DOI:10.16016/j.1000-5404.202005245

胆汁淤积性肝病患者肠道菌群特征及其临床相关性研究

伍灵怡[1,2],唐 黎[2],张 静[1],雷媛媛[2],胡世平[2],陈雨琳[1],喻晓刚[1],王应邦[1],唐 波[2],杨国栋[1] 637000 四川南充,川北医学院附属医院消化内科[1];400037 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第二附属医院消化内科[2]

[摘要] **目的** 分析胆汁淤积性肝病的肠道菌群多样性和结构组成及其与临床参数间的相关性。**方法** 收集胆汁淤积性肝病患者($n=16$)和健康人群对照者($n=19$)的新鲜粪便,采用16S rRNA分析受试者肠道菌群的多样性和结构特征,运用Pearson法分析差异菌属与临床参数间的相关性。**结果** 基线资料显示研究对象的性别、年龄、BMI无统计学差异($P>0.05$),血清学指标有统计学差异($P<0.01$)。α多样性表明,胆汁淤积性肝病组的Chao1和Shannon指数明显减少,但无统计学差异,β多样性有统计学差异($P<0.01$);菌群结构分析发现*Bacteroides*(拟杆菌属)、*Lachnoclostridium*、*Veillonella*(韦荣氏球菌属)、*Roseburia*(罗斯氏菌属)、*Escherichia_shigella*(大肠埃希菌-志贺氏菌属)在胆汁淤积性肝病组中明显富集($P<0.05$),而*Blautia*(布劳特氏菌属)明显减少($P<0.05$)。Pearson法分析表明,*Lachnoclostridium*与ALP($P<0.01$)、GGT($P<0.05$)强相关,*Veillonella*(韦荣氏菌属)与GGT强相关($P<0.05$)。**结论** 胆汁淤积性肝病患者与健康人群对照者相比,肠道菌群存在特征性改变,*Veillonella*(韦荣氏球菌属)相对高丰度表达与胆汁淤积性肝病强相关。

[关键词] 胆汁淤积性肝病;肠道菌群;16S rRNA

[中图法分类号] R322.45;R378;R575 [文献标志码] A

Characteristics of gut microbiota and their correlation with clinical parameters in patients with cholestatic liver disease

WU Lingyi[1,2], TANG Li[2], ZHANG Jing[1], LEI Yuanyuan[2], HU Shiping[2], CHEN Yulin[1], YU Xiaogang[1], WANG Yingbang[1], TANG Bo[2], YANG Guodong[1] [1]Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan Province, 637000; [2]Department of Gastroenterology, Second Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400037, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the diversity and composition of gut microbiota in patient with cholestatic liver disease, and explore their correlation with clinical parameters. **Methods** Fresh stool samples from 16 patients with cholestatic liver disease and 19 healthy controls were collected, and 16S rRNA sequencing was used to analyze the diversity of gut microbiota and composition characteristics. Pearson analysis was employed to analyze the correlation between the different bacteria and clinical parameters. **Results** There were no statistical differences in the baseline data, such as sex, age and body mass index (BMI) in study subjects ($P>0.05$), but significant differences were observed in serum indexes among them ($P<0.01$). The results of α diversity showed that Chao1 and Shannon indexes were lower in the study group, but there was no statistical difference ($P>0.05$). β diversity results indicated that the species diversity had significant difference between 2 group ($P<0.01$). Further analysis of microbiota composition showed largely relative abundance of *Bacteroides*, *Lachnoclostridium*, *Veillonella*, *Roseburia* and *Escherichia shigella* ($P<0.05$), while the abundance of *Blautia* were dramatically decreased ($P<0.05$). Pearson analysis displayed

[基金项目] 南充市科技项目市校科技战略合作专项(18SHZ0371)

[通信作者] 唐 波,E-mail:atreebobo@163.com 杨国栋,E-mail:ygd_ld2003@163.com

that *Lachnoclostridium* was strongly correlated with serum level of alkaline phosphatase (ALP) ($P<0.01$) and gamma-glutamyl transferase (GGT) ($P<0.05$), and *Veillonella* was also strongly correlated with GGT ($P<0.05$). **Conclusion** Compared with healthy controls, the patients with cholestatic liver disease have obvious characteristic changes in the gut microbiota. The relatively high abundance of *Veillonella* is closely assocatied with cholestatic liver disease.

[**Key words**] cholestatic liver disease; gut microbiota; 16S rRNA

Support by the Special Project of City-School Science and Technology Strategic Cooperation of Nachong (18SHZ0371). Corresponding author: TANG Bo, E-mail: atreebobo@163.com; YANG Guodong, E-mail: ygd_ld2003@163.com

胆汁淤积(cholestasis)是多种疾病集合的常见临床综合征,病因包括肝炎、肝硬化、感染、胆道阻塞等,为胆汁形成、分泌和(或)胆汁流动障碍而造成的异常病理状态,临床上常表现为黄疸,可伴有疲劳、瘙痒、乏力等症状。早期常无特异性表现,病情进展可出现高胆红素血症,严重时可致肝功能衰竭甚至死亡。2015 年曹旬旬等的流行病学调查结果显示,在 4 660 名慢性肝病患者中,胆汁淤积患病率为 10.26%[1]。胆汁淤积时,胆汁排入肠道总量明显减少,引起肠道黏膜屏障损害,可出现内毒素及细菌移位,造成肝损伤,加重胆汁淤积。因此,凡因各种原因导致肝脏病变继而发生胆汁淤积为主要表现的肝胆疾病统称为胆汁淤积性肝病(cholestatic liver disease)。

