON等^[13]发现1月龄时肠道菌群多样性降低与学龄期发生哮喘的风险增加有关,并且患有湿疹、食物过敏等过敏性疾病的新生儿和儿童的肠道微生物群多样性也较低^[14-18]。本研究为进一步明确重症哮喘、轻中度哮喘以及健康对照儿童组间肠道菌群结构差异,对不同组别儿童的肠道菌群进行了 α 及 β 多样性分析。 α 多样性分析发现,3组儿童肠道菌群的Chao1指数差异有统计学意义,哮喘儿童的肠道菌群多样性较健康对照组明显降低; β 多样性分析则提示,3组儿童肠道菌群的群落结构存在差异。本研究进一步对3组儿童肠道菌群的群落结构进行分析,发现在门水平上3组儿童肠道菌群相对丰度位于前4位的菌群种类一致,但健康对照儿童与轻中度哮喘儿童肠道菌群相对丰度位于第5位的为脱硫杆菌门,而重症哮喘儿童肠道菌群相对丰度位于第5位的为螺旋菌门(Spirochaetota)。这提示哮喘儿童肠道菌群的多样性与哮喘的严重程度存在某种相关性。

近年来多项研究揭示了特异性肠道菌群在儿童哮喘发病过程中发挥重要作用。例如,哮喘高风险的婴

儿肠道中韦荣球菌属(*Veillonella*)、粪杆菌属(*Faecalibacterium*)、毛螺菌属(*Lachnospira*)、罗斯菌属(*Rothia*)的相对丰度显著降低^[19];动物体内实验也表明,这4种菌在肠道定植可以显著减轻小鼠的气道炎症^[20];同时,CHIU等^[21]将哮喘患儿与健康儿童的肠道菌群进行对比分析,发现哮喘患儿肠道菌群中粪杆菌属(*Faecalibacterium*)和罗氏菌属(*Roseburia*)的相对丰度明显降低,而梭状芽孢杆菌属(*Clostridium*)的相对丰度明显提高;而一项针对成年哮喘患者的病例对照研究^[22]发现,哮喘患者组粪便中乳杆菌(*Lactobacillus*)和大肠埃希菌(*Escherichia coli*)丰度明显高于健康对照组。我们的研究发现密螺旋体属(*Treponema*)在健康对照儿童、轻中度哮喘儿童、重症哮喘儿童组的相对丰度依次增加;轻中度哮喘组和重症哮喘组乳杆菌属(*Lactobacillus*)的相对丰度较健康对照组儿童高。与轻中度哮喘儿童相比,重症哮喘儿童肠道菌群普雷沃菌属(*Prevotella*)、*Clostridia*-UCG-014菌属、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、真杆菌属(*Eubacterium eligens_group*)、毛螺菌属(*Lachnospira*)、密螺旋体属(*Treponema*)、纺锤链杆菌属(*Fusicatenibacter*)的相对丰度较高,而轻中度哮喘组*Muribaculaceae*菌属、巴恩斯菌属(*Barnesiella*)、霍尔曼德曼菌属(*Holdemanella*)、*Cellulosilyticum*菌属的相对丰度较高。值得注意的是,与文献报道的研究结论不同,本研究未发现韦荣球菌、粪肠球菌、罗氏菌、粪杆菌属在3组儿童肠道菌群中分布的差异。我们猜测这一现象有可能与研究地域、样本量的选择、研究对象年龄、哮喘发作情况等因素相关。

此外,本研究绘制差异菌属预测重症哮喘的ROC曲线,发现巴恩斯菌属预测重症哮喘的敏感度及特异度均高于其他菌属。已往的研究^[23-26]发现巴恩斯菌属与人体胆汁酸代谢、血糖代谢等密切相关,其中有研究^[23]指出巴恩斯菌影响肥胖人群的益生菌干预效果,而肥胖正是影响重症哮喘的重要危险因素^[27-29]。考虑到重症哮喘与宿主、环境等诸多因素相关,巴恩斯菌对代谢的影响可能在一定程度上影响了重症哮喘的发生和发展,后续将结合多组学分析探究其作用机制。

综上所述,本研究结合16S rRNA测序探索了不同严重程度哮喘儿童肠道菌群多样性的差异,为未来探索重症哮喘儿童的肠道微生物多态性提供重要的线

索。鉴于肠道菌群种类较多,且各菌属对宿主机体的作用机制各异,若能筛选出特异的菌群标志物,将为儿童重症哮喘的发病机制研究,以及哮喘严重程度评估及最佳的诊疗方案的制定提供重要的理论基础,或可为儿童重症哮喘提供临床诊治新靶标。后期可通过扩大样本量、完善多中心研究、结合多组学分析和体内动物实验等进一步明确哮喘患儿特异菌属及其作用机制。

利益冲突声明/Conflict of Interests

所有作者声明不存在利益冲突。

All authors disclose no relevant conflict of interests.

