DOI:10.16016/j.2097-0927.202309007

16S 核糖体 RNA 基因测序评估高原红细胞增多症患者血液菌群特征

黄 沛[1],黄 河[2],谢慎威[3],吴 玉[1],钟志凤[1],董华平[1],周思敏[1],李 鹏[1],谢佳新[1] 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)高原军事医学系高原作业医学教研室[1];730000 兰州,联勤保障部队第九四〇医院神经内科[2];857000 西藏 日喀则,陆军第九五三医院健康管理科[3]

[摘要] **目的** 探讨高原红细胞增多症(high altitude polycythemia,HAPC)患者血液菌群变化特征及其与 HAPC 发病风险的相关性。**方法** 采用横断面研究设计方案,以 2021 年在西藏日喀则陆军第九五三医院健康管理科参加体检的 41 名 HAPC 患者(HAPC 组)和 41 名高原健康人员(对照组)为研究对象。通过高通量测序技术对血液细菌 16 S 核糖体 RNA(16S rRNA)基因的 V3-V4 可变区进行检测,比较分析 HAPC 组和对照组血液菌群组成情况和差异。**结果** 2 组人员均为汉族男性,年龄、体质量指数及高原移居时间等基线数据比较差异无统计学意义($P>0.05$)。菌群多样性分析显示,HAPC 组中反映血液菌群 α-多样性的 Simpson 指数[(0.931±0.005)*vs*(0.907±0.008),$P<0.05$]、Goods Coverage 指数[(0.998±0.001)*vs*(0.997±0.001),$P<0.001$)]和 Pielou 指数[(0.597±0.011)*vs*(0.567±0.009),$P<0.05$)]显著高于对照组。2 组间 β 多样性差异有统计学意义($P<0.01$)。菌群相对丰度分析显示,HAPC 组血液嗜糖假单胞菌属(*Pelomonas*)[(0.046±0.004)*vs*(0.033±0.003),$P<0.05$)]、固氮螺菌属(*Azospirillum*)[(0.046±0.006)*vs*(0.021±0.003),$P<0.01$)]、食酸菌属(*Acidovorax*)[(0.032±0.003)*vs*(0.019±0.002),$P<0.05$)]的相对丰度均显著高于对照组。特征性细菌 LEfSe 分析显示,HAPC 组标志菌群是 α-变形菌纲,对照组标志菌群是毛螺菌科。**结论** HAPC 患者较高原健康人群的血液菌群在多样性、相对丰度及特征性菌类方面发生显著变化,这类变化可能与 HAPC 的发生发展密切关联。

[关键词] 高原红细胞增多症;血液菌群;移居者
[中图法分类号] R195.4;R446.119;R555.1 [文献标志码] A

Characteristics of blood microbiota in high altitude polycythemia patients by 16S rRNA gene sequencing

HUANG Pei[1], HUANG He[2], XIE Shenwei[3], WU Yu[1], ZHONG Zhifeng[1], DONG Huaping[1], ZHOU Simin[1], LI Peng[1], XIE Jiaxin[1] [1]Department of High Altitude Operational Medicine, Faculty of High Altitude Military Medicine, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038; [2]Department of Neurology, No. 940 Hospital of Joint Logistics Support Force of PLA, Lanzhou, Gansu Province, 730000; [3]Department of Health Management, No. 953 Hospital of PLA Army, Shigatse, Xizang Autonomous Region, 857000, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the changes in blood microbiota in patients with high altitude polycythemia (HAPC) and the correlation with the risk of HAPC. **Methods** A cross-sectional trial was carried out among 41 HAPC patients (HAPC group) and 41 healthy plateau individuals (control group) who took physical examination in the Health Management Department of No. 953 Hospital of PLA Army in 2021. High-throughput sequencing technology was used to detect the V3-V4 variable region of the 16S ribosomal

[基金项目] 甘肃省自然科学基金(22JR11RA008);第九四〇医院院内课题(2022yxky005);甘肃省卫生健康行业科研项目(GSWSKY2022-47)
[通信作者] 谢佳新,E-mail:xiejiaxin1006@163.com
李 鹏,E-mail:lipengtmmu@163.com

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

RNA (16S rRNA) gene in the blood smaples, and the composition and difference of the blood microbiota were compared and analyzed between the 2 groups. **Results** All the participants were male and Han people, and there were no significant differences in baseline data such as age, body mass index and plateau migration time between the 2 groups ($P>0.05$). The α-diversity of blood microbiota in the HAPC group, including the Simpson index (0.931±0.005 *vs* 0.907±0.008, $P<0.05$), Goods Coverage index (0.998±0.001 *vs* 0.997±0.001, $P<0.001$) and Pielou index (0.597±0.011 *vs* 0.567±0.009, $P<0.05$) were significantly higher than those in the control group. Meanwhile, obvious difference was observed in the β diversity between the 2 groups ($P<0.01$). The relative abundance analysis of bacteria showed that *Pelomonas* (0.046±0.004 *vs* 0.033±0.003, $P<0.05$), *Azospirillum* (0.046±0.006 *vs* 0.021±0.003, $P<0.01$), *Acidovorax* (0.032±0.003 *vs* 0.019±0.002, *Azospirillum* (0.046±0.006 *vs* 0.021±0.003, $P<0.01$) and *Acidovorax* (0.032±0.003 *vs* 0.019±0.002, $P<0.05$) were statistically higher in the HAPC group than the control group. LEfSe analysis showed that the characteristic blood microbiota of the HAPC group were α-*Proteobacteria*, and those of control group were *Trichospiridae*. **Conclusion** Significant changes are found in diversity, relative abundance and characteristic bacteria of the blood microbiota between the HAPC patients and healthy people at the high altitude, which might be closely associated with the occurrence and development of HAPC.