人体内的微生物群质量约 1.5 kg、微生物细胞约 100 万亿个[2]、微生物组基因达 330 万(是人类基因数量的 150 倍)[3],被称为人体的“主要器官”之一[4]。近年来随着研究的不断深入,揭示肠道菌群可参与介导原发性硬化性胆管炎(Primary sderosing cholangitis, PSC)、原发性胆汁性胆管炎(Primary biliary cholangitis, PBC)、肝硬化、炎症性肠病、2 型糖尿病等多种疾病的发展。研究表明,肠道菌群与肝脏疾病的发生发展紧密相关。一方面,肝脏和肠道在胚胎起源上具有一致性,保有天然生理功能联系;另一方面,肠道菌群的失调可让肠内代谢产物(如肠源性毒素和微生物代谢物)经门静脉进入肝脏,通过肝-肠轴循环诱发肝细胞损伤和激活炎症免疫应答,从而导致肝功能改变。有临床研究证据表明,肠道微生物与胆汁淤积性肝病的严重程度和进展相关,PBC 患者肠道中潜在的有益菌,如乳酸杆菌属和埃氏拟杆菌属明显减少,机会性致病菌如韦荣氏球菌属、链球菌属、克雷伯菌属和副流感嗜血杆菌属明显增加[5]。鉴于胆汁淤积性肝病的病因多样,目前关于肠道菌群特征在国内研究报道较少,为进一步了解该疾病肠道菌群特征,本研究收集了 16 例胆汁淤积性肝病患者及 19 例健康人群对照者的粪便样本,应用 16S rRNA 高通量基因测序技术探寻胆汁淤积性肝病患者和健康人群对照者的肠道菌群种类、结构和丰度差异,分析胆汁淤积性肝病与肠道菌群之间相关性,为临床诊疗提供新思路。

1 材料与方法

1.1 研究对象

胆汁淤积性肝病组(病例组):收集 2019 年 3~12 月于陆军军医大学第二附属医院消化内科收治的 16 名患者,均符合 2009 年《欧洲肝病学会临床实践指南:胆汁淤积性肝病的治疗》的诊断标准。健康人群对照组:川北医学院附属医院消化内科 19 例无慢性疾病的健康人群。受试者及其家属对本次研究目的知情同意。排除标准:入组前 14 d 内曾使用抗生素、微生态制剂等;妊娠或准备妊娠的妇女及哺乳期妇女;有严重原发性疾病及精神疾病等无法配合者;不愿意参与者。

1.2 标本采集

在清洁环境中采集研究对象的新鲜粪便(不少于 10 g),用无菌棉签挑取新鲜粪便置于无菌采样管中送至实验室,放入-80 ℃超低温冰箱中保存待检。

1.3 DNA 提取及高通量测序

粪便样本使用磁珠法进行总 DNA 提取(粪便基因组 DNA 提取试剂盒,北京天根生化科技有限公司),保存于-20 ℃。粪便 DNA 样本终体积为 50 μL,用紫外分光光度计检测浓度及纯度后,置于干冰中外送广东南芯医疗科技有限公司进行 PCR 扩增及 16S rRNA 基因 V4 区测序。

1.4 生物信息学分析

测序得到的原始数据经过质量控制后进行序列拼接。在 99%相似度下聚类得到操作分类单元(OTU)并去除嵌合体序列。菌群丰度分析运用 Mann-Whitney U 和 Kruskal-Wallis 检验,并用 Benjamini-Hochberg 算法校正。LEfSe 分析法通过将非参数统计检验(Kruskal-Wallis 多组检验和 Wilcoxon 秩和检验)与线性判别分析相结合。

1.5　统计学分析

年龄、性别、BMI 以 $\bar{x}\pm s$ 表示,数据处理和分析采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行。正态分布数据的组间比较采用 t 检验;非正态分布数据的组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。Pearson 法分析肠道菌群与疾病临床参数间的相关性。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　研究对象基本概况

病例组:共 16 名患者(男性 10 名、女性 6 名),年龄(49.1±16.5)岁,BMI (22.75±1.42) kg/m^2。健康人群对照组:共 19 例健康人群(男性 10 例、女性 9 例),年龄(45.7±13.1)岁,BMI(22.84±2.41) kg/m^2。两组性别、年龄、BMI 无统计学差异($P>0.05$),临床血清学指标有统计学差异($P<0.01$)。见表 1。

2.2　组间肠道菌群差异分析

2.2.1　多样性分析　　从 35 例样本中共获得 1 479 295 条高质量的近全长 16S rRNA 序列,平均每个样品 42 265 条,其中病例组共得到 42 424 条,对照组 42 131 条。以 99%的序列相似性聚类得到 3 980 OTUs,其中病例组 1 822 OTUs,对照组 2 158 OTUs。α 多样性反映样本内的物种多样性,采用 Chao1 丰度(估计真实物种数量)和 Shannon 指数(反映菌群多样性)表现,结果表明,病例组的 Chao1 与对照组比较可见明显减少趋势,但无统计学差异($P>0.05$,图 1A),同时比较两组 Shannon 指数(图 1B)未见统计学差异($P>0.05$)。β 多样性反映样本间的物种多样性差异,主坐标分析(principal coordinates analysis, PCoA)为常规可视化呈现方法。分析表明,病例组和对照组间个体肠道菌群组成群落分布明显分开,具有统计学差异($P<0.01$,图 1C、D)。

