

• 论著 •

基于 16S rDNA 和非靶向代谢组学测序分析 脓毒症合并急性呼吸窘迫综合征患者 肠道菌群及代谢物的变化

全然¹ 张瑞鹏² 王美岚² 丁显飞¹ 孙同文¹

¹ 郑州大学第一附属医院急诊医学部综合 ICU, 河南省重症医学工程研究中心, 河南省重症医学重点实验室, 河南省卫生健康委员会脓毒症重点实验室, 郑州市脓毒症重点实验室, 河南省脓毒症诊疗中心, 郑州 450052; ² 郑州大学第一临床医学院, 郑州 450052

通信作者: 孙同文, Email: suntongwen@163.com

【摘要】目的 基于 16S rDNA 和非靶向代谢组学测序分析, 探讨脓毒症合并急性呼吸窘迫综合征(ARDS)患者肠道菌群及其代谢物的变化。**方法** 选择 2024 年 1 月至 5 月在郑州大学第一附属医院综合重症监护病房(ICU)收治的脓毒症患者作为研究对象, 根据入院时是否合并 ARDS 将患者分为 ARDS 组和非 ARDS 组。收集患者的临床资料, 用诊断脓毒症 24 h 内收集的粪便样本进行 16S rDNA 测序, 利用降噪后产生的扩增子序列变体进行多样性分析、物种组成分析及物种差异分析; 通过液相色谱-串联质谱法进行非靶向代谢组学分析, 筛选差异代谢物和相关通路, 最后对差异肠道菌群和差异代谢物进行联合分析。**结果** 最终纳入 38 例脓毒症患者, 其中 15 例合并 ARDS。与非 ARDS 组相比, ARDS 组序贯器官衰竭评分(SOFA)、急性生理学与慢性健康状况评分 II(APACHE II)、C-反应蛋白水平显著升高。16S rDNA 测序结果显示, 在门水平上, ARDS 组以变形菌门、拟杆菌门等为主, 非 ARDS 组以厚壁菌门、疣微菌门等为主; 在属水平上, ARDS 组以克雷伯菌属和不动杆菌属为主, 非 ARDS 组以肠球菌属、阿克曼菌属和联合乳杆菌属为主。线性判别分析(LEfSe)显示, 与非 ARDS 组相比, ARDS 组克雷伯菌属和厌氧细杆菌属的丰度显著升高, 肠球菌属、链球菌属、阿克曼菌属、瘤胃球菌属等的丰度显著降低。非靶向代谢组学分析结果显示, 与非 ARDS 组相比, ARDS 组烟酰胺 N-氧化物、尿苷、N-乙酰精氨酸等代谢物的水平显著上调, 赖氨酸、鸟氨酸、N-乙酰天冬氨酸、丙氨酰丙氨酸等代谢物的水平显著下调。代谢通路分析结果显示, 与非 ARDS 组相比, ARDS 组差异代谢物主要富集于嘧啶代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、赖氨酸生物合成、赖氨酸降解、氨酰基-tRNA 生物合成, 以及甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢。将差异肠道菌群与差异代谢物进行联合分析显示, 克雷伯菌属细菌与烟酰胺 N-氧化物、N-乙酰精氨酸等代谢物呈正相关; 肠球菌属细菌与赖氨酸、鸟氨酸等代谢物呈正相关, 与烟酰胺 N-氧化物呈负相关。**结论** 合并 ARDS 的脓毒症患者肠道有益菌的丰度进一步降低, 机会致病菌的丰度进一步升高, 进而影响相关代谢物的水平。

【关键词】 脓毒症; 急性呼吸窘迫综合征; 肠道菌群; 代谢组学

基金项目: 国家自然科学基金(82172129); 郑州大学第一附属医院科研创新(卓越)团队(ZYCXTD2023006)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20250513-00463

Alterations in gut microbiota and metabolites of sepsis patients with acute respiratory distress syndrome based on 16S rDNA and untargeted metabolomics sequencing analysis

Tong Ran¹, Zhang Ruipeng², Wang Meilan², Ding Xianfei¹, Sun Tongwen¹

¹ General Intensive Care Medicine, Department of Emergency Medicine, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Henan Engineering Research Center for Critical Care Medicine, Henan Key Laboratory of Critical Care Medicine, Henan Key Laboratory of Sepsis in Health Commission, Zhengzhou Key Laboratory of Sepsis, Henan Sepsis Diagnosis and Treatment Center, Zhengzhou 450052, China; ² The First Clinical Medical College of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

Corresponding author: Sun Tongwen, Email: suntongwen@163.com

【Abstract】Objective To investigate the changes of gut microbiota and metabolites between sepsis patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS) by using 16S rDNA and untargeted metabolomics sequencing analysis. **Methods** Patients with sepsis admitted to general intensive care unit (ICU) of the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University from January 2024 to May 2024 were enrolled. They were divided into ARDS group and non-ARDS group according to whether ARDS was present at admission. Clinical data were collected, and the fecal samples within 24 hours after diagnosis of sepsis were collected for 16S rDNA sequencing. The denoised sequences amplicon sequence variants were used for diversity analysis, species composition analysis and species difference analysis. The fecal samples were performed for untargeted metabolomics analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry to screen for differential metabolites and related pathways. Finally, the joint analysis of differential gut microbiota and metabolites was conducted. **Results** Finally, 38 sepsis patients were included, including 15 cases with concomitant ARDS. Compared