伦理批准和知情同意/Ethics Approval and Patient Consent

本研究通过复旦大学附属儿科医院伦理审查委员会批准(审批号:2018-215)。所有研究对象或其监护人均在调查前签署知情同意书。

All experimental protocols in this study were reviewed and approved by the Medical Ethics Committee of Children's Hospital of Fudan University (Approval Letter: 2018-215), and consent letters have been signed by the research participants or their guardians.

作者贡献/Authors' Contributions

温亚锦、韩晓、张晓波提出研究思路、设计研究方案;温亚锦、何雯参与数据采集和分析;温亚锦、何雯、韩晓参与论文的写作和修改;张晓波负责审定论文。所有作者均阅读并同意了最终稿件的提交。

This study was designed by WEN Yajin, HAN Xiao and ZHANG Xiaobo. WEN Yajin and HE Wen participated in data collection and analysis. The manuscript was drafted and revised by WEN Yajin, HE Wen and HAN Xiao. ZHANG Xiaobo generally checked papers. All authors have read the last version of paper and consented for submission.

- Received: 2022-12-02
- Accepted: 2023-04-10
- Published online: 2023-06-28

参·考·文·献

- [1] 中华医学会儿科学分会呼吸学组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016年版)[J]. 中华儿科杂志, 2016, 54(3): 167-181.
Respiratory Group, Pediatrics Society of Chinese Medical Association, Editorial Board of Chinese Journal of Pediatrics. Guidelines for diagnosis and prevention of bronchial asthma in children (2016 edition) [J]. Chinese Journal of Pediatrics, 2016, 54(3): 167-181.
- [2] 中华儿科学会编辑委员会,中华医学会儿科学分会呼吸学组,中国医师协会儿科医师分会儿童呼吸专业委员会. 儿童支气管哮喘规范化诊治建议(2020年版)[J]. 中华儿科杂志, 2020, 58(9): 708-717.
The Editorial Board, Chinese Journal of Pediatrics; the Subspecialty Group of Respiratory Diseases, the Society of Pediatrics, Chinese Medical Association; the Children's Respiratory Professional Committee, the Society of Pediatrics of Chinese Medical Doctor Association. Recommendations for diagnosis and management of bronchial asthma in children (2020) [J]. Chinese Journal of Pediatrics, 2020, 58(9): 708-717.
- [3] CHUNG K F, WENZEL S E, BROZEK J L, et al. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma[J]. Eur Respir J, 2014, 43(2): 343-373.
- [4] SETTIPANE R A, KREINDLER J L, CHUNG Y, et al. Evaluating direct costs and productivity losses of patients with asthma receiving GINA 4/5 therapy in the United States[J]. Ann Allergy Asthma Immunol, 2019, 123(6): 564-572. e3.
- [5] FLEMING L, MURRAY C, BANSAL A T, et al. The burden of severe asthma in childhood and adolescence: results from the paediatric U-BIOPRED cohorts[J]. Eur Respir J, 2015, 46(5): 1322-1333.
- [6] ECKBURG P B, BIK E M, BERNSTEIN C N, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora[J]. Science, 2005, 308(5728): 1635-1638.
- [7] ZHUANG L, CHEN H H, ZHANG S, et al. Intestinal microbiota in early life and its implications on childhood health[J]. Genomics Proteomics Bioinformatics, 2019, 17(1): 13-25.
- [8] DEPNER M, TAFT D H, KIRJAVAINEN P V, et al. Maturation of the gut microbiome during the first year of life contributes to the protective farm effect on childhood asthma[J]. Nat Med, 2020, 26(11): 1766-1775.
- [9] BARCIK W, BOUTIN R C T, SOKOLOWSKA M, et al. The role of lung and gut microbiota in the pathology of asthma[J]. Immunity, 2020, 52(2): 241-255.
- [10] LOEWEN K, MONCHKA B, MAHMUD S M, et al. Prenatal antibiotic exposure and childhood asthma: a population-based study[J]. Eur Respir J, 2018, 52(1): 1702070.
- [11] PATRICK D M, SBIHI H, DAI D L Y, et al. Decreasing antibiotic use, the gut microbiota, and asthma incidence in children: evidence from population-based and prospective cohort studies[J]. Lancet Respir Med, 2020, 8(11): 1094-1105.
- [12] ZIMMERMANN P, MESSINA N, MOHN W W, et al. Association between the intestinal microbiota and allergic sensitization, eczema, and asthma: a systematic review[J]. J Allergy Clin Immunol, 2019, 143(2): 467-485.
- [13] ABRAHAMSSON T R, JAKOBSSON H E, ANDERSSON A F, et al. Low gut microbiota diversity in early infancy precedes asthma at school age[J]. Clin Exp Allergy, 2014, 44(6): 842-850.
- [14] AZAD M B, KONYA T, GUTTMAN D S, et al. Infant gut microbiota and food sensitization: associations in the first year of life[J]. Clin Exp Allergy, 2015, 45(3): 632-643.
- [15] GOSALBES M J, LLOP S, VALLÈS Y, et al. Meconium microbiota types dominated by lactic acid or enteric bacteria are differentially associated with maternal eczema and respiratory problems in infants[J]. Clin Exp Allergy, 2013, 43(2): 198-211.
- [16] ISMAIL I H, OPPEDISANO F, JOSEPH S J, et al. Reduced gut microbial diversity in early life is associated with later development of eczema but not atopy in high-risk infants[J]. Pediatr Allergy Immunol, 2012, 23(7): 674-681.
- [17] ABRAHAMSSON T R, JAKOBSSON H E, ANDERSSON A F, et al. Low diversity of the gut microbiota in infants with atopic eczema[J]. J Allergy Clin Immunol, 2012, 129(2): 434-440. e1-440. e2.
- [18] TANAKA M, KORENORI Y, WASHIO M, et al. Signatures in the gut microbiota of Japanese infants who developed food allergies in early childhood[J]. FEMS Microbiol Ecol, 2017, 93(8). DOI: 10.