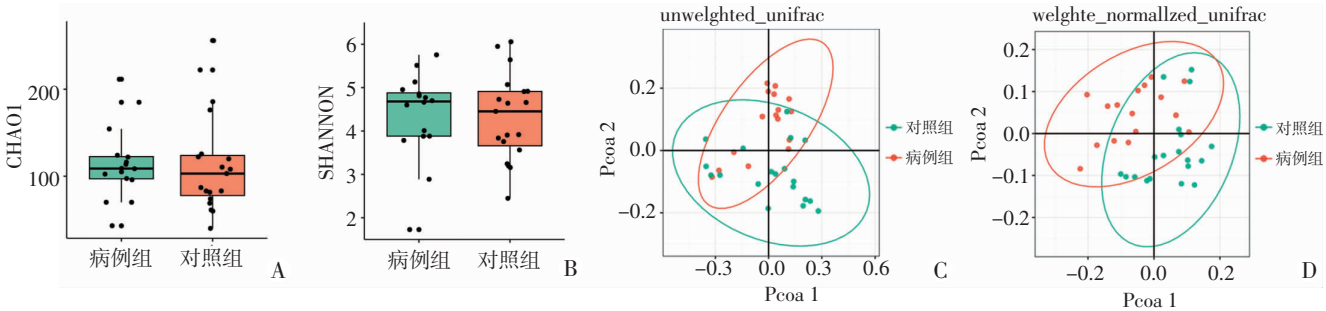
2.2.2　菌群结构分析　　在门水平上,病例组和对照组大部分肠道菌群属于 *Firmicutes*(厚壁菌门)、*Proteobacteria*(变形菌门)、*Bacteroidetes*(拟杆菌门)和 *Actinobacteria*(放线菌门)。病例组与对照组的平均丰度最高分别为 *Firmicutes* 53.6%、75.2%, *Proteobacteria* 21%、14%, *Bacteroidetes* 13%、4.5% 和 *Actinobacteria* 3.6%、5.3%。其中,*Firmicutes*($P<0.01$)和 *Bacteroidetes*($P<0.01$)在两组中差异有统计学意义(图 2A~C)。在相对丰度>1%的属水平上可注释到 19 种细菌属(图 2D)。病例组中 *Bacteroides*(拟杆菌属)、*Lachnoclostridium*、*Veillonella*(韦荣氏球菌属)显著高于对照组($P<0.01$),此外,*Roseburia*(罗斯氏菌属)、*Escherichia_shigella*(大肠埃希菌属-志贺氏菌属)在病例组中相对丰度高,与对照组比较具有统计学差异($P<0.05$)。*Blautia*(布劳特氏菌属,$P<0.01$)、*Ruminococcaceae_UCG_013*(瘤胃菌科_UCG_013 属)($P<0.01$)、*Ruminococcus_gnavus_group*(瘤胃球菌属_gnavus_group)和 *Erysipelatoclostridium* 在对照组中相对丰度升高,与病例组比较具有统计学差异($P<0.05$,图 2E~M)。

表 1　研究对象基线资料($\bar{x}\pm s$,例)

组别	n	男/女	年龄/岁	BMI/kg·m^{-2}	AST/U·L^{-1}	ALT/U·L^{-1}	ALP/g·L^{-1}
对照组	19	10/9	45.7±13.1	22.84±2.41	20.3±6.3	22.1±8.7	63.5±16.8
病例组	16	10/6	49.1±16.5	22.75±1.42	183.5±187.5[a]	224.0±194.2[a]	360.3±247.3[a]