[**Key words**] high altitude polycythemia; blood microbiota; immigrants

Supported by the Natural Science Foundation of Gansu Province (22JR11RA008), the Research Project of No. 940 Hospital of Joint Logistics Support Force of PLA (2022yxky005), and the Scientific Research Project of Healthcare Industry of Gansu Province (GSWSKY2022-47). Corresponding authors: XIE Jiaxin, E-mail: xiejiaxin1006@163.com; LI Peng, E-mail: lipengtmmu@163.com

高原红细胞增多症(high altitude polycythemia, HAPC)是由高原低氧导致红细胞代偿性过度增生而引发的一种慢性高原病。红细胞过多可导致血液粘稠度增加、微循环障碍、血栓形成等,从而导致消化道、肾、肺、心血管等多脏器功能损害和并发症。HAPC 在我国青藏高原地区的发病率为 5.0%~18.0%[1],其中移居汉族人群远高于世居藏族人群[2]。HAPC 病因与发病机制复杂,可能涉及造血因子与炎症因子表达异常、血管内皮细胞损伤和功能紊乱、细胞凋亡/增殖失衡、Ras-Raf-MEK-ERK 异常活化等[3-5]。探究 HAPC 的发病规律与影响因素,筛选相关生物标志物,对我国高原移居人群 HAPC 防治具有重要意义。

健康人的血液被认为是“无菌”环境,然而在一些非传染性疾病中存在血液菌群[6]。通过测序和超显微镜发现,肠道菌群可能由于肠道通透性增加而转移到血液中。肠道菌群能够调节宿主免疫反应、炎症、代谢营养物质和胆汁酸等[7],而氧是调节肠道菌群组成和功能的关键因素[8]。在低氧环境下,肠道菌群的组成发生显著变化,其产物和代谢物与宿主相互作用,导致肠道黏膜屏障功能紊乱[9-10]。肠道致病菌通过产生脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)和促炎细胞因子,如白细胞介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)、IL-6 和肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)等,诱导肠道和体循环炎症[11]。HAPC 患者血液中抑炎细胞因子 IL-10 和 IL-22 降低,促进缺氧时铁的动员,而一定程度的铁含量增加可促进缺氧小鼠骨髓红细胞和外周血红细胞生成[12]。肠道共生菌群产生的短链脂肪酸可促进 1 型辅助性 T 细胞(type 1 T helper, Th1)、调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)、固有淋巴细胞(innate lymphoid cells, ILCs)等分泌抑炎细胞因子 IL-10 和 IL-22,对维持肠道稳态和预防炎症具有重要作用[13-16]。

尽管多项研究表明,肠道菌群或肠道细菌产物可能与 HAPC 的发生、发展密切相关,但 HAPC 患者血液菌群的改变尚不清楚。因此,本研究利用高原移居汉族人群中 HAPC 患者和健康人群的血液样本,通过 16S rRNA 基因高通量测序检测血液菌群,并比较其组成和特定细菌的相对丰度及其差异。

1 资料与方法

1.1 研究对象

采用横断面研究设计方案[17],以 2021 年在西藏日喀则陆军第九五三医院健康管理科参加体检的高原移居人员(平均海拔 4 000 m)为研究对象,包括 HAPC 患者(HAPC 组)和高原健康人群(对照组)。HAPC 诊断依据 2004 年第六届青海国际高原医学和低氧生理学术大会提出 HAPC 国际诊断标准(青海标准)[18]执行,即男性血红蛋白≥210 g/L,女性血红蛋白≥190 g/L。排除标准:排除其他疾病引起的红细胞增多,如真性红

细胞增多症,慢性阻塞性肺病、支气管炎、支气管扩张、肺心病、肺间质纤维化等肺部疾患,慢性呼吸功能紊乱、睡眠呼吸暂停综合征和其他系统慢性病变引起的继发性红细胞增多症。以性别、年龄、移居地海拔、高原移居时间等因素匹配的高原健康移居者(无 HAPC)为对照。根据上述标准,共纳入 92 例研究对象(HAPC 组和对照组各 46 名)。根据排除标准排除 7 名研究对象(HAPC 组 4 名、对照组 3 名)。对原始下机数据根据序列质量进行初步筛查,对问题样本进行重测、补测后,剔除 1 例 HAPC 患者和 2 例对照测序结果,最终纳入序列分析的研究对象共 82 名(HAPC 组 41 名,对照组 41 名)。本研究获得联勤保障部队第九四〇医院伦理委员会批准(2021KY22194),所有研究对象签署知情同意书。

1.2 样品收集和 DNA 提取

采集研究对象空腹静脉血,血液样本静置后 600×*g* 离心 10 min,将血清转移到 1.5 mL 无菌离心管中,分装后-80 ℃保存备用。样本处理和 DNA 提取均在层流空气实验台上进行,使用前用紫外线灯照射实验台,以避免 DNA 受到污染。采用 OMEGA Soil DNA Kit(Omega Bio-Tek,D5635-02)试剂盒并按照说明书的步骤提取 DNA。用 ddH_2O 重悬 DNA,利用 Nanodrop(Thermo Scientific,NC2000)检测 DNA 浓度。将提取的 DNA 进行 0.8% 琼脂糖凝胶电泳,分装后置于-80 ℃保存。

