

- infection [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(6): 1450-1469.
- [33] KABIR A M, AIBA Y, TAKAGI A, et al. Prevention of *Helicobacter pylori* infection by lactobacilli in a gnotobiotic murine model [J]. Gut, 1997, 41(1): 49-55.
- [34] 贾真, 袁雪晶. 儿童幽门螺杆菌感染治疗进展[J]. 儿科药理学杂志, 2019, 25(6): 58-61.
- [35] HÜTT P, ANDRESON H, KULLISAAR T, et al. Effects of a synbiotic product on blood antioxidative activity in subjects colonized with *Helicobacter pylori* [J]. Lett Appl Microbiol, 2009, 48(6): 797-800.

(编辑:刘雄志)

(收稿日期:2020-10-10 修回日期:2020-12-25)

doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2022.12.009

• 论著 •

肠道菌群及其代谢产物在过敏性哮喘患儿中的作用

滕燕, 顾婷, 丁守领, 张宝芹 (太仓市第一人民医院, 江苏苏州 215400)

[摘要]目的:探讨常见肠道菌群及其代谢产物在过敏性哮喘(AA)患儿病情进展中的作用。方法:选取2019-2021年我院门诊及住院收治的80例AA急性发作期患儿作为研究对象,参照《儿科学(第9版)》中AA急性发作期病情严重程度分级将患儿分为轻度组、中度组与重度组,比较不同病情严重程度AA急性发作期患儿的基线资料、常见肠道菌群及其代谢产物,重点分析常见肠道菌群及其代谢产物与AA急性发作期患儿病情严重程度的关系。结果:80例AA急性发作期患儿中轻度28例、中度34例、重度18例;轻度组患儿乳酸杆菌、双歧杆菌、乙酸、丁酸水平最高,其次为中度组,重度组最低,差异有统计学意义($P<0.05$);重度组患儿大肠埃希菌、脂多糖水平最高,其次为中度组,轻度组最低,差异有统计学意义($P<0.05$);经Kendall's tau-b相关性检验显示,AA急性发作期患儿病情严重程度分级与乳酸杆菌、双歧杆菌、短链脂肪酸的乙酸与丁酸水平呈负相关($r<0$, $P<0.05$),与大肠埃希菌、脂多糖水平呈正相关($r>0$, $P<0.05$);经有序回归分析显示,乳酸杆菌、双歧杆菌、乙酸、丁酸水平高是AA病情程度分级的保护因素($OR<1$, $P<0.05$),大肠埃希菌、脂多糖水平高是其危险因素($OR>1$, $P<0.05$);绘制决策曲线结果显示,在高风险阈值0~1.0范围内乳酸杆菌、双歧杆菌、大肠埃希菌联合评估AA急性发作期患儿病情程度分级的净收益率均 >0 ,乙酸、丁酸、脂多糖联合评估AA急性发作期患儿病情程度分级的净收益率均 >0 ,有临床意义。结论:常见肠道菌群中乳酸杆菌、双歧杆菌、大肠埃希菌及其代谢产物乙酸、丁酸、脂多糖与AA急性发作期患儿病情严重程度有关,可能在AA的病情进展中发挥一定作用。

[关键词]过敏性哮喘;儿童;肠道菌群;代谢产物

[中图分类号]R725.6

[文献标识码]A

[文章编号]1672-108X(2022)12-0029-06

Effects of Intestinal Flora and Its Metabolites in Children with Allergic Asthma

Teng Yan, Gu Ting, Ding Shouling, Zhang Baoqin (The First People's Hospital of Taicang, Jiangsu Suzhou 215400, China)