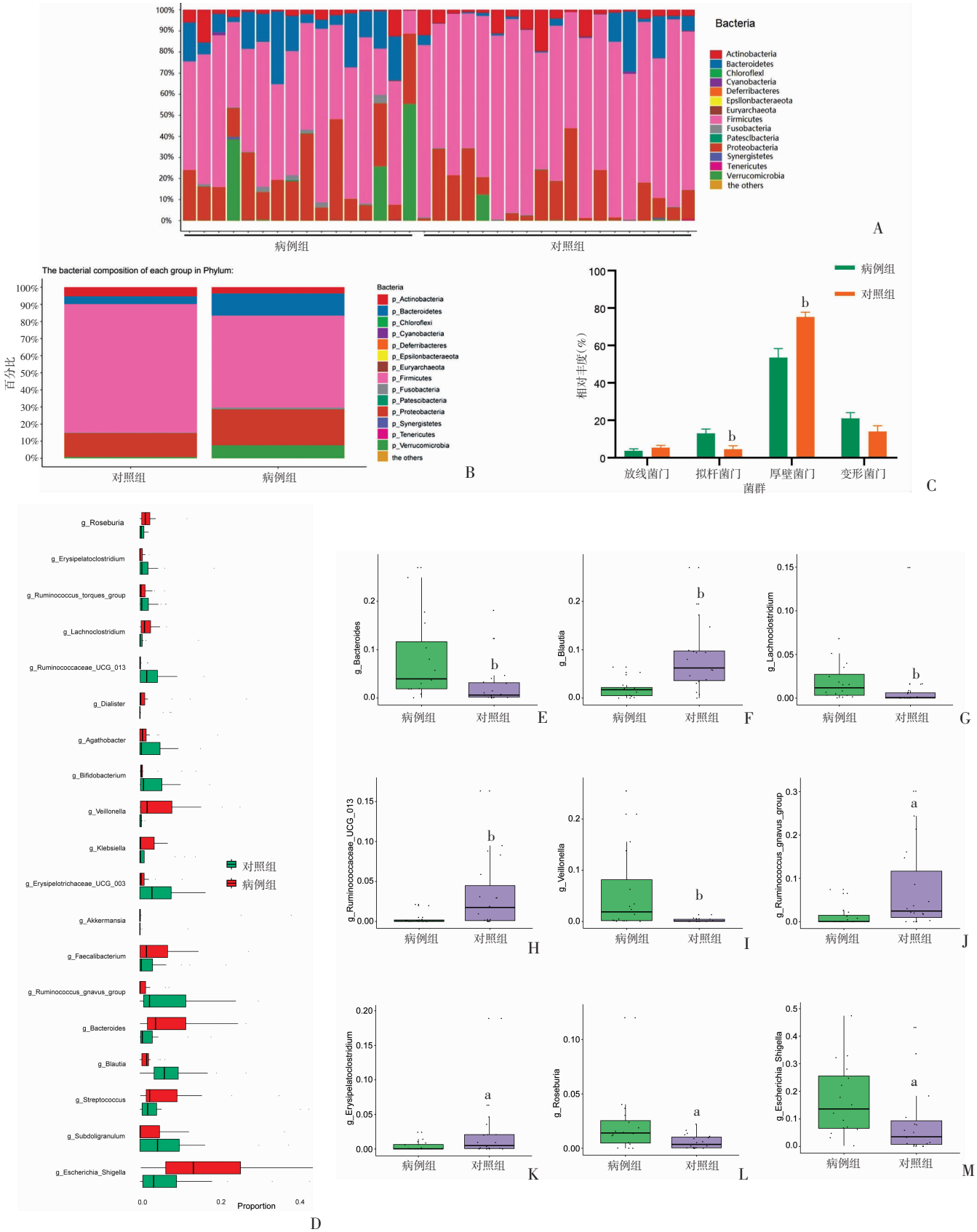
组别	GGT/U·L^{-1}	TB/μmol·L^{-1}	UCB/μmol·L^{-1}	CB/μmol·L^{-1}	TBA/μmol·L^{-1}
对照组	28.0±10.2	12.0±4.6	8.7±4.3	3.3±1.0	7.3±6.2
病例组	466.5±428.0[a]	232.0±100.3[a]	104.3±44.1[a]	127.6±63.6[a]	202.6±130.5[a]

a:$P<0.01$,与对照组比较



A:Chao1 丰度;B:Shannon 指数;C:unweighted-UniFrac 层级聚类($P<0.01$);D:weighted-nomornalised-unifrac 层级聚类($P<0.01$)

图 1　组间肠道菌群多样性



A:门水平物种注释条形图;B、C:门水平组成分析;D:属水平上显著差异属注释分布;E~M:单个显著差异属的相对丰度分析;a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与病例组比较

图 2 组间肠道菌群组成分析

2.3　肠道关键菌群 LEfSe 分析

为进一步观察两组间肠道菌群的差异,我们进行 LEfSe 分析筛选重要菌群生物标记。将病例组与对照组肠道菌群进行比较,结果显示(图 3A、B),二组间具有显著差异的物种数量分别有 11 种及 10 种。病例组的肠道关键菌群门水平上以 *Bacteroidetes*(拟杆菌门)为主,科水平主要集中于 *Veillonellaceae*(韦荣氏球菌科)、*Bacteroidaceae*(拟杆菌科)、*Prevotellaceae*(普雷沃氏菌科),属水平主要集中于 *Escherichia_Shigella*(大肠埃希菌属-志贺氏菌属)、*Veillonella*(韦荣氏球菌属)和 *Bacteroides*(拟杆菌属)。对照组的肠道关键菌群门水平上以 *Firmicutes*(厚壁菌门)为主,但科水平主要集中于 *Erysipelotrichaceae*(丹毒丝菌科)、*Lachnospiraceae*(毛螺菌科),属水平主要集中于 *Ruminococcaceae_UCG_013*(瘤胃菌科_UCG_013 属)、*Ruminococcus_gnavus_group*(瘤胃球菌属_gnavus_group)和 *Blautia*(布劳特氏菌属)。