1.3 16S rRNA 基因扩增

采用 Q5 DNA 高保真聚合酶(Q5® High-Fidelity DNAPolymerase,NEB,M0491L)将编码细菌 16S rRNA V3-V4 可变区的基因片段进行 PCR 扩增,引物序列为:正向引物 5′-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3′;反向引物 5′-CGG-ACTACHVGGGTWTCTAAT-3′。扩增产物进行 2%琼脂糖凝胶电泳,切取目的片段然后用 Axygen 凝胶回收试剂盒回收目的片段。利用 PicoGreen dsDNA 定量分析试剂盒(Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit)和 Microplate reader(BioTek,FLx800)对 PCR 扩增产物进行定量检测,然后按照每个样品所需的数据量进行混样。

1.4 文库构建和测序

利用 TruSeq Nano DNA 文库构建试剂盒(TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit 货号)进行建库。利用安捷伦高灵敏度 DNA 试剂盒(Agilent High Sensitivity DNA Kit 货号)和安捷伦生物分析仪(Agilent Bioanalyzer 型号)对文库进行质检。随后使用 PicoGreen dsDNA 定量分析试剂盒(Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit 货号)和 Promega QuantiFluor 仪器(型号)对文库进行定量检测。

1.5 16S rRNA 基因序列分析

采用 QIIME2 和 Mothur1.31.2 软件进行高通量测序数据的生物信息学分析。原始序列数据使用 DADA2 插件进行质量过滤、去噪、拼接和嵌合体去除等数据处理。对上述获得的序列按 100%的序列相似度进行归并,生成特征性序列扩增子序列变异体(amplicon sequence variants,ASV)以及丰度数据表格。通过 Greengenes 数据库将 ASV 特征序列与数据库中的参考序列相比对,获取每个 ASV 所对应的分类学信息。将丰度值低于全体样本测序总量 0.001%的 ASV 去除,用于后续分析。

1.6 统计学分析

使用 QIIME2 软件获取各样本在不同水平上的组成和丰度表,并通过柱状图呈现分析结果。使用 QIIME2 软件分别对每个样本计算 Simpson 指数、Shannon 指数、Goods Coverage 指数和 Pielou 指数,并绘制箱线图。通过 R 软件和 QIIME2 软件,分别采用 Braycurtis、Jaccard 和 Unweighted-unifrac 距离算法进行 β 多样性分析以检测样本间的微生物群落结构变化,并通过主坐标分析(principal coordinates analysis,PCoA)的方法进行可视化。采用线性判别分析效应(linear discriminant analysis effect size,LEfSe)检测组间差异丰富的分类单元,并选取 LDA 分数>3 的菌群绘制柱状图。使用 QIIME2 软件,将 LEfSe 分析得到的差异物种根据分类等级(从内圈到外圈分别为界门纲目科属)绘制进化分支图。采用双侧检验,$P<0.05$ 被认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象一般特征

2 组纳入研究对象居住地海拔为 4 000 m,具体人口学资料见表 1。基础生命体征和血常规指标分析结果显示:与对照组相较,HAPC 组动脉血氧饱和度显著降低[(82.37±3.03)% *vs* (86.83±2.79)%,$P<0.001$],红细胞数量显著增加[(6.66±0.59) 10^{12}/L *vs* (5.53±0.58) 10^{12}/L,$P<0.001$],血红蛋白水平显著增高[(219.15±11.02) g/L *vs* (166.85±9.41) g/L,$P<0.001$],红细胞压积显著增大[(58.38±4.99)% *vs* (46.78±2.38)%,$P<0.001$],见表 1。

表 1 高原红细胞增多症患者及高原健康人群的临床数据分析

[例(%),$\bar{x}\pm s$]

指标	HAPC 组(n=41)	对照组(n=41)	P
性别			
男	41	41	
女	0	0	
年龄/岁	24.02±1.63	23.70±1.78	0.411
BMI/(kg/m^2)	22.47±1.29	22.68±1.27	0.471
移居高原时间/年	3.73±0.08	3.82±0.09	0.450
吸烟史			
有	21(51.21)	19(46.34)	0.659
无	20(48.79)	22(53.66)	
饮酒史			
有	11(26.83)	13(31.70)	0.627
无	30(73.17)	28(68.30)	
动脉血氧饱和度/%	82.37±3.03	86.83±2.79	<0.001
心率/(次/min)	79.66±9.42	77.73±11.01	0.403
收缩压/mmHg	117.54±9.97	120±11.41	0.307
舒张压/mmHg	80.71±8.98	82.78±9.62	0.332
红细胞数量/(10^{12}/L)	6.66±0.59	5.53±0.58	<0.001
血红蛋白/(g/L)	219.15±11.02	166.85±9.41	<0.001
红细胞压积/%	58.38±4.99	46.78±2.38	<0.001