with the non-ARDS group, the ARDS group had significantly higher sequential organ failure assessment (SOFA), acute physiology and chronic health evaluation II (APACHE II), and C-reactive protein level. The 16S rDNA sequencing results showed that at the phylum level, the ARDS group was mainly composed of *Proteobacteria* and *Bacteroidota*, while the non-ARDS group was mainly composed of *Firmicutes* and *Verrucomicrobiota*. At the genus level, the ARDS group was mainly composed of *Klebsiella* and *Acinetobacter*, while the non-ARDS group was mainly composed of *Enterococcus*, *Akkermansia* and *Ligilactobacillus*. Linear discriminant analysis effect size (LEfSe) showed that compared with the non-ARDS group, the abundance of *Klebsiella* and *Anaerofilum* in the ARDS group significantly increased, while the abundance of *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Akkermansia* and *Ruminococcus* in the ARDS group significantly decreased. The untargeted metabolomics analysis showed that compared with the non-ARDS group, the levels of metabolites such as nicotinamide N-oxide, uridine and N-acetyl-arginine were significantly up-regulated in the ARDS group, while the levels of metabolites such as lysine, ornithine, N-acetylaspartic acid and alanylalanine were significantly down-regulated in the ARDS group. The metabolic pathway analysis showed that compared with the non-ARDS group, the differentially expressed metabolites in the ARDS group were mainly enriched in the pyrimidine metabolism, arginine and proline metabolism, lysine biosynthesis, lysine degradation, aminoacyl-tRNA biosynthesis, glycine, serine and threonine metabolism. The joint analysis indicated that *Klebsiella* were positively correlated with metabolites such as nicotinamide N-oxide and N-acetyl-arginine. *Enterococcus* were positively correlated with metabolites such as lysine and ornithine, and negatively correlated with nicotinamide N-oxide.

Conclusion The abundance of beneficial bacteria in the gut of sepsis patients with ARDS further decreased, while the abundance of opportunistic pathogens further increased, which in turn affected the levels of related metabolites.

【Key words】 Sepsis; Acute respiratory distress syndrome; Gut microbiota; Metabolomics

Fund program: National Natural Science Foundation of China (82172129); Scientific Research and Innovation (Excellence) Team of First Affiliated Hospital of Zhengzhou University (ZYCXTD2023006)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20250513-00463

脓毒症是宿主对感染反应失调引起的危及生命的器官功能障碍^[1]。肺脏是脓毒症常见受累器官,常表现为急性肺损伤或急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)。一项纳入我国44个重症监护病房(intensive care unit, ICU)、2 322例脓毒症患者的流行病学调查显示,约68.2%的脓毒症患者合并急性肺损伤,且90 d病死率高达35.5%^[2]。ARDS是由于肺内外多种原因引起肺毛细血管损伤导致患者出现以急性缺氧性呼吸衰竭为主要表现的综合征^[3]。脓毒症合并ARDS的患者病情进展快,病死率较高^[4]。肠道是人体吸收营养物质、排出代谢废物的一个通道,人体肠道细菌数以万计,且被认为与多种疾病存在关联,检测粪便中微生物的种类和含量能够反映肠道的功能及全身代谢情况^[5]。脓毒症时患者肠道血管微循环发生障碍,造成灌注不足、黏膜屏障受损、通透性增高,肠道潜在致病菌及其代谢物可进入血液,进而引起肺损伤^[6]。此外,脓毒症引起的ARDS不仅与肠道细菌和代谢产物密切相关,还受其他因素影响,例如:Liang 和 He^[7]研究发现,微小RNA(microRNA, miRNA)通过调节炎症、细胞凋亡和氧化应激等方式参与脓毒症相关急性肺损伤的进展。本研究中通过16S rDNA测序和非靶向代谢组学探讨脓毒症合并ARDS患者肠道菌群及代谢产物的变化,以期为后续寻找脓毒症合并ARDS的精准诊疗和协同治疗理念提供依据。

1 对象和方法

1.1 研究对象:采用回顾性队列研究方法,选择2024年1月至5月在郑州大学第一附属医院综合ICU收治的脓毒症患者作为研究对象。

1.1.1 纳入标准:①符合脓毒症3.0诊断标准^[1];②年龄在18~80岁。

1.1.2 排除标准:①合并慢性肺部疾病;②妊娠或哺乳期;③合并恶性肿瘤;④合并严重肝、肾功能异常;⑤合并免疫性疾病。

1.1.3 伦理学:本研究方案经过郑州大学第一附属医院科研和临床试验伦理委员会批准(审批号:2022-KY-0215-004)。

1.2 研究分组:根据2023版ARDS全球新定义诊断标准^[3],将脓毒症患者分为ARDS组和非ARDS组。

1.3 临床资料收集:通过医院电子病历系统收集患者诊断脓毒症24 h内的临床资料,包括年龄、性别、序贯器官衰竭评分(sequential organ failure assessment, SOFA)、急性生理学与慢性健康状况评分II(acute physiology and chronic health evaluation II, APACHE II)、C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、降钙素原(procalcitonin, PCT)、白细胞计数(white blood cell count, WBC),以及28 d生存结局等。