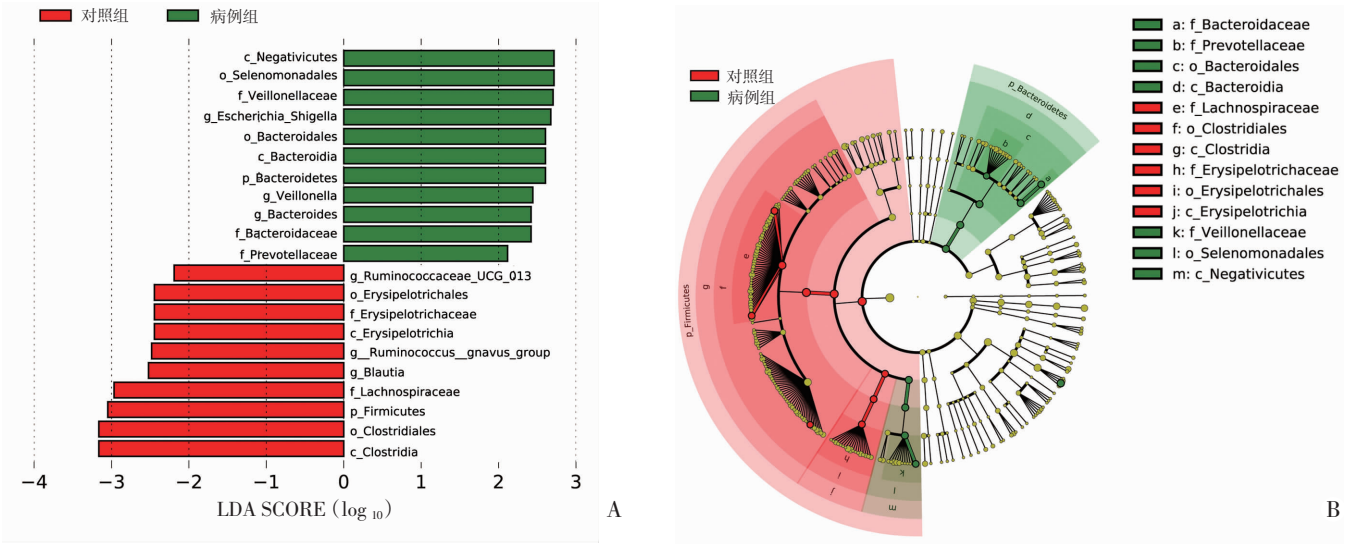
2.4　肠道菌群与临床参数间相关性分析

为探求属水平上显著差异菌属是否与临床血清学指标具有相关性,本文对胆汁淤积性肝病患者肠道菌群与临床血清学指标进一步完成了 Pearson 相关系数分析,结果如图 4 所示,*Lachnoclostridium* 与 ALP($P<0.01$)、GGT($P<0.05$)强相关。*Veillonella*(韦荣氏菌属)与 GGT 强相关($P<0.05$)。此外,结果显示,*Ruminococcus_gnavus_group* 和 *Erysipelotrichaceae_UCG_003* 与 *Bacteroides* 强相关($P<0.05$),*Bifidobacterium*(双歧杆菌)与 ALT 弱相关;*Roseburia* 与 *Ruminococcaceae_UCG_013*($P<0.05$)及 *Veillonella*(韦荣氏球菌属)($P<0.05$)强相关。*Faecalibacterium*(粪杆菌)与 *Agathobacter* 强相关($P<0.001$)。

3　讨论

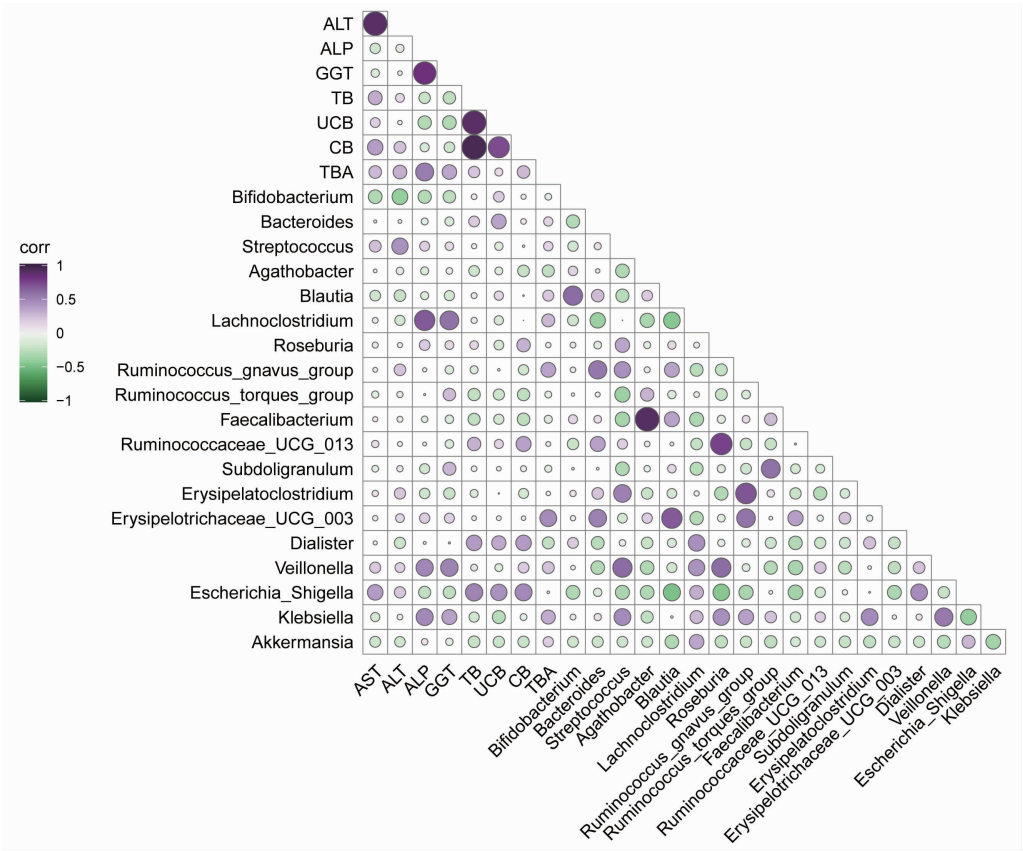
在人体中,胃肠道代表了一个庞大的微生物生态系统,容纳了百万亿个微生物细胞[6]。研究表明,肠道菌群在宿主中发挥着重要作用[7],如保护机体防止病原体过度生长[8]、影响宿主细胞的增殖[9]和血管化[10]、调节肠道内分泌功能[11]、参与神经系统信号传导[12]及影响骨密度[13]、为能量生成提供来源[14](占宿主每日能量需求量的 5%~10%)、参与维生素[15]和神经递质[12]的合成、代谢胆汁盐[16]、参与代谢及调节特定药物和消除外源性毒素[17]。因此,人体肠道中的菌群与宿主之间构成了一个庞大的有机网络[18]。