[Abstract]Objective: To explore the effects of common intestinal flora and its metabolites in the progression of allergic asthma (AA) in children. Methods: Eighty children with acute attack of AA admitted into outpatient, emergency and inpatient departments of the hospital from 2019 to 2021 were selected as the research subjects. All children were divided into the mild group, moderate group and severe group, according to the grading of acute attack of AA condition in *Pediatrics* (9th Edition). The baseline data, common intestinal flora and its metabolites of acute attack of AA in children with different disease degrees were compared. Correlation between common intestinal flora and its metabolites and the severity of children with acute attack of AA was emphatically analyzed. Results: Among 80 children with acute attack of AA, 28 cases were mild, 34 cases were moderate and 18 cases were severe. The levels of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, acetic acid and butyric acid were the highest in the mild group, followed by the moderate group and the severe group, with statistically significant differences ($P<0.05$). The levels of *Escherichia coli* and lipopolysaccharide were the highest in the severe group, followed by the moderate group and the mild group, with statistically significant differences ($P<0.05$). Results of Kendall's tau-b correlation test showed that the grade of acute attack of AA was negatively correlated with the levels of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, acetic acid and butyric acid of short-chain fatty acids ($r<0$, $P<0.05$), and positively correlated with the levels of *E. coli* and lipopolysaccharide ($r>0$, $P<0.05$). Results of ordered regression analysis showed that the high levels of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, acetic acid and butyric acid were the protective factors for the grading of AA ($OR<1$, $P<0.05$), and the high levels of *Escherichia coli* and lipopolysaccharide were the risk factors ($OR>1$, $P<0.05$). Results of decision curve showed that the net benefit rate of joint

基金项目:2018年江苏省妇幼健康科研项目,编号F201817。

作者简介:滕燕(1975.07-),女,硕士,主任医师,主要从事儿童过敏性哮喘和肠道菌群研究,E-mail:tyt4444@126.com。

assessing the severity grading was more than 0 with *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* and *E. coli* within the high-risk threshold range from 0.0 to 1.0, and was more than 0 with acetic acid, butyric acid and lipopolysaccharide, which had clinical significance. **Conclusion:** *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *E. coli* and its metabolites acetic acid, butyric acid and lipopolysaccharide are correlated with the severity of acute attack of AA in children, and may play a role in the progression of AA.

[**Keywords**] allergic asthma; children; intestinal flora; metabolites

过敏性哮喘 (allergic asthma, AA) 是儿童呼吸系统常见的慢性气道炎症性疾病, 表现为气道高反应性与气流受限, 严重影响患儿的正常生活及生长发育^[1]。目前关于 AA 发病机制考虑主要与患儿自身免疫调节紊乱有关, 认为 AA 主要是由于辅助性 T 细胞 2 (T helper cell 2, Th2) 介导的变态反应, 使患儿在接触特异性变应原刺激后, 增强 Th2 细胞转录因子表达, 并影响 Th1 细胞反应, 引起机体免疫失调, 导致 AA 的发生、进展^[2]。但有研究发现, AA 急性发作期患儿经免疫治疗后早期疗效并不十分理想, 部分患儿仍会进展为典型哮喘^[3]。因此, 分析与 AA 患儿病情进展有关的指标, 可为 AA 的治疗及预防疾病提供新的思路。肠道菌群在胃肠道疾病及免疫稳态中均具有重要的生理作用^[4]。同时肠道菌群也会通过细菌的代谢产物调节机体的免疫功能, 进而影响机体的免疫平衡^[5]。结合肠道菌群及其代谢产物的作用, 推测其可能与 AA 患儿病情严重程度有关。鉴于此, 本研究就常见的肠道菌群及其代谢产物在 AA 急性发作期患儿病情进展中的作用进行探讨。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取 2019–2021 年医院门急诊及住院收治的 80 例 AA 患儿作为研究对象, 患儿家属签署知情同意书。纳入标准: (1) AA 符合《儿科学 (第 9 版)》^[6] 中诊断标准, ①反复喘息、咳嗽, 多与接触变应原、呼吸道感染等有关; ②发作时双肺可闻及散在哮鸣音, 呼气相延长; ③经抗哮喘治疗症状体征缓解; ④排除其他原因引起的喘息、咳嗽; ⑤有食入性或吸入性过敏源依据, 肺功能检测异常。(2) 急性发作期, 即喘息、咳嗽、气促等症状突然发作, 或原有的症状加重。(3) 首次确诊, 未接受过哮喘相关治疗。排除标准: (1) 合并胃炎、腹泻等消化系统疾病; (2) 合并肝肾、心肺功能不全; (3) 危重度 AA, 即呼吸不整, 难以说话, 存在嗜睡或意识障碍, 血氧饱和度 (SpO_2) < 0.90; (4) 合并活动性肺结核、肺发育异常等其他呼吸系统疾病; (5) 患有原发性免疫功能缺陷; (6) 合并过敏性鼻炎或湿疹病史; (7) 近期使用过免疫调节剂、糖皮质激素、益生菌制剂; (8) 近 1 周服用抗菌药物。80 例患儿中男 51 例, 女 29 例; 年龄 5~13 (9.15±1.48) 岁; 早产 17 例, 剖宫产 46 例; 6 月龄内喂养方式: 母乳 39 例, 人工 15 例, 混合 26 例。