2.2 测序数据汇总

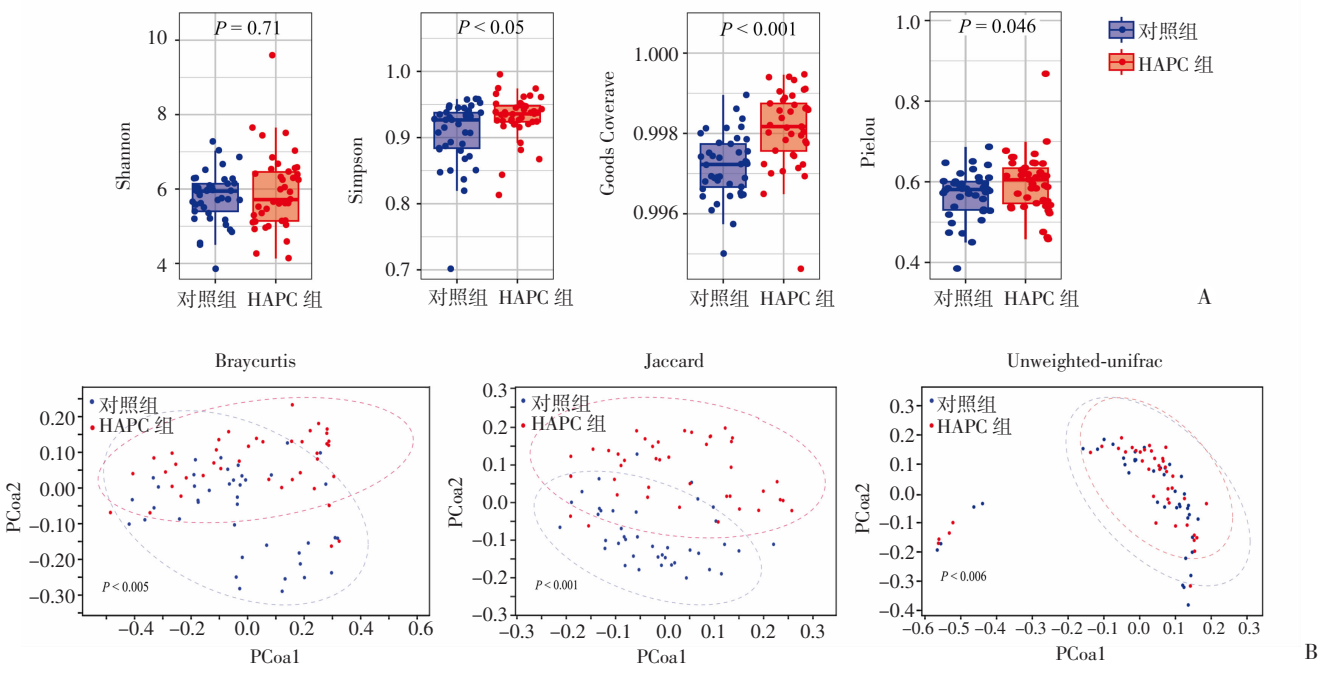
从 82 名 HAPC 患者与高原移居健康人群中获得的原始序列总数为 9 850 261。经过筛选后,共获得 8 811 044 个高质量序列(表 2)。共检测到 48 996 个 ASVs,其中对照组 24 505 个,HAPC 组 24 491 个,包括 31 个门、251 个属。

2.3 血液菌群多样性的变化

通过高通量 16S rRNA 基因测序分析血液菌群 DNA 的分类多样性。为研究样品内多样性(α-多样性)变化,采用 Shannon 和 Simpson 指数反映菌群多样性,Goods Coverage 指数反映菌群的覆盖度,Pielou 指数反映菌群均匀度。与对照组相比,HAPC 组 Simpson 指数(P<0.05)、Goods Coverage 指数(P<0.001)和 Pielou 指数显著增加(P<0.05),Shannon 指数没有显著差异(P=0.71),见图 1A,表明 HAPC 组血液菌群多样性、覆盖度和均匀度显著增加。使用 Braycurtis、Jaccard 和 Unweighted-unifrac 距离算法生成 PCoA 来反应菌群的 β 多样性,结果显示 HAPC 组和对照组 ASV 聚类显著分离(P<0.01,图 1B)。