1.4 肠道菌群和代谢物分析

1.4.1 粪便样本来源:粪便样本均是在患者诊断为脓毒症24 h内收集的,置于冻存管中放入液氮淬灭后转移至-80℃保存。

1.4.2 16S rDNA 测序: 从粪便标本中提取 DNA 进行聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 扩增, PCR 产物经 AMPure XT 磁珠 (美国贝克曼库尔特有限公司) 纯化, 并通过 Qubit 荧光计 (美国赛默飞世尔科技公司) 定量。在 NovaSeq 双端 250 碱基测序平台上对文库进行测序, 并使用 Agilent 2100 生物分析仪和 Illumina 文库定量试剂盒 (美国卡帕生物科技有限公司) 评估扩增子文库的大小与数量。原始数据匹配端合并使用 FLASH 软件进行。根据 Fqtrim (v0.94) 高通量测序数据处理程序, 在特定过滤条件下对原始数据进行质量过滤, 使用 Vsearch (v2.3.4) 软件过滤嵌合序列, 应用 DADA2 软件 (R) 包去重复化后获得特征序列。使用 QIIME2 生物信息学工具计算微生物 α 多样性和 β 多样性。用 Blast 搜索工具比对序列, 用 SILVA 数据库对特征序列进行注释, 用 R 软件 (v3.5.2) 进行相关可视化分析。

1.4.3 非靶向代谢组学测序: 使用液相色谱-串联质谱法进行非靶向代谢组学研究。首先将粪便样本与磁珠和 500 μL 提取液 (甲醇: 乙腈: 水为 2:2:1) 混合振荡 30 s, 放入匀浆仪中匀浆 (35 Hz, 4 min), 然后冰水浴超声 5 min, 重复 3 次; 将匀浆于 4 °C 下 12 000 r/min (离心半径 8.6 cm) 离心 15 min, 取上清液到质谱上样瓶中; 从每个样品中取等体积上清液混匀制备质量控制样品。使用 Vanquish 超高效液相色谱仪, 通过 Waters ACQUITY UPLC BEH Amide (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm) 液相色谱柱进行色谱分离。流动相 A: 25 mmol/L 乙酸铵和 25 mmol/L 氨水, 流动相 B: 乙腈。使用 SIMCA (v18.0.1) 软件进行正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA), 对多维数据进行降维, OPLS-DA 模型中变量重要性投影 (variable importance in projection, VIP) 用于识别两组间差异代谢物。将 VIP > 1.0、 $P < 0.05$ 的代谢物定义为差异代谢物并进行层次聚

类分析, 对差异代谢物所在的通路进行富集分析, 并对差异肠道菌群与差异代谢物进行联合分析。

1.5 统计学处理: 使用 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计分析。计量资料进行正态性检验, 符合正态分布者以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用独立样本 t 检验进行组间比较; 符合偏态分布者以中位数 (四分位数) [$M(Q_1, Q_3)$] 表示, 采用 Mann-Whitney U 检验进行组间比较。计数资料以频数表示, 两组间比较采用 χ^2 检验。检验水准 α 值取双侧 0.05。

2 结 果

2.1 患者临床资料 (表 1): 最终纳入 38 例脓毒症患者, 其中 15 例合并 ARDS。ARDS 组与非 ARDS 组患者年龄和性别分布差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。ARDS 组 SOFA 评分、APACHE II 评分、CRP 水平均明显高于非 ARDS 组 (均 $P < 0.05$), PCT、WBC、28 d 病死率虽高于非 ARDS 组, 但差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。

2.2 肠道菌群分析

2.2.1 稀释曲线 (图 1): 稀释曲线可直接反映测序数据量的合理性, Chao1 和 Shannon 曲线表明, 随着序列数量的增加, 曲线趋于平缓, 说明测序数据量已饱和。

2.2.2 α 多样性分析 (表 2): Chao1 和 ACE 指数主要反映物种丰富度, Shannon 指数主要反映物种多样性, Pielou-e 指数主要反映物种均匀度。与非 ARDS 组相比, ARDS 组 Chao1、ACE、Shannon、Pielou-e 指数均降低, 但差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$), 提示 ARDS 组物种丰富度和多样性降低, 物种均匀度降低。

2.2.3 β 多样性分析: 主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和主坐标分析 (principal coordinates analysis, PCoA) 结果表明, ARDS 组与非 ARDS 组样本区分度较好 (图 2A~2B); 相似性检验结果也表明组间差异显著大于组内差异 ($R=0.251$, $P=0.002$; 图 2C)。

表 1 ARDS 组与非 ARDS 组脓毒症患者临床资料比较

组别	例数 (例)	年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	性别(例, 男 / 女)	SOFA [分, $M(Q_1, Q_3)$]	APACHE II [分, $M(Q_1, Q_3)$]	CRP [mg/L, $M(Q_1, Q_3)$]	PCT [$\mu\text{g}/\text{L}$, $M(Q_1, Q_3)$]	WBC ($\times 10^9/\text{L}$, $\bar{x} \pm s$)	28 d 病死率 [% (例)]
ARDS 组	15	57.20 ± 14.53	7/8	7(5, 9)	15(11, 20)	58.51(30.06, 166.18)	4.70(1.03, 8.30)	9.38 ± 4.23	60.0(9)
非 ARDS 组	23	58.78 ± 18.37	13/10	5(2, 7)	9(6, 12)	33.13(13.04, 68.62)	2.11(0.39, 8.01)	8.62 ± 3.47	39.1(9)
$t/\chi^2/U$ 值		-0.281	0.354	2.538	3.803	2.316	1.014	0.603	1.586
P 值		0.780	0.552	0.016	0.001	0.034	0.326	0.551	0.208

注: ARDS 为急性呼吸窘迫综合征, SOFA 为序贯器官衰竭评分, APACHE II 为急性生理学与慢性健康状况评分 II, CRP 为 C-反应蛋白, PCT 为降钙素原, WBC 为白细胞计数