本研究中,我们采用 16s rRNA 高通量测序方法检测了胆汁淤积性肝病组和健康人群对照组的肠道菌群,共得到了 1 479 295 条序列,聚类成 3 980 OTUs,由 13 个门、80 个科、273 个属组成,组间 Chao1 和 Shannon 指数明显减少,无统计学差异($P>0.05$),β 多样性反映组间物种多样性有统计学差异($P<0.01$)。PcoA 分析显示,两组菌群大部分属于 *Firmicutes*(厚壁菌门)、*Bacteroidetes*(拟杆菌门)、*Proteobacteria*(变形



A:不同组间线性判别分析(LDA)效应量分布,X 轴表示 LDA SCORE (Log10),Y 轴表示显著差异菌属(LDA SCORE>2);B:两组中具有显著差异的分类进化枝弧形图,从内而外依次表现差异菌属从属关系,节点大小对应差异菌属的平均相对丰度,红色区域为对照组差异菌属分布区域,绿色区域为病例组差异菌属分布区域

图 3　肠道菌群 LEfSe 分析



紫色代表正相关,绿色代表负相关;圆圈大小表示相关性,圆圈越大代表相关性数值越高

图 4 肠道菌群与临床参数间的相关性

菌门)和 *Actinobacteria*(放线菌门),与健康人群对照组肠道菌群门水平结构相比,胆汁淤积性肝病组中 *Bacteroidetes*(厚壁菌门)、*Proteobacteria*(变形菌门)和 *Verrucomicrobia*(疣微菌门)的占比更大。研究显示,厚壁菌门/拟杆菌门的比值可作为评估人类肠道病理状况的潜在生物学指标[19],疾病状态下,厚壁菌门/拟杆菌门比值多为升高[20],但在最近的研究报道中,表明厚壁菌门/拟杆菌门比值高低与 ICU 中患者的并发症和存活率之间并无关联,当厚壁菌门和拟杆菌门的相对丰度都升高时,比值反而下降[21]。值得注意的是,*Lachnoclostridium* 在胆汁淤积性肝病组中明显富集,既往文献报道,在诊断大肠腺瘤的预测分析上,*Lachnoclostridium* 可作为非侵入性诊断标记物[22],本研究中 *Lachnoclostridium* 相对丰度相较于健康人群对照组为优势菌属,结合 Pearson 相关性分析结果,*Lachnoclostridium* 的高丰度表达与 ALP($P<0.01$)、GGT($P<0.05$)强相关。

LEfSe 分析表明,胆汁淤积性肝病组中 *Bacteroides*(拟杆菌属)、*Veillonella*、*Escherichia_shigella* 占绝对优势,健康人群组以 *Blautia*(布劳特氏菌属)、*Ruminococcus_gnavus_group* 及 *Ruminococcaceae_UCG*_013 为优势菌属。文献报道,*Ruminococcaceae*(厚壁菌门家族成员之一,专性厌氧菌)为正常肠道菌群组成之一[23-24],*Blautia* 具有益生菌作用,能在体内产生高浓度乙酸以加强肠上皮细胞紧密连接,阻止病原菌感染[25],并且在结肠癌[26]、肝硬化[27]中有改善预后作用,对造血干细胞移植术后患者发生移植物抗宿主导致相关的死亡也可起到保护作用[28]。除此之外,*Blautia* 还可参与短链脂肪酸(Short chain fatty acids,SCFA)合成,已知 SCFA 是强效抗炎物质,参与介导免疫反应诱导调节性 T 细胞形成,是宿主和结肠上皮的重要来源[29-30]。*Bacteroides* 的丰度升高可引发炎症效应,介导胰岛素抵抗、肥胖等疾病发展[31-33]。研究发现,*Veillonella* 在肺癌中丰度明显升高,*Megasphaera*(巨球型菌属)和 *Veillonella* 的结合在肺癌预测模型中具有高 AUC 值[34-35],与克罗恩病并发症[36]、以 TNF-α、IL-1β 降低及 CCL2、CCL17 升高为主的儿童哮喘也相关[37]。在 PSC 治疗中,熊去氧胆酸反应充分者在治疗后 *Veillonella* 丰度