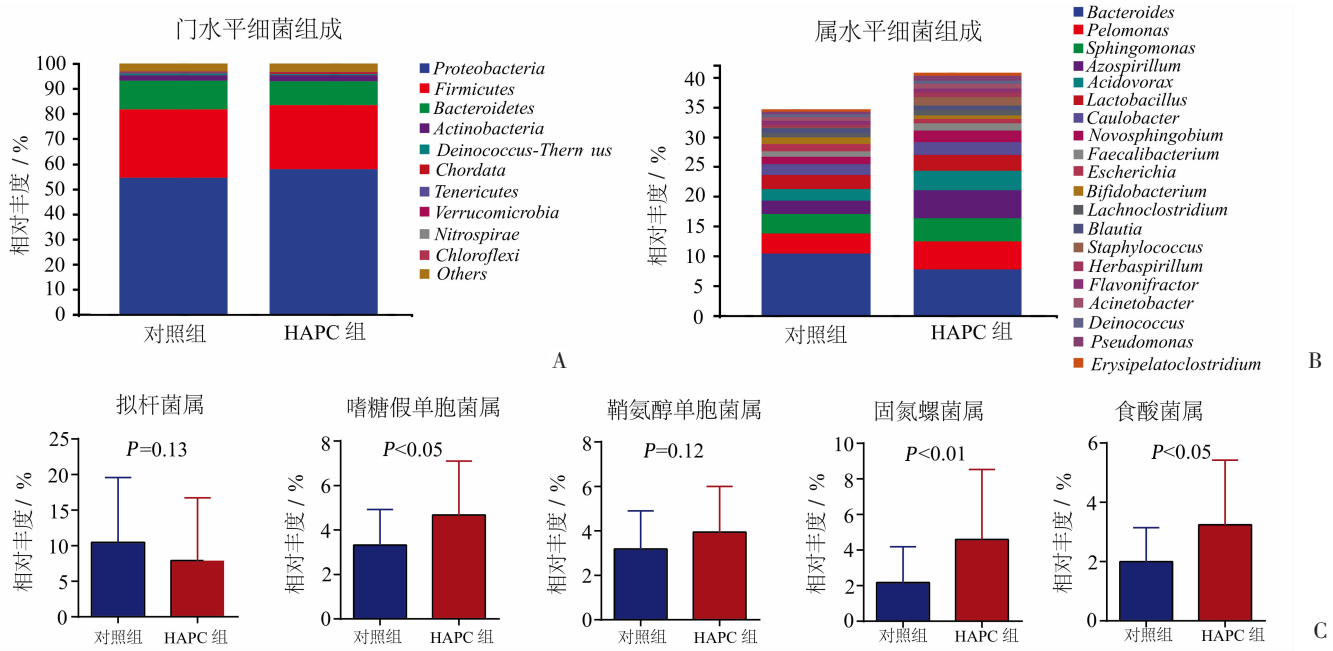
表 2 高原红细胞增多症患者及高原健康人群血液菌群测序数据特征分析

分组	原始序列	降噪序列	ASV 数量	各水平菌群分类单元数					
				门	纲	目	科	属	种
对照组	4 741 702	4 134 126	24 505	16	31	63	107	130	57
HAPC 组	5 108 559	4 576 918	24 491	15	29	58	98	121	56
总计	9 850 261	8 811 044	48 996	31	60	121	205	251	113



A:血液菌群 Simpson、Shannon、Goods Coverage 和 Pielou 指数表示 α 多样性;B:从左到右分别为血液菌群 Braycurtis、Jaccard 以及 Unweighted-unifrac 距离算法生成 PCoA 表示 β 多样性

图 1 高原红细胞增多症患者与高原健康人群血液菌群多样性分析



A:血液菌群丰度前 10 的门;B:血液菌群丰度前 20 的属;C:单个菌群的相对丰度

图 2 高原红细胞增多症患者和高原健康人群血液菌群组成分析

2.4 血液菌群组成分析

HAPC 患者和健康对照人群血液菌群主要由 4 个门组成,2 组在门水平的细菌相对丰度无显著差异(图 2A)。其中,变形杆菌门(*Proteobacteria*)相对丰度最大,HAPC 与对照组中比例分别 58%、54.5%,另外 3 个常见门为厚壁菌门(*Firmicutes*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、放线菌门(*Actinobacteria*),平均相对丰度分别为 26.35%、10.46%、2.39%。丰度最高的 20 个属分析显示:2 组丰度均较高且无差异的属有拟杆菌属(*Bacteroides*)和鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*);HAPC 组丰度较高,与对照组有显著差异的属有嗜糖假单胞菌属(*Pelomonas*)($P<0.05$)、固氮螺菌属(*Azospirillum*)($P<0.01$)和食酸菌属(*Acidovorax*)($P<0.05$),见图 2B、C。

2.5 基于 LEfSe 分析的特征性细菌

为探究 HAPC 组和对照组血液中的差异菌群,本研究通过 LEfSe 分析筛选出 LDA 评分>3 的菌群作为差异有统计学意义的标志菌群。结果表明(图 3):对照组显著上调的物种数量有 5 种,主要有毛螺菌科(*Lachnospiraceae*)、梭菌科(*Clostridiaceae*)、类芽胞杆菌科(*Paenibacillaceae*)和布劳特氏菌属(*Blautia*)等。HAPC 组显著上调的物种数量有 18 种,在纲水平主要有 α-变形菌纲(*Alphaproteobacteria*);在目水平上主要有红螺菌目(*Rhodospirillales*);在科水平上主要有红螺菌科(*Rhodospirillaceae*)和丛毛单胞菌科(*Comamonadaceae*);在属水平上主要有固氮螺菌属(*Azospirillum*)等。