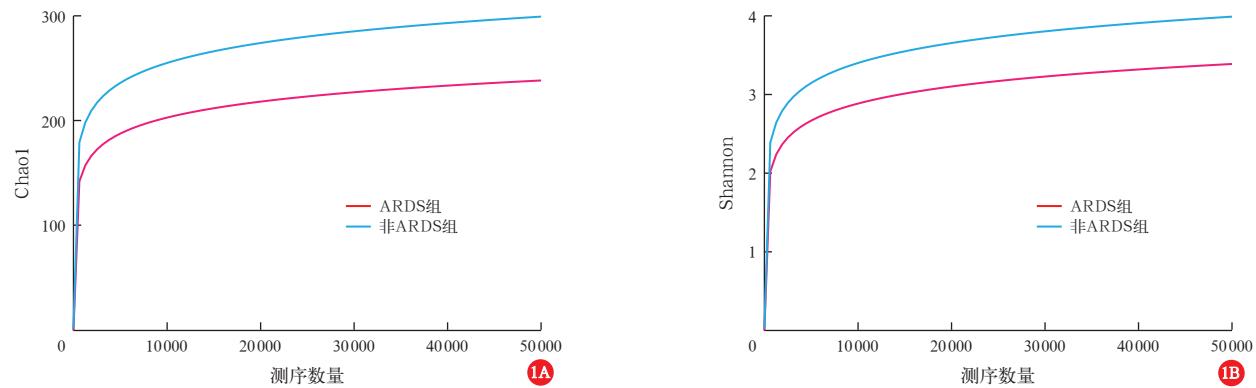


图1 ARDS组与非ARDS组脓毒症患者肠道菌群Chao1稀释曲线(A)和Shannon稀释曲线(B)

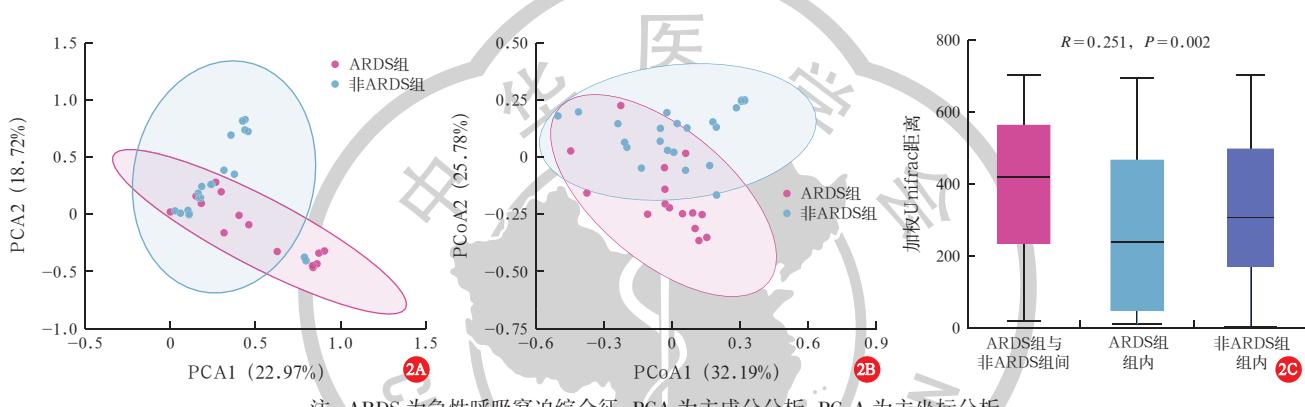


图2 ARDS组与非ARDS组脓毒症患者肠道菌群β多样性PCA(A)、PCoA(B)和相似性分析(C)

表2 ARDS组与非ARDS组脓毒症患者肠道菌群 α 多样性比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数 (例)	Chao1 指数 [$M(Q_1, Q_3)$]	ACE 指数 [$M(Q_1, Q_3)$]
ARDS 组	15	228.20 (182.37, 280.62)	229.21 (185.44, 281.09)
非ARDS 组	23	229.90 (196.00, 373.95)	231.94 (196.74, 375.03)
Z 值		-1.180	-1.180
P 值		0.248	0.248
组别	例数 (例)	Shannon 指数 ($\bar{x} \pm s$)	Pielou-e 指数 [$M(Q_1, Q_3)$]
ARDS 组	15	3.41 \pm 1.10	0.43 (0.38, 0.49)
非ARDS 组	23	3.99 \pm 1.76	0.55 (0.46, 0.63)
t/Z 值		1.144	-1.628
P 值		0.260	0.107