1.2 基线资料收集

设计患儿基线资料调查表, 由患儿家属填写, 内容包括患儿年龄、性别、早产情况 (28 周 < 胎龄 < 37 周)、出

生方式 (剖宫产、自然分娩)、6 月龄内喂养方式 (母乳喂养、人工喂养、混合喂养)、居住地 (城镇、乡村)、超体质量 (体质量指数 $\geq 25 \text{ kg/m}^2$)、哮喘家族史 (父母或祖父母患有哮喘病史)、主要监护人文化程度 (高中及以下、专科及以上)、被动吸烟史 (生活中周围有吸烟人群, 不自觉的吸入烟雾与有毒物质, 每周至少有 1 d 吸入烟雾 15 min 以上)、发病季节 (春季、夏季、秋季、冬季)、过敏原 (室内、室外、食物)。

1.3 常见肠道菌群及其代谢产物检测方法

1.3.1 常见肠道菌群检测 使用无菌干燥瓶收集患儿 1 g 粪便标本, 加入磷酸盐缓冲液 (PBS) 9 mL 摇匀, 离心 5 min (1 500 r/min, 半径 8 cm), 共离心 3 次, 留取上清液; 高速离心 3 min, 转速 9 000 r/min, 用 PBS 清洗 4 次, 依次加入蒸馏水 0.1 mL、聚乙二醇辛基苯基醚溶液 (赛默飞, 1%), 提取脱氧核糖核酸 (DNA); 使用荧光定量聚合酶链式反应测定常见肠道菌群, 包括乳酸杆菌、双歧杆菌及大肠埃希菌。引物序列: 正向引物 5'-TCGTCCGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3', 反向引物 5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC-3'。反应条件: 100 °C 预变性 45 s, 95 °C 变性 5 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 10 min, 共 40 个循环; 用 illumina Miseq 平台测序, 用 2^{-ΔΔCt} 计算基因相对表达量。

1.3.2 常见肠道菌群代谢产物检测 (1) 短链脂肪酸: 用无菌干燥瓶收集患儿 50 mg 粪便标本, 加入氢氧化钠水溶液 1 mL, 涡旋 60 s, 离心 20 min, 转速 1 500 r/min, 留取上清液, 取 500 μL 上清液加入蒸馏水 300 μL, 涡旋 30 s; 加入丙醇吡啶溶液 500 μL、绿甲酸正丙酯 100 μL 进行衍生, 用正己烷萃取后涡旋 60 s, 离心 5 min, 转速 3 000 r/min, 留取萃取液 200 μL; 再次向衍化物中加入正己烷 200 μL 萃取, 留取萃取液 200 μL; 将 2 次萃取液混合后离心 5 min, 转速 3 000 r/min; 使用气相色谱-质谱联用仪分析短链脂肪酸色谱与质谱。(2) 胆汁酸: 收集患儿粪便标本 0.2 g, 加入甲醇 2 mL, 涡旋混匀, 离心分离 5 min, 转速 4 000 r/min, 留取上清液, 采用液相质谱检测粪便初级胆汁酸水平, 包括胆酸、鹅去氧胆酸、甘氨酸去氧胆酸。(3) 脂多糖: 收集患儿粪便标本 1 g, 加入 PBS 溶液 9 g, 摇匀后离心分离 10 min, 转速 3 000 r/min, 留取上清液, 采用酶联免疫吸附法测定粪便脂多糖水平, 试剂盒购自武汉伊莱瑞特生物科技。

1.4 AA 病情程度分级的评估及分组方法

参照《儿科学 (第 9 版)》^[6] 评估患儿病情: 轻度——

走路时出现呼吸急促,症状较轻,吸入速效 β_2 激动剂后呼气流量峰值(PEF)/预计值(PEF%)>80%, $0.90 < SpO_2 \leq 0.94$,散在哮鸣音;中度——活动时出现呼吸急促, $60\% < PEF\% < 80\%$, $0.90 < SpO_2 \leq 0.94$,弥漫响亮哮鸣音;重度——休息时即会出现呼吸急促,PEF% $\leq 60\%$, $SpO_2 = 0.90$,弥漫响亮哮鸣音。依据 AA 病情严重程度分级将患儿分为轻度组、中度组、重度组。