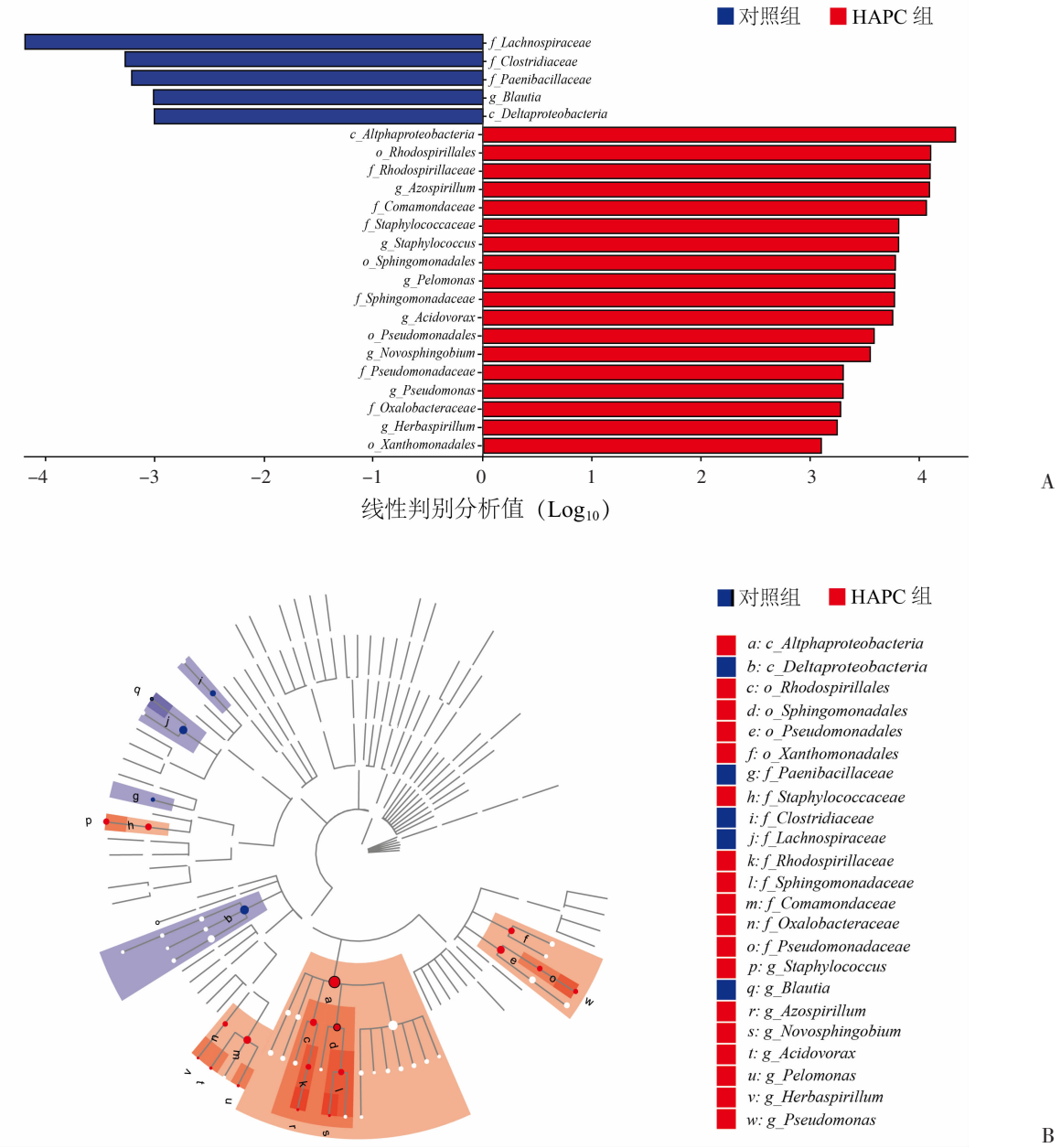
3 讨论

3.1 高原红细胞增多症患者与高原健康人群血液菌群组成存在显著差异

近年来,大量研究表明血液中含有致病微生物,与多种疾病的发病密切相关[19]。本研究旨在阐明高原低氧环境下,人体血液菌群多样性特征及与 HAPC 发病的关系。研究结果显示,HAPC 患者与高原健康对照组人群血液中均存在多种菌群,主要有变形菌门、厚壁菌门、拟杆菌门、放线菌门,与先前的研究结果相似。法国一项研究表明,健康人群外周血中含有的细菌 DNA 主要来自变形菌门(80.4%~87.4%)、放线菌门(6.7%~10.0%)、厚壁菌门(3.0%~6.4%)和拟杆菌门(2.5%~3.4%)[20]。数据表明,HAPC 患者和高原健康人群的主要菌群组成在门水平上没有显著差异,但高原低氧导致人体血液厚壁菌门的相对丰度显著增加,而变形菌门和拟杆菌门的比例远低于平原健康人群。

3.2 血液差异菌群可能通过调节短链脂肪酸生成、炎症反应及铁代谢等途径参与高原红细胞增多症

研究发现,菌群的 β 多样性有显著差异,表明高原 HAPC 患者和高原健康人群的血液菌群整体构成不同。LEfSe分析表明,对照组人群的差异菌群主要



A:2 组不同丰度水平计算的 LDA 评分直方图(仅显示 LDA 评分> 3 的菌群);B: 2 组显著差异菌群的进化分支图

图 3　高原红细胞增多症患者和高原健康人群血液菌群的 LEfSe 分析

有毛螺菌科和布劳特氏菌属等。慢性低氧诱导的肺动脉高压小鼠中,肠道毛螺菌科显著减少[21],与本研究结果一致。毛螺菌科属于厚壁菌门,从出生开始就定植在肠道内,是肠道的核心菌群,并且毛螺菌科是机体短链脂肪酸的主要来源[22]。进化分支图显示,布劳特氏菌属隶属于毛螺菌科,是广泛存在于哺乳动物肠道的益生菌,具有进行生物转化、减轻炎症性疾病和代谢性疾病等功能[23]。菌群产生的短链脂肪酸可促进 Th1 细胞、Treg 细胞等分泌抑炎细胞因子 IL-10 和 IL-22[13-16],而 HAPC 患者血液中抑炎细胞因子 IL-10 和 IL-22 降低,促进机体铁的动员,高原低氧环境下铁的含量和利用率增加与红细胞生成密切相关[12]。由此推测,高原健康人群血液中有益的毛螺菌科和布劳特氏菌属等菌群丰度较高,维持机体代谢稳态,促进短链脂肪酸生成,上调抑炎细胞因子 IL-10 和 IL-22 的分泌,抑制机体的铁动员,进而减少红细胞生成。

研究表明,HAPC 患者血液中与炎症相关的 α-变形菌纲和红螺菌科丰度显著增加。α-变形菌纲和红螺菌科可能作为低氧诱导肺动脉高压小鼠肠道菌群的生物标志物[21],与本研究检测结果一致。在炎症性肠病