注：ARDS 为急性呼吸窘迫综合征

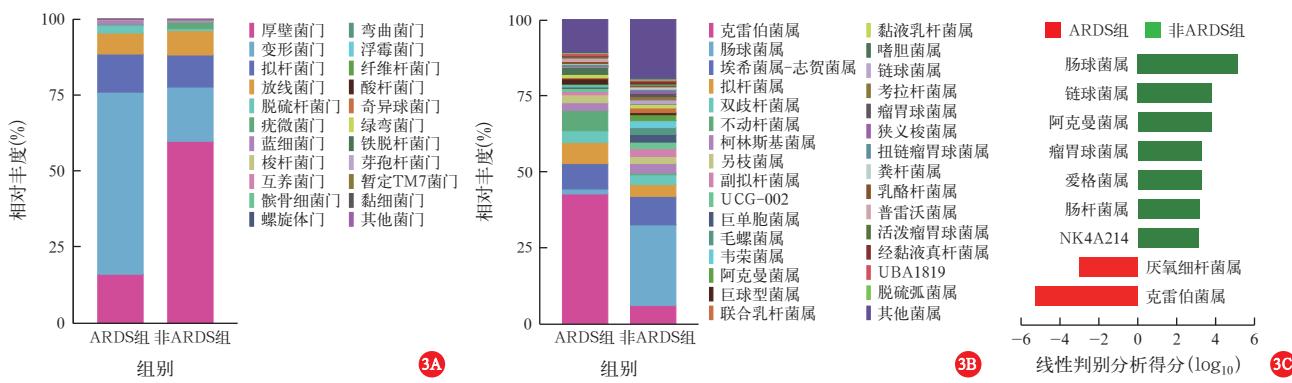
2.2.4 菌群构成及差异菌群分析：在门水平上，ARDS组中变形菌门、拟杆菌门丰度较高，非ARDS组中厚壁菌门、疣微菌门丰度较高(图3A)。在属水平上，ARDS组丰度较高的肠道菌群是克雷伯菌属、不动杆菌属、嗜胆菌属、普雷沃菌属等，非ARDS组丰度较高的肠道菌群是肠球菌属、阿克曼菌属、联合乳杆菌属、链球菌属、柯林斯基菌属、瘤胃球菌属、副拟杆菌属、UCG-002(图3B)。线性判别分析

(linear discriminant analysis effect size, LEfSe)显示，与非ARDS组相比，ARDS组克雷伯菌属和厌氧细杆菌属丰度显著升高，肠球菌属、链球菌属、阿克曼菌属、瘤胃球菌属等丰度显著降低(图3C)。表明ARDS会导致脓毒症患者肠道菌群发生变化。

2.3 代谢组学分析

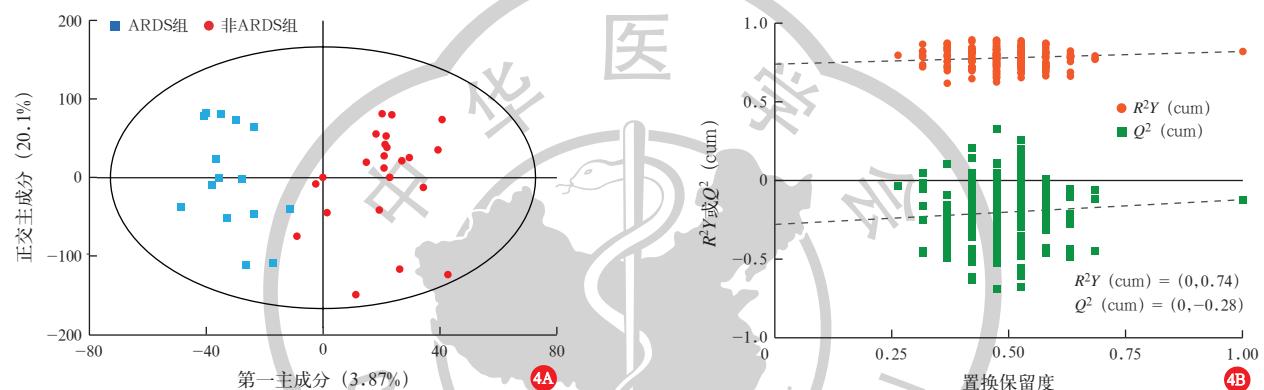
2.3.1 代谢谱：OPLS-DA结果显示，ARDS组与非ARDS组区分明显，说明两组患者粪便代谢谱发生明显变化(图4A)。此外，OPLS-DA的置换检验表明该模型的拟合效果较好(图4B)。

2.3.2 差异代谢物的鉴定与代谢通路分析：与非ARDS组相比，ARDS组烟酰胺N-氧化物、尿苷、N-乙酰精氨酸、胸苷、脱氧肌苷等代谢物的水平显著上调，赖氨酸、鸟氨酸、N-乙酰天冬氨酸、丙氨酰丙氨酸、二氢尿嘧啶、4-羟代乙酸等代谢物的水平显著下调(图5)。差异代谢物的代谢通路分析显示，与非ARDS组相比，ARDS组差异代谢物主要富集在嘧啶代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、赖氨酸生物合成、赖氨酸降解、氨基酰基-tRNA生物合成、以及甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢(图6)。



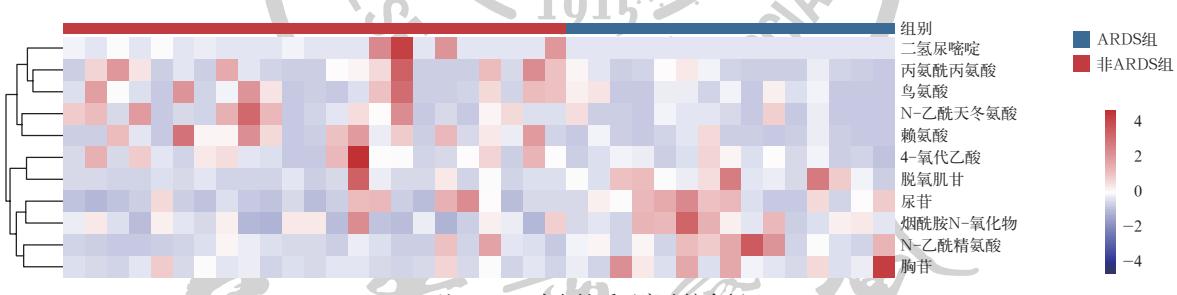
注 : ARDS 为急性呼吸窘迫综合征

图 3 ARDS 组与非 ARDS 组脓毒症患者肠道菌群在门水平(A)和属水平(B)的物种组成分析以及在属水平上的物种差异分析(C)