1.5 统计学方法

应用 SPSS 25.0 统计学软件,Shapiro-Wilk 检验计量资料的正常性,符合正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,多组间两两比较用 LSD-*t* 检验;计数资料采用 χ^2 检验,若期望值 <5 ,采用连续校正卡方检验;采用 Kendall's tau-b 相关性分析检验常见肠道菌群及其代谢产物与 AA 急性发作期患儿病情严重程度的相关性;采用有序回归分析检验常见肠道菌群及

其代谢产物对 AA 急性发作期患儿病情严重程度分级的影响; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。应用 R4.1.0 统计学软件,以高风险阈值为横坐标、净收益率为纵坐标,绘制常见肠道菌群及其代谢产物评估 AA 急性发作期患儿病情严重程度分级的决策曲线。

2 结果

2.1 AA 急性发作期患儿病情程度分级

80 例 AA 急性发作期患儿轻度 28 例(35.00%),中度 34 例(42.50%),重度 18 例(22.50%)。

2.2 不同病情严重程度分级患儿基线资料比较

重度组患儿早产比例最高,其次为中度组,轻度组最低,差异有统计学意义($P < 0.05$);组间其他资料比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 不同病情程度分级患儿基线资料比较

项目	轻度组(28 例)	中度组(34 例)	重度组(18 例)	<i>F</i> 或 χ^2	<i>P</i>
年龄/岁	9.32 $\pm$ 1.61	9.11 $\pm$ 1.51	8.94 $\pm$ 1.26	0.361	>0.05
性别/例(%)	男	16(57.14)	21(61.76)	2.120	>0.05
	女	12(42.86)	13(38.24)		
早产/例(%)	是	3(10.71)	6(17.65)	7.273	<0.05
	否	25(89.29)	28(82.35)		
出生方式/例(%)	自然分娩	17(60.71)	18(52.94)	0.504	>0.05
	剖宫产	11(39.29)	16(47.06)		
6 月龄内喂养方式/例(%)	母乳	17(60.71)	18(52.94)	2.321	>0.05
	人工	3(10.71)	5(14.71)		
	混合	8(28.57)	11(32.35)		
居住地/例(%)	城镇	16(57.14)	19(55.88)	0.819	>0.05
	乡村	12(42.86)	15(44.12)		
超体质量/例(%)	是	2(7.14)	5(14.71)	2.190	>0.05
	否	26(92.86)	29(85.29)		
哮喘家族史/例(%)	有	6(21.43)	9(26.47)	0.244	>0.05
	无	22(78.57)	25(73.53)		
主要监护人文化程度/例(%)	高中及以下	15(53.57)	21(61.76)	0.458	>0.05
	专科及以上	13(46.43)	13(38.24)		
被动吸烟史/例(%)	有	11(39.29)	16(47.06)	2.097	>0.05
	无	17(60.71)	18(52.94)		
发病季节/例(%)	春季	11(39.29)	15(44.12)	1.584	>0.05
	夏季	3(10.71)	4(11.76)		
	秋季	9(32.14)	10(29.41)		
	冬季	5(17.86)	5(14.71)		
过敏原/例(%)	室内	10(35.71)	14(41.18)	3.902	>0.05
	室外	13(46.43)	11(32.35)		
	食物	5(17.86)	9(26.47)		

2.3 不同病情严重程度分级患儿常见肠道菌群及其代谢产物比较

轻度组患儿乳酸杆菌、双歧杆菌、乙酸、丁酸水平最高,其次为中度组,重度组最低,差异有统计学意义($P <$

0.05);重度组患儿大肠埃希菌、脂多糖水平最高,其次为中度组,轻度组最低,差异有统计学意义($P < 0.05$);不同病情严重程度分级患儿其他常见肠道菌群及其代谢产物比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

2.4 常见肠道菌群及其代谢产物与 AA 急性发作期患儿病情严重程度的相关性

Kendall's tau-b 相关性检验显示, AA 急性发作期患

儿病情严重程度分级与乳酸杆菌、双歧杆菌、短链脂肪酸的乙酸与丁酸水平呈负相关($r < 0, P < 0.05$), 与大肠埃希菌、脂多糖水平呈正相关($r > 0, P < 0.05$), 见表 3、图 1、图 2。