减少,而反应欠佳的患者在熊去氧胆酸治疗期间 *Veillonella* 增加,我们的研究也表明 *Veillonella* 与 GGT 强相关($P<0.01$),这提示着 *Veillonella* 的相对高丰度或许可作为诊断胆汁淤积性肝病的潜在生物标记点,但具体机制还需进一步研究。因 *Escherichia_shigella* 和 *Klebsiella* 为临床常见条件性致病菌[38],自然在稳态失衡环境中明显升高,成为胆汁淤积性肝病的优势菌属之一,相关性分析表明,*Klebsiella* 和 *Veillonella* 强相关($P<0.05$),因此,抑制 *Veillonella* 的丰度表达或可成为治疗该疾病的潜在靶点。

当然,本研究也存在一定的局限性,未将治疗前后肠道菌群进行纵向比对,无法呈现疾病状态下肠道菌群动态改变特征。总体而言,本文分析了胆汁淤积性肝病患者与健康人群对照者的肠道菌群多样性及结构组成,并将肠道菌群差异菌属与胆汁淤积性肝病患者的临床血清学指标进行了相关性分析。综上,胆汁淤积性肝病患者与健康人群对照者相比,肠道菌群存在特征性改变,但具体机制还需进一步研究。因此在后续研究中,我们将专注动物模型研究等方法对此次结果加以验证,为临床诊疗提供新思路。

参考文献:

[1] 曹旬旬, 高月求, 张文宏, 等. 基于上海市住院慢性肝病患者胆汁淤积患病率的调查研究[J]. 中华肝脏病杂志, 2015, 23(08): 569-573.
CAO X X, GAO Y Q, ZHANG W H, *et al*. Cholestasis morbidity rate in first-hospitalized patients with chronic liver disease in Shanghai[J]. Chin J Hepato, 2015, 23(8): 569-573. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2015.08.003.

[2] PFLUGHOEFT K J, VERSALOVIC J. Human microbiome in health and disease[J]. Annu Rev Pathol Mech Dis, 2012, 7(1): 99-122. DOI: 10.1146/annurev-pathol-011811-132421.

[3] QIN J J, LI R Q, RAES J, *et al*. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing[J]. Nature, 2010, 464(7285): 59-65. DOI: 10.1038/nature08821.

[4] VELMURUGAN G, DINAKARAN V, RAJENDHRAN J, *et al*. Blood microbiota and circulating microbial metabolites in diabetes and cardiovascular disease[J]. Trends Endocrinol Metab, 2020. DOI: 10.1016/j.tem.2020.01.013.

[5] KUMMEN M, HOV J R. The gut microbial influence on cholestatic liver disease[J]. Liver Int, 2019, 39(7): 1186-1196. DOI: 10.1111/liv.14153.

[6] LYNCH S V, PEDERSEN O. The human intestinal microbiome in health and disease[J]. N Engl J Med, 2016, 375(24): 2369-2379. DOI: 10.1056/NEJMra1600266.

[7] FULDE M, HORNEF M W. Maturation of the enteric mucosal innate immune system during the postnatal period[J]. Immunol Rev, 2014, 260(1): 21-34. DOI: 10.1111/imr.12190.

[8] KAMADA N, CHEN G Y, INOHARA N, *et al*. Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota[J]. Nat Immunol, 2013, 14(7): 685-690. DOI: 10.1038/ni.2608.

[9] IJSSENNAGGER N, BELZER C, HOOIVELD G J, *et al*. Gut microbiota facilitates dietary heme-induced epithelial hyperproliferation by opening the mucus barrier in colon[J]. Proc Natl Acad Sci, 2015, 112(32): 10038-10043. DOI: 10.1073/pnas.1507645112.

[10] REINHARDT C, BERGENTALL M, GREINER T U, *et al*. Tissue factor and PAR1 promote microbiota-induced intestinal vascular remodelling[J]. Nature, 2012, 483(7391): 627-631. DOI: 10.1038/nature10893.

[11] NEUMAN H, DEBELIUS J W, KNIGHT R, *et al*. Microbial endocrinology: the interplay between the microbiota and the endocrine system[J]. FEMS Microbiol Rev, 2015, 39(4): 509-521. DOI: 10.1093/femsre/fuu010.

[12] YANO J M, YU K, DONALDSON G P, *et al*. Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis[J]. Cell, 2015, 161(2): 264-276. DOI: 10.1016/j.cell.2015.02.047.

[13] CHO I, YAMANISHI S, COX L, *et al*. Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity[J]. Nature, 2012, 488(7413): 621-626. DOI: 10.1038/nature11400.

[14] CANFORA E E, JOCKEN J W, BLAAK E E. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity[J]. Nat Rev Endocrinol, 2015, 11(10): 577-591. DOI: 10.1038/nrendo.2015.128.

[15] YATSUNENKO T, REY F E, MANARY M J, *et al*. Human gut microbiome viewed across age and geography[J]. Nature, 2012, 486(7402): 222-227. DOI: 10.1038/nature11053.

[16] DEVLIN A S, FISCHBACH M A. A biosynthetic pathway for a prominent class of microbiota-derived bile acids[J]. Nat Chem Biol, 2015, 11(9): 685-690. DOI: 10.1038/nchembio.1864.

[17] HAISER H J, GOOTENBERG D B, CHATMAN K, *et al*. Predicting and manipulating cardiac drug inactivation by the human gut bacterium Eggerthella lenta[J]. Science, 2013, 341(6143): 295-298. DOI: 10.1126/science.1235872.

[18] GUO Y J, YANG X F, QI Y E, *et al*. Long-term use of ceftriaxone sodium induced changes in gut microbiota and immune system[J]. Sci Rep, 2017, 7: 43035. DOI: 10.