注 : ARDS 为急性呼吸窘迫综合征, OPLS-DA 为正交偏最小二乘法-判别分析; R^2Y 代表模型对 Y 变量的解释性, Q^2 代表模型的可预测性

图 4 ARDS 组与非 ARDS 组脓毒症患者肠道菌群 OPLS-DA 模型得分散点图(A)和置换检验结果点状图(B)



注 : ARDS 为急性呼吸窘迫综合征

图 5 ARDS 组与非 ARDS 组脓毒症患者肠道菌群差异代谢物的热图

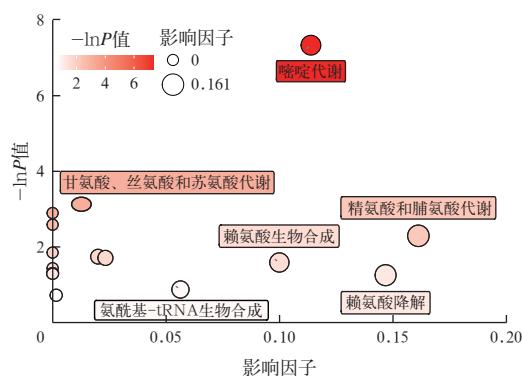
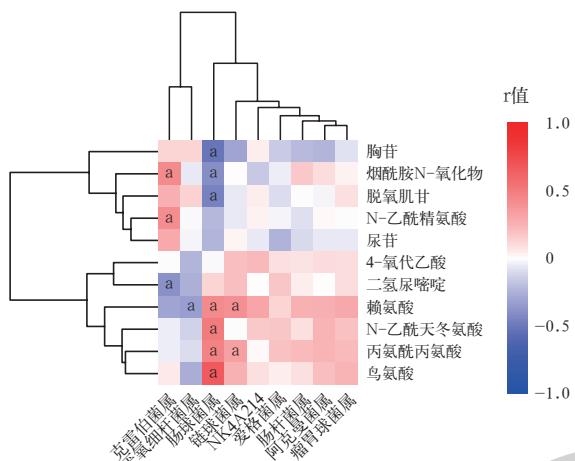


图 6 ARDS 组与非 ARDS 组脓毒症患者肠道菌群差异代谢物的代谢通路分析

2.4 联合分析(图 7): 将差异肠道菌群与差异代谢物进行联合分析,结果显示克雷伯菌属细菌与烟酰胺 N-氧化物、N-乙酰精氨酸等代谢物呈正相关,与二氢尿嘧啶呈负相关;肠球菌属细菌与赖氨酸、N-乙酰天冬氨酸、丙氨酰丙氨酸、鸟氨酸等代谢物呈正相关,与胸苷、烟酰胺 N-氧化物、脱氧肌甘等代谢物呈负相关;链球菌属细菌与赖氨酸、丙氨酰丙氨酸等代谢物呈正相关;厌氧细杆菌属细菌与赖氨酸等代谢物呈负相关。

3 讨论

本研究探讨了 ARDS 与脓毒症患者肠道菌群



注: ARDS 为急性呼吸窘迫综合征; a 代表 $P < 0.05$

图 7 ARDS 组与非 ARDS 组脓毒症患者肠道菌群与代谢物的联合分析

和代谢物的关系,结果发现,与非 ARDS 组相比,ARDS 组变形菌门、拟杆菌门、克雷伯菌属和不动杆菌属等菌群丰度升高,厚壁菌门、疣微菌门、肠球菌属、联合乳杆菌属和阿克曼菌属等菌群丰度降低;烟酰胺 N- 氧化物、尿苷等代谢物的丰度显著上调,赖氨酸、鸟氨酸等代谢物的丰度显著下调。差异代谢物主要富集在嘧啶代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、赖氨酸生物合成、赖氨酸降解、氨酰基-tRNA 生物合成等代谢通路中。该结果对于理解 ARDS 改变脓毒症患者肠道菌群构成和代谢物的丰度具有重要意义。

本研究显示,与非 ARDS 组相比,ARDS 组肠道变形菌门、拟杆菌门的丰度较高,厚壁菌门、疣微菌门丰度较低。有研究显示,变形菌门细菌可以产生脂多糖,脂多糖介导高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group protein B1, HMGB1) 释放增加,进而激活核转录因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 转运,促进促炎细胞因子的产生,增加肺上皮通透性,参与脓毒症诱导的 ARDS 过程^[8-9]。拟杆菌门中有部分细菌参与蛋白质分解过程中有毒物质的释放,可能促进炎症反应^[10]。Dickson 等^[11]研究发现,ARDS 患者肺泡灌洗液中肠道拟杆菌含量丰富,但在健康受试者和对照组的检测中未发现肠道拟杆菌,说明肺部损伤与肠道拟杆菌相关。此外,陈说等^[12]研究发现,与对照组大鼠对比,营养性肥胖大鼠肠道内厚壁菌门增多,拟杆菌门减少,厚壁菌门细菌有利于机体能量摄取,拟杆菌门细菌多的个体能量获取减少。徐沿等^[13]研究发现,厚壁菌门细菌可以增加短链脂肪酸浓度,后者中的丁酸盐可参与免疫细胞的细胞

因子表达以及细胞增殖、凋亡等功能,发挥抗炎作用。疣微菌门细菌存在于肠道黏膜内层,可分解多糖类物质,为机体提供能量和营养物质,还可以通过细胞膜磷脂发挥免疫调节作用^[14]。此外,疣微菌门细菌也能够产生丁酸、丙酸、乙酸等短链脂肪酸,诱导调节性 T 细胞的发育并经血抵达肺部,通过 G 蛋白耦联受体介导的乙酸信号调控肺部炎症^[15]。熊惊^[16]研究发现,与对照组小鼠相比,ARDS 小鼠厚壁菌门丰度降低,变形菌门丰度升高,这与本研究结果一致。