表 2 不同病情严重程度分级患儿常见肠道菌群及其代谢产物比较

项目	轻度组(28 例)	中度组(34 例)	重度组(18 例)	F	P
肠道菌群					
乳酸杆菌/(log 拷贝数/g 湿便)	11.01±2.90	8.94±2.14 ^a	7.21±1.56 ^{ab}	15.183	<0.01
双歧杆菌/(log 拷贝数/g 湿便)	11.60±2.90	9.76±2.48 ^a	7.38±1.73 ^{ab}	15.742	<0.01
克雷伯杆菌/(log 拷贝数/g 湿便)	2.46±0.58	2.55±0.61	2.58±0.67	0.260	>0.05
红球菌/(log 拷贝数/g 湿便)	1.34±0.32	1.29±0.27	1.25±0.26	0.562	>0.05
大肠埃希菌/(log 拷贝数/g 湿便)	7.49±1.96	10.12±2.81 ^a	13.23±3.84 ^{ab}	22.775	<0.01
代谢产物					
短链脂肪酸/(μg/g)					
乙酸	6.24±1.35	5.35±1.12 ^a	4.17±0.98 ^{ab}	17.030	<0.01
丙酸	2.43±0.62	2.37±0.55	2.35±0.51	0.117	>0.05
丁酸	8.52±2.19	5.85±1.46 ^a	4.72±1.08 ^{ab}	32.664	<0.01
胆汁酸/(ng/g)					
胆酸	13 842.87±1 177.18	13 391.34±1 688.49	13 274.54±1 312.85	1.093	>0.05
鹅去氧胆酸	6 684.30±598.26	6 527.82±512.84	6 437.67±486.78	1.268	>0.05
甘氨酸鹅去氧胆酸	81.78±12.84	77.82±11.25	75.86±10.95	1.580	>0.05
脂多糖/(EU/L)	593.45±34.81	634.29±49.95 ^a	685.89±60.27 ^{ab}	20.477	<0.01

注: a 与轻度组比较, $P < 0.05$; b 与中度组比较, $P < 0.05$

表 3 肠道菌群及其代谢产物与 AA 患儿病情严重程度的相关性

细菌及产物	r	P
乳酸杆菌	-0.417	<0.01
双歧杆菌	-0.418	<0.01
大肠埃希菌	0.506	<0.01
短链脂肪酸		
乙酸	-0.461	<0.01
丁酸	-0.530	<0.01
脂多糖	0.447	<0.01

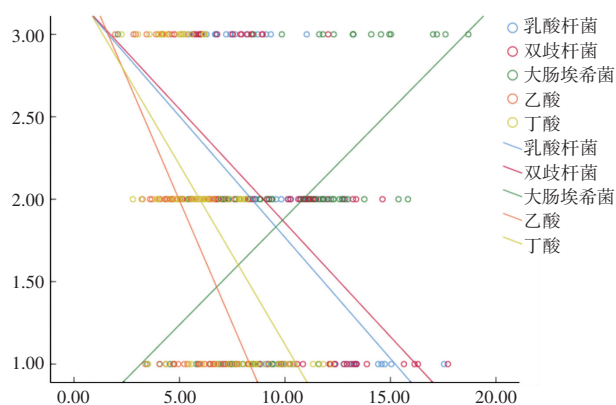


图 1 乳酸杆菌、双歧杆菌、大肠埃希菌、乙酸及丁酸与 AA 急性发作期患儿病情严重程度的相关性散点图

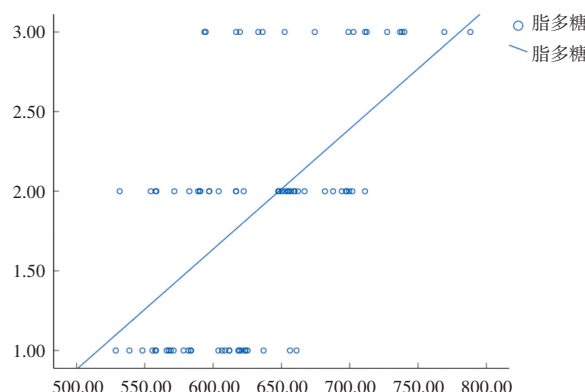


图 2 脂多糖与 AA 急性发作期患儿病情严重程度的相关性散点图

2.5 常见肠道菌群及其代谢产物影响 AA 急性发作期患儿病情严重程度分级的回归分析

将 AA 急性发作期患儿病情程度作为因变量(1=轻度, 2=中度, 3=重度), 将结果“2.3”中差异有统计学意义的变量作为自变量(均为连续变量), 经有序回归分析显示, 乳酸杆菌、双歧杆菌、乙酸、丁酸水平高是 AA 病情严重程度分级的保护因素($OR < 1, P < 0.05$), 大肠埃希菌、脂多糖水平高是其危险因素($OR > 1, P < 0.05$), 见表 4。