(inflammatory bowel disease,IBD)患者中,α-变形菌纲丰度增加,与 IBD 的发病密切相关[24]。血管紧张素 1(Ang1)敲除小鼠 α-变形菌纲增加、毛螺菌科减少,结肠炎易感性增强,Ang1 通过平衡 α-变形菌纲和毛螺菌科的比例,从而预防结肠炎[25]。相比于平原对照组人群和高原健康人群,确诊的 HAPC 患者血液中促炎因子 IL-1β、IL-2、IL-3、TNF-α 等显著增加[26]。多种炎症细胞因子对不同阶段红系造血具有调节作用。例如,IL-3 可诱导造血干细胞向髓系祖细胞分化,对红细胞增生具有重要作用[27-28],可能促进缺氧时红细胞生成增多[29]。由此推测,HAPC 患者血液中的 α-变形菌纲可能诱导机体炎症反应,参与红细胞增多过程。因此,高原健康人群血液中有益共生菌丰度较高,可能在疾病进展过程中对抗红细胞增多,而 HAPC 患者血液中与炎症相关的菌群富集,可能参与 HAPC 的发生、发展。然而,由于样品类型、引物或测序平台的差异,本研究仅在纲、科以及属的水平上得出一般性结论,没有在种的水平上进行深入研究,在未来的研究中有待进一步阐明 HAPC 患者与高原健康人群血液微生物菌群的种水平差异。

3.3 血液菌群有望成为高原红细胞增多症早期防治的潜在作用靶点

许多研究都报道高原低氧与肠道菌群的关联,然而高原低氧对血液菌群的影响未见报道。本研究阐明了 HAPC 患者血液菌群变化特征及与 HAPC 的关系。HAPC 患者中,血液菌群可能成为肠道菌群的窗口,血液菌群的多样性和组成更加直观地反映人体血红蛋白的相关变化,为寻找 HAPC 生物标志物、筛选易感人群和探究个性化干预措施提供潜在依据[6,30-31]。

综上所述,本研究解析了高原红细胞症患者与高原健康人群间血液菌群差异,推测这类差异菌群参与了低氧环境中红细胞过度生成及高原红细胞增多症的发生。特定菌群的显著减少,如毛螺菌科和科布劳特氏菌属菌等,可能在高原红细胞增多症的发生发展中具有关键作用,其机制可能通过调节抑炎因子 IL-10 和 IL-22 分泌及机体铁稳态。血液螺菌科和科布劳特氏菌属菌的检测可能对高原红细胞增多症的发生起到早起预警的作用,而外源性补充该类菌群,有望成为高原红细胞增多症的潜在特异性防治手段。

参考文献:

[1] LEÓN-VELARDE F, MAGGIORINI M, REEVES J T, *et al*. Consensus statement on chronic and subacute high altitude diseases[J]. High Alt Med Biol, 2005, 6(2): 147-157. DOI: 10.1089/ham.2005.6.147.

[2] SONG Z, ZHANG A X, LUO J, *et al*. Prevalence of high-altitude polycythemia and hyperuricemia and risk factors for hyperuricemia in high-altitude immigrants[J]. High Alt Med Biol, 2023, 24(2): 132-138. DOI: 10.1089/ham.2022.0133.

[3] SU J, LI Z Q, CUI S, *et al*. The local HIF-2α/EPO pathway in the bone marrow is associated with excessive erythrocytosis and the increase in bone marrow microvessel density in chronic mountain sickness[J]. High Alt Med Biol, 2015, 16(4): 318-330. DOI: 10.1089/ham.2015.0015.

[4] MA J, JI L H, LI Z Q, *et al*. Downregulation of intrinsic apoptosis pathway in erythroblasts contributes to excessive erythrocytosis of chronic mountain sickness[J]. Blood Cells Mol Dis, 2019, 76: 25-31. DOI: 10.1016/j.bcmd.2019.01.002.

[5] CHEN K, LI N, FAN F F, *et al*. Tibetan medicine Duoxuekang capsule ameliorates high-altitude polycythemia accompanied by brain injury[J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 680636. DOI: 10.3389/fphar.2021.680636.

[6] POTGIETER M, BESTER J, KELL D B, *et al*. The dormant blood microbiome in chronic, inflammatory diseases[J]. FEMS Microbiol Rev, 2015, 39(4): 567-591. DOI: 10.1093/femsre/fuv013.

[7] SHREINER A B, KAO J Y, YOUNG V B. The gut microbiome in health and in disease[J]. Curr Opin Gastroenterol, 2015, 31(1): 69-75. DOI: 10.1097/MOG.0000000000000139.

[8] PRAL L P, FACHI J L, CORRÊA R O, *et al*. Hypoxia and HIF-1 as key regulators of gut microbiota and host interactions[J]. Trends Immunol, 2021, 42(7): 604-621. DOI: 10.1016/j.it.2021.05.004.

[9] HAN N, PAN Z Y, LIU G W, *et al*. Hypoxia: the "invisible pusher" of gut microbiota[J]. Front Microbiol, 2021, 12: 690600. DOI: 10.3389/fmicb.2021.690600.

[10] MCKENNA Z J, GORINI PEREIRA F, GILLUM T L, *et al*. High-altitude exposures and intestinal barrier dysfunction[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2022, 322(3): R192-R203. DOI: 10.1152/ajpregu.00270.2021.