ARDS 组丰度较高的肠道菌群为克雷伯菌属和不动杆菌属,既往研究表明这两种菌属较易引起肺部感染。Mathur 等^[17]研究发现,克雷伯菌属中有多种细菌,在临床中肺炎克雷伯菌较为常见,可引起肺部感染等。不动杆菌属为机会致病菌,正常存在于泌尿生殖道,与人体内的其他细菌相互制约,维持平衡,当体内有其他因素作用时会大量繁殖,感染其他部位,以肺部感染最常见,患者大多伴有严重疾病^[18]。非 ARDS 组丰度较高的肠道菌群是肠球菌属、阿克曼菌属、联合乳杆菌属。肠球菌属细菌是肠道正常菌群,对人体有多种作用,一方面能够参与营养物质的代谢,另一方面可以合成一些维生素和代谢物质,阻止腐败菌的扩散,调节免疫系统^[19],在脓毒症时可以抵抗细菌的侵袭。阿克曼菌属是人体肠道的正常菌群,属于疣微菌门,定植于肠道黏液层,可以促进肠道杯状细胞分泌黏蛋白。既往研究也发现,嗜黏蛋白阿克曼菌通过调节小鼠肠道微生物群和短链脂肪酸减轻脂多糖诱导的急性肺损伤^[20]。吴菊华^[21]研究显示,联合乳杆菌属细菌可以上调回肠组织紧密连接蛋白-1 (Claudin-1) 和闭合蛋白 (Occludin) 的表达,对脓毒症大鼠肠道屏障具有保护作用,能够减少肠道细菌的移位。

代谢组学研究显示,ARDS 组患者烟酰胺 N- 氧化物和尿苷等代谢物的水平显著上调,赖氨酸、鸟氨酸等代谢物的水平显著下调。研究显示,尿苷可以通过抑制氧化应激和炎症过程减轻脂多糖诱导的急性肺损伤^[22],这与本研究结果相反,未来需要大量临床样本进行试验进一步验证。烟酰胺 N- 氧化物是一种有机化合物,由烟酸合成。烟酸为人体必需的维生素之一,具有调节脂质、改善代谢等作用,烟酰胺 N- 氧化物增多,导致烟酸减少,机体抵抗力下降,脓毒症引发的感染更容易到达肺部,引起急性肺损伤^[23]。鸟氨酸对于抵御病原体的入侵发挥重

要作用,研究表明鸟氨酸的缺乏影响细胞焦亡过程,还会影响巨噬细胞等免疫细胞的功能^[24]。赖氨酸是人类必须氨基酸之一,自身无法合成,必须从食物中获取,其能够促进机体生长发育,参与能量代谢,增强免疫功能,对人体具有重要作用。Zhang 等^[25]发现,L-赖氨酸在脂多糖诱导的小鼠模型中可改善脓毒症相关急性肺损伤。另一项研究显示,肠道菌群可通过 L-赖氨酸激活芳香烃受体-吲哚胺 2,3-双加氧酶 1-犬尿氨酸途径,调节免疫反应以减轻炎症^[26]。

联合分析结果表明,克雷伯菌属细菌与促炎代谢物呈正相关,与抗炎代谢物呈负相关;肠球菌属细菌与抗炎代谢物呈正相关,与促炎代谢物呈负相关。合并 ARDS 的脓毒症患者肠道菌群更加紊乱,克雷伯菌属、厌氧细杆菌属等机会致病菌含量进一步增加,肠球菌属、链球菌属等有益菌含量减少,从而导致促炎代谢物增加,抗炎代谢物减少。

综上所述,本研究表明,合并 ARDS 会引起脓毒症患者肠道有益菌的丰度降低,机会致病菌的丰度升高,进而影响代谢物的水平,这为后续脓毒症合并 ARDS 的精准诊疗提供了新依据,为探索脓毒症合并 ARDS 的治疗靶点提供了理论基础,并明确了多维度的科研方向,推动了肠道与整个机体协同治疗理念的普及。但本研究的局限之处在于入组患者较少,未来需要较大的样本量进一步证实本研究结果并深入挖掘。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

作者贡献声明 全然:实验设计、数据采集、数据分析、文章撰写;张瑞鹏:数据采集、数据分析、文章撰写;王美岚:数据采集、数据分析;丁显飞:实验设计、数据采集;孙同文:实验设计、实验实施、文章撰写