1038/srep43035.

[19] LEY R E, TURNBAUGH P J, KLEIN S, *et al*. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity[J]. Nature, 2006, 444(7122): 1022-1023. DOI: 10.1038/4441022a.

[20] COSORICH I, DALLA-COSTA G, SORINI C, *et al*. High frequency of intestinal TH17 cells correlates with microbiota alterations and disease activity in multiple sclerosis[J]. Sci Adv, 2017, 3(7): e1700492. DOI: 10.1126/sciadv.1700492.

[21] LANKELMA J M, VUGHT L A, BELZER C, *et al*. Critically ill patients demonstrate large interpersonal variation in intestinal microbiota dysregulation: a pilot study[J]. Intens Care Med, 2017, 43(1): 59-68. DOI: 10.1007/s00134-016-4613-z.

[22] LIANG J Q, LI T, NAKATSU G, *et al*. A novel faecal Lachnoclostridium marker for the non-invasive diagnosis of colorectal adenoma and cancer[J]. Gut, 2020, 69(7): 1248-1257. DOI: 10.1136/gutjnl-2019-318532.

[23] NAVA G M, FRIEDRICHSEN H J, STAPPENBECK T S. Spatial organization of intestinal microbiota in the mouse ascending colon[J]. ISME J, 2011, 5(4): 627-638. DOI: 10.1038/ismej.2010.161.

[24] SHOGAN B D, SMITH D P, CHRISTLEY S, *et al*. Intestinal anastomotic injury alters spatially defined microbiome composition and function[J]. Microbiome, 2014, 2(1): 1-10. DOI: 10.1186/2049-2618-2-35.

[25] FUKUDA S, TOH H, HASE K, *et al*. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate[J]. Nature, 2011, 469(7331): 543-547. DOI: 10.1038/nature09646.

[26] CHEN W G, LIU F L, LING Z X, *et al*. Human intestinal lumen and mucosa-associated microbiota in patients with colorectal cancer[J]. PLoS ONE, 2012, 7(6): e39743. DOI: 10.1371/journal.pone.0039743.

[27] BAJAJ J S, HYLEMON P B, RIDLON J M, *et al*. Colonic mucosal microbiome differs from stool microbiome in cirrhosis and hepatic encephalopathy and is linked to cognition and inflammation[J]. Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol, 2012, 303(6): G675-G685. DOI: 10.1152/ajpgi.00152.2012.

[28] JENQ R R, TAUR Y, DEVLIN S M, *et al*. Intestinal Blautia is associated with reduced death from graft-versus-host disease[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2015, 21(8): 1373-1383. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.04.016.

[29] ZHANG J C, GUO Z, XUE Z S, *et al*. A Phylo-functional core of gut microbiota in healthy young Chinese cohorts across lifestyles, geography and ethnicities[J]. ISME J, 2015, 9(9): 1979-1990. DOI: 10.1038/ismej.2015.11.

[30] ROOKS M G, GARRETT W S. Gut microbiota, metabolites and host immunity[J]. Nat Rev Immunol, 2016, 16(6): 341-352. DOI: 10.1038/nri.2016.42.

[31] GRASSET E, PUEL A, CHARPENTIER J, *et al*. A specific gut microbiota dysbiosis of type 2 diabetic mice induces GLP-1 resistance through an enteric NO-dependent and gut-brain axis mechanism[J]. Cell Metab, 2017, 25(5): 1075-1090.e5. DOI: 10.1016/j.cmet.2017.04.013.

[32] FARIA GHETTI F, OLIVEIRA D G, OLIVEIRA J M, *et al*. Influence of gut microbiota on the development and progression of nonalcoholic steatohepatitis[J]. Eur J Nutr, 2018, 57(3): 861-876. DOI: 10.1007/s00394-017-1524-x.

[33] LIEBER A D, BEIER U H, XIAO H Y, *et al*. Loss of HDAC6 alters gut microbiota and worsens obesity[J]. FASEB J, 2019, 33(1): 1098-1109. DOI: 10.1096/fj.201701586R.

[34] YAN X M, YANG M X, LIU J, *et al*. Discovery and validation of potential bacterial biomarkers for lung cancer[J]. Am J Cancer Res, 2015, 5(10): 3111-3122.

[35] LEE S, SUNG J Y, YONG D, *et al*. Characterization of microbiome in bronchoalveolar lavage fluid of patients with lung cancer comparing with benign mass like lesions[J]. Lung Cancer, 2016, 102: 89-95. DOI: 10.1016/j.lungcan.2016.10.016.

[36] KUGATHASAN S, DENSON L A, WALTERS T D, *et al*. Prediction of complicated disease course for children newly diagnosed with Crohn's disease: a multicentre inception cohort study[J]. Lancet, 2017, 389(10080): 1710-1718. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)30317-3.

[37] THORSEN J, RASMUSSEN M A, WAAGE J, *et al*. Infant airway microbiota and topical immune perturbations in the origins of childhood asthma[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 5001. DOI: 10.1038/s41467-019-12989-7.

[38] SHEN F, ZHENG R D, SUN X Q, *et al*. Gut microbiota dysbiosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2017, 16(4): 375-381. DOI: 10.1016/S1499-3872(17)60019-5.

(收稿:2020-05-26;修回:2020-08-22)

(编辑 邓强庭)