[11] HAKANSSON A, MOLIN G. Gut microbiota and inflammation[J]. Nutrients, 2011, 3(6): 637-682. DOI: 10.3390/nu3060637.

[12] LIU Y S, HUANG H, ZHOU S M, *et al*. Excessive iron availability caused by disorders of interleukin-10 and interleukin-22 contributes to high altitude polycythemia[J]. Front Physiol, 2018, 9: 548. DOI: 10.3389/fphys.2018.00548.

[13] YANG W J, YU T M, HUANG X S, *et al*. Intestinal microbiota-derived short-chain fatty acids regulation of

immune cell IL-22 production and gut immunity[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 4457. DOI: 10.1038/s41467-020-18262-6.

[14] SUN M M, WU W, CHEN L, *et al*. Microbiota-derived short-chain fatty acids promote Th1 cell IL-10 production to maintain intestinal homeostasis[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 3555. DOI: 10.1038/s41467-018-05901-2.

[15] SMITH P M, HOWITT M R, PANIKOV N, *et al*. The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis[J]. Science, 2013, 341(6145): 569-573. DOI: 10.1126/science.1241165.

[16] KIM C H, PARK J, KIM M. Gut microbiota-derived short-chain Fatty acids, T cells, and inflammation[J]. Immune Netw, 2014, 14(6): 277-288. DOI: 10.4110/in.2014.14.6.277.

[17] GRIMES D A, SCHULZ K F. An overview of clinical research: the lay of the land[J]. Lancet, 2002, 359(9300): 57-61. DOI: 10.1016/S0140-6736(02)07283-5.

[18] 祁生贵, 吴天一. 慢性高原病诊断标准及相关研究[J]. 高原医学杂志, 2015, 25(4): 1-11. DOI: CNKI:SUN:GYYZ.0.2015-04-001.
QI S G, WU T Y. Diagnostic criteria and related studies on chronic high-altitude disease[J]. J High Altitude Med, 2015, 25(4): 1-11. DOI: CNKI:SUN:GYYZ.0.2015-04-001.

[19] CASTILLO D J, RIFKIN R F, COWAN D A, *et al*. The healthy human blood microbiome: fact or fiction?[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2019, 9: 148. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00148.

[20] BHATTACHARYYA M, GHOSH T, SHANKAR S, *et al*. The conserved phylogeny of blood microbiome[J]. Mol Phylogenet Evol, 2017, 109: 404-408. DOI: 10.1016/j.ympev.2017.02.001.

[21] LUO L J, CHEN Q H, YANG L, *et al*. MSCs therapy reverse the gut microbiota in hypoxia-induced pulmonary hypertension mice[J]. Front Physiol, 2021, 12: 712139. DOI: 10.3389/fphys.2021.712139.

[22] VACCA M, CELANO G, CALABRESE F M, *et al*. The controversial role of human gut Lachnospiraceae[J]. Microorganisms, 2020, 8(4): 573. DOI: 10.3390/microorganisms8040573.

[23] LIU X M, MAO B Y, GU J Y, *et al*. Blautia-a new functional genus with potential probiotic properties?[J]. Gut Microbes, 2021, 13(1): 1-21. DOI: 10.1080/19490976.2021.1875796.

[24] MUKHOPADHYA I, HANSEN R, EL-OMAR E M, *et al*. IBD-what role do proteobacteria play?[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2012, 9(4): 219-230. DOI: 10.1038/nrgastro.2012.14.

[25] SUN D S, BAI R P, ZHOU W, *et al*. Angiogenin maintains gut microbe homeostasis by balancing α-Proteobacteria and Lachnospiraceae[J]. Gut, 2021, 70(4): 666-676. DOI: 10.1136/gutjnl-2019-320135.

[26] YI H, YU Q J, ZENG D F, *et al*. Serum inflammatory factor profiles in the pathogenesis of high-altitude polycythemia and mechanisms of acclimation to high altitudes[J]. Mediators Inflamm, 2021, 2021: 8844438. DOI: 10.1155/2021/8844438.

[27] DAI C H, KRANTZ S B, MEANS R T Jr, *et al*. Polycythemia vera blood burst-forming units-erythroid are hypersensitive to interleukin-3[J]. J Clin Invest, 1991, 87(2): 391-396. DOI: 10.1172/JCI115009.

[28] YANG Y C, CIARLETTA A B, TEMPLE P A, *et al*. Human IL-3 (multi-CSF): identification by expression cloning of a novel hematopoietic growth factor related to murine IL-3[J]. Cell, 1986, 47(1): 3-10. DOI: 10.1016/0092-8674(86)90360-0.

[29] LI P, HUANG J, TIAN H J, *et al*. Regulation of bone marrow hematopoietic stem cell is involved in high-altitude erythrocytosis[J]. Exp Hematol, 2011, 39(1): 37-46. DOI: 10.1016/j.exphem.2010.10.006.

[30] GANESAN V, VASUDEVAN D, JEYAPRAKASH R, KRISHNAN S. Blood microbiota and circulating microbial metabolites in diabetes and cardiovascular disease[J]. Trends Endocrinol Metab, 2020 31(11): 835-847. DOI: 10.1016/j.tem.2020.01.013.

[31] GALLOWAY-P J R, JOBIN C. Microbiota influences on hematopoiesis and blood cancers: New horizons?[J] Blood Cancer Discov, 2023, 4(4): 267-275. DOI: 10.1158/2643-3230.BCD-22-0172.

(收稿:2023-09-01;修回:2023-12-28)

(编辑 栾 嘉)