参考文献

- [1] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. *JAMA*, 2016, 315 (8): 801–810. DOI: 10.1001/jama.2016.0287.
- [2] CHInese Epidemiological Study of Sepsis (CHESS) Study Investigators. The epidemiology of sepsis in Chinese ICUs: a national cross-sectional survey [J]. *Crit Care Med*, 2020, 48 (3): e209–e218. DOI: 10.1097/CCM.0000000000004155.
- [3] Matthay MA, Arabi Y, Arroliga AC, et al. A new global definition of acute respiratory distress syndrome [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2024, 209 (1): 37–47. DOI: 10.1164/rccm.202303-0558WS.
- [4] Auriemma CL, Zhuo H, Delucchi K, et al. Acute respiratory distress syndrome-attributable mortality in critically ill patients with sepsis [J]. *Intensive Care Med*, 2020, 46 (6): 1222–1231. DOI: 10.1007/s00134-020-06010-9.
- [5] de Vos WM, Tilg H, Van Hul M, et al. Gut microbiome and health: mechanistic insights [J]. *Gut*, 2022, 71 (5): 1020–1032. DOI: 10.1136/gutjnl-2021-326789.
- [6] Adelman MW, Woodworth MH, Langelier C, et al. The gut microbiome's role in the development, maintenance, and outcomes of sepsis [J]. *Crit Care*, 2020, 24 (1): 278. DOI: 10.1186/s13054-020-02989-1.
- [7] Liang GB, He ZH. MicroRNAs in sepsis-induced acute lung injury: new advances in diagnostics and therapeutic [J]. *Intensive Care Res*, 2023, 3: 150–155. DOI: https://doi.org/10.1007/s44231-023-00031-w.
- [8] 郭仕辉,余永涛,万佳宏,等.变形菌门与哺乳动物结肠肠道菌群失调相关研究进展[J].中国微生态学杂志,2022,34(4):479–484. DOI: 10.13381/j.cnki.cjem.202204021.
- [9] 曲建宇,冯佳丽,李君,等.高迁移率族蛋白 B1 在脂多糖诱导的 ALI/ARDS 中的作用机制研究[J].中华危重病急救医学,2022,34(8): 825–830. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20220308-00224.
- [10] 周莉,张炜.脆弱拟杆菌对结直肠疾病的作用以及菌群治疗的展望[J].胃肠病学,2019,24(3): 188–190. DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2019.03.014.
- [11] Dickson RP, Singer BH, Newstead MW, et al. Enrichment of the lung microbiome with gut bacteria in sepsis and the acute respiratory distress syndrome [J]. *Nat Microbiol*, 2016, 1 (10): 16113. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.113.
- [12] 陈说,张帆,范艳飞,等.膳食胆酸对营养性肥胖大鼠肠道炎症的改善及对肠道菌群中拟杆菌门与厚壁菌门比例的影响[J].胃肠病学和肝病学杂志,2022,31(10): 1126–1131. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2022.10.009.
- [13] 徐沿,张卓,蒲浩,等.ARDS 与肠道菌群的相关性研究进展[J].中国中西医结合急救杂志,2022,29(5): 636–640. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2022.05.029.
- [14] Bae M, Cassilly CD, Liu XX, et al. Akkermansia muciniphila phospholipid induces homeostatic immune responses [J]. *Nature*, 2022, 608 (7921): 168–173. DOI: 10.1038/s41586-022-04985-7.
- [15] Li WJ, Yao C, Han L, et al. Causal relationship between gut microbiota and chronic obstructive pulmonary disease: a bidirectional two-sample Mendelian randomization study [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2024, 19: 1957–1969. DOI: 10.2147/COPD.S464917.
- [16] 熊倞.肝素对 LPS 诱导的新生小鼠急性呼吸窘迫综合征的作用及机制研究[D].重庆:重庆医科大学,2023.
- [17] Mathur P, Mal piedi P, Walia K, et al. Health-care-associated bloodstream and urinary tract infections in a network of hospitals in India: a multicentre, hospital-based, prospective surveillance study [J]. *Lancet Glob Health*, 2022, 10 (9): e1317–e1325. DOI: 10.1016/S2214-109X(22)00274-1.
- [18] 黄娟,谢志春.不动杆菌属细菌医院感染研究现状[J].中华医院感染学杂志,2007,17(6): 757–760. DOI: 10.3321/j.issn:1005-4529.2007.06.055.
- [19] Krawczyk B, Wityk P, Gałęcka M, et al. The many faces of enterococcus spp.—commensal, probiotic and opportunistic pathogen [J]. *Microorganisms*, 2021, 9 (9): 1900. DOI: 10.3390/microorganisms9091900.
- [20] Shen J, Wang ST, Xia H, et al. Akkermansia muciniphila attenuated lipopolysaccharide-induced acute lung injury by modulating the gut microbiota and SCFAs in mice [J]. *Food Funct*, 2023, 14 (23): 10401–10417. DOI: 10.1039/d3fo04051h.
- [21] 吴菊华.乳酸菌对脓毒症大鼠肠道屏障功能的保护作用[D].福州:福建医科大学,2018.
- [22] Zhang L, Li B, Zhang DG, et al. Uridine alleviates LPS-induced ARDS and improves insulin sensitivity by decreasing oxidative stress and inflammatory processes [J]. *Physiol Int*, 2022, 109 (2): 215–229. DOI: 10.1556/2060.2022.00169.
- [23] 王月,赵紫楠,郭思瑞,等.烟酸类药物临床应用研究进展[J].临床药物治疗杂志,2024,22(1): 13–16. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3384.2024.01.003.
- [24] Gao YJ, Liu KY, Xiao WF, et al. Aryl hydrocarbon receptor confers protection against macrophage pyroptosis and intestinal inflammation through regulating polyamine biosynthesis [J]. *Theranostics*, 2024, 14 (11): 4218–4239. DOI: 10.7150/thno.95749.
- [25] Zhang Y, Yu W, Han D, et al. L-lysine ameliorates sepsis-induced acute lung injury in a lipopolysaccharide-induced mouse model. *Biomed Pharmacother* [J]. 2019, 118: 109307. DOI: 10.1016/j.bioph.2019.109307.
- [26] Zhang YN, Tu SY, Ji XW, et al. Dubosiella newyorkensis modulates immune tolerance in colitis via the L-lysine-activated AhR-IDO1-Kyn pathway [J]. *Nat Commun*, 2024, 15 (1): 1333. DOI: 10.1038/s41467-024-45636-x.