表 4 常见肠道菌群及其代谢产物影响 AA 急性发作期患儿病情严重程度分级的回归分析

相关因素	β	标准误	Wald χ^2	P	OR	95%CI
阈值						
中度	-5.748	6.343	0.821	0.365	-	-
重度	0.629	6.143	0.010	0.918	-	-
位置						
乳酸杆菌	-0.410	0.155	7.031	0.008	0.664	(0.490, 0.899)
双歧杆菌	-0.315	0.140	5.098	0.024	0.730	(0.555, 0.859)
大肠埃希菌	0.295	0.116	6.414	0.011	1.343	(1.069, 1.687)
短链脂肪酸						
乙酸	-0.845	0.313	7.299	0.007	0.430	(0.233, 0.793)
丁酸	-0.723	0.228	10.091	0.001	0.485	(0.311, 0.758)
脂多糖	0.015	0.007	4.722	0.030	1.015	(1.002, 1.029)

2.6 常见肠道菌群及其代谢产物评估 AA 急性发作期患儿病情严重程度分级的决策曲线

以净收益率为纵坐标,高风险阈值为横坐标,绘制决策曲线(见图3、图4),结果显示,在阈值0.04~0.82、0.83~1.00范围内乳酸杆菌、双歧杆菌、大肠埃希菌联合评估AA急性发作期患儿病情严重程度分级的净收益率优于单独的净收益率;在阈值0~1范围内乙酸、丁酸、脂多糖联合评估AA急性发作期患儿病情严重程度分级的净收益率优于单独净收益率;且在高风险阈值0~1范围内乳酸杆菌、双歧杆菌、大肠埃希菌联合评估AA急性发作期患儿病情严重程度分级的净收益率均>0,乙酸、丁酸、脂多糖联合评估AA急性发作期患儿病情严重程度分级的净收益率均>0,有临床意义。

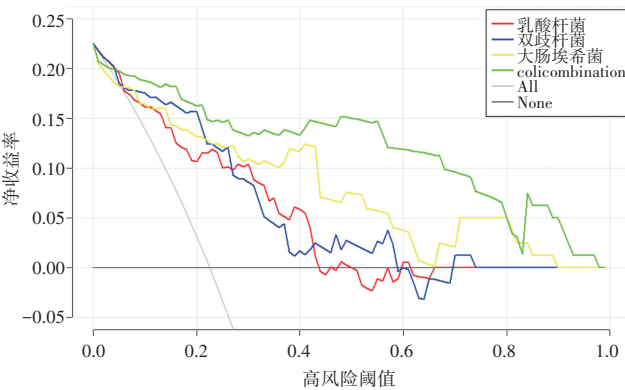


图3 常见肠道菌群评估AA急性发作期患儿病情严重程度分级的决策曲线

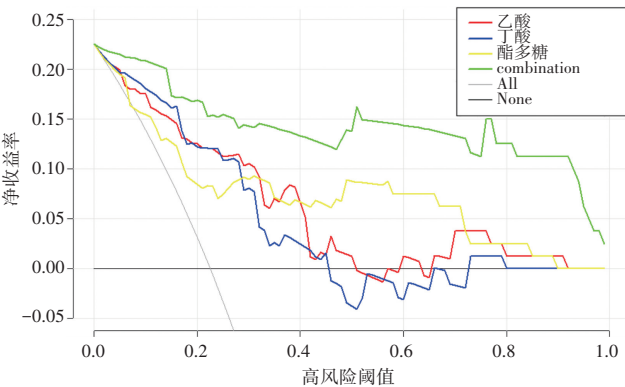


图4 常见肠道菌群代谢产物评估AA急性发作期患儿病情严重程度分级的决策曲线

3 讨论

除糖皮质激素、 β_2 受体激动剂、茶碱类等常规药物治疗外,免疫治疗也是治疗AA的重要手段,可通过特异性免疫治疗,增强机体抵抗力,抑制致敏原引起的变态反应,进而改善AA急性发作期患儿临床症状,达到治疗的目的^[7]。但由于受AA急性发作期患儿病程、基线PEF等影响,部分患儿治疗效果不佳^[8]。因此,分析在AA发病、进展中相关的指标,可为临床治疗AA提供新的靶点,进一步提高儿童AA的治疗效果。