- 1093/femsec/fix099.
- [19] ARRIETA M C, STIEMSMA L T, DIMITRIU P A, et al. Early infancy microbial and metabolic alterations affect risk of childhood asthma[J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(307): 307ra152.
- [20] FRATI F, SALVATORI C, INCORVAIA C, et al. The role of the microbiome in asthma: the gut-lung axis[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 20(1): 123.
- [21] CHIU C Y, CHENG M L, CHIANG M H, et al. Gut microbial-derived butyrate is inversely associated with IgE responses to allergens in childhood asthma[J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2019, 30(7): 689-697.
- [22] OKBA A M, SABER S M, ABDEL-REHIM A S, et al. Fecal microbiota profile in atopic asthmatic adult patients[J]. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*, 2018, 50(3): 117-124.
- [23] RODRIGUEZ J, HIEL S, NEYRINCK A M, et al. Discovery of the gut microbial signature driving the efficacy of prebiotic intervention in obese patients[J]. *Gut*, 2020, 69(11): 1975-1987.
- [24] ZHUANG P, LI H Y, JIA W, et al. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids attenuate hyperglycemia through the microbiome-gut-organs axis in *db/db* mice[J]. *Microbiome*, 2021, 9(1): 185.
- [25] LE ROY T, LÉCUYER E, CHASSAING B, et al. The intestinal microbiota regulates host cholesterol homeostasis[J]. *BMC Biol*, 2019, 17(1): 94.
- [26] LIU S M, LI E Y, SUN Z Y, et al. Altered gut microbiota and short chain fatty acids in Chinese children with autism spectrum disorder[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 287.
- [27] GIBEON D, BATUWITA K, OSMOND M, et al. Obesity-associated severe asthma represents a distinct clinical phenotype: analysis of the British Thoracic Society Difficult Asthma Registry Patient cohort according to BMI[J]. *Chest*, 2013, 143(2): 406-414.
- [28] LUTHE S K, HIRAYAMA A, GOTO T, et al. Association between obesity and acute severity among patients hospitalized for asthma exacerbation[J]. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2018, 6(6): 1936-1941. e4.
- [29] OKUBO Y, MICHIHATA N, YOSHIDA K, et al. Impact of pediatric obesity on acute asthma exacerbation in Japan[J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2017, 28(8): 763-767.

[本文编辑] 崔黎明

学术快讯

上海交通大学医学院附属第九人民医院牵头制定的全球首个口腔种植临床评价核心指标共识正式发表

2023年5月,由上海交通大学医学院附属第九人民医院牵头,联合哈佛大学、苏黎世大学、哥德堡大学、哥伦比亚大学、法兰克福大学等口腔医学领域著名高校共同撰写的国际口腔种植共识报告 *Relevant domains, core outcome sets and measurements for implant dentistry clinical trials: the Implant Dentistry Core Outcome Set and Measurement (ID-COSM) international consensus report* 在 *Journal of Clinical Periodontology* 和 *Clinical Oral Implant Research* 联合发表。该共识首次制定了国际统一的口腔种植临床效果评价的核心指标集,内容涵盖口腔种植学科的五大关键领域,对开展标准化口腔种植临床诊疗和临床研究具有里程碑式意义。该共识所确定的核心评价指标将成为全球口腔种植领域学者开展高质量研究的重要风向标。