本研究结果显示,乳酸杆菌、双歧杆菌水平高是AA

病情严重程度分级的保护因素,大肠埃希菌水平高是其危险因素,说明乳酸杆菌、双歧杆菌及大肠埃希菌可能是AA病情严重程度的影响因素。原因为肠道菌群含有人体内最大含量的微生物,常见的肠道菌群包括乳酸杆菌、双歧杆菌及大肠埃希菌^[9]。肠道菌群不仅参与营养物质的消化、肠道屏障完整性的维持等,也在机体的免疫反应中发挥重要作用^[10]。Hou M等^[11]研究发现,高龄妊娠糖尿病孕妇肠道菌群与T淋巴细胞亚群水平显著相关。乳酸杆菌、双歧杆菌是肠道菌群中重要的益生菌,能抑制CD4⁺T淋巴细胞增殖,下调白细胞介素-4(interleukin-4, IL-4)、IL-5及干扰素- γ 等多种细胞因子水平,进而减少颗粒性效应细胞募集,抑制变态反应,减轻AA急性发作期患儿病情严重程度^[12]。此外,乳酸杆菌、双歧杆菌水平升高,还能通过抑制核转录因子(nuclear transcription factor- κ B, NF- κ B)抑制蛋白 α 的降阶,进而抑制NF- κ B信号通路,并调控应激活蛋白激酶p38、细胞外信号调节蛋白激酶1/2磷酸化修饰,影响丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)信号通路,进而增强机体的免疫功能,阻止AA进展^[13]。大肠埃希菌是常见的病原菌,其水平升高可诱导Th1细胞因子大量分泌,破坏Th1/Th2免疫平衡,进而降低AA急性发作期患儿免疫功能,加重患儿病情进展^[14]。因此肠道菌群可通过调节AA急性发作期患儿的免疫功能,影响AA的发生、进展。

本研究结果显示,乙酸、丁酸水平高是AA病情严重程度分级的保护因素,脂多糖水平高是其危险因素,说明乙酸、丁酸、脂多糖与AA急性发作期患儿病情严重程度有关。原因为短链脂肪酸、胆汁酸、脂多糖均是常见的肠道菌群代谢产物,是由肠道菌群在降解食物、分泌物质等过程中产生,可影响宿主的免疫功能^[15]。结合常见肠道菌群代谢产物的作用机制,推测其可能在AA急性发作期患儿病情进展中发挥如下作用:乙酸水平升高,可结合其感应受体G蛋白耦联受体43(G protein coupled receptor, GPR43),激活其传导信号,进而减轻机体的气道炎症反应,并通抑制组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)9活性,增加Foxp3的表达,减轻气道过敏反应^[16]。丁酸不仅能直接对Treg细胞的功能起到调节作用,还能抑制HDAC活性,增强转录因子活性,进而增强机体的免疫耐受,减轻AA急性发作期患儿气道反应^[17]。因此乙酸、丁酸水平高的患儿AA病情严重程度较轻。此外,Theiler A等^[18]通过体外研究发现,乙酸、丁酸等短链脂肪酸能减弱人嗜酸粒细胞内皮黏附、迁移与存活能力,并通过动物实验观察到短链脂肪酸能够抑制过敏原诱导的气道嗜酸粒细胞增多,进而减轻小鼠气道的高反应性。本研究结果与上述研究一致。脂多糖水平升高会对免疫细胞产生刺激,促使白细胞介素、肿瘤坏死因子等细胞因子分泌,并上调Toll样受体4的表达,进而介导炎症反应的发生,引起机体的免疫应

答,影响机体的免疫功能,加重 AA 急性发作期患儿病情严重程度^[19],说明肠道菌群的部分代谢产物也会影响 AA 的病情严重程度。

本研究决策曲线显示,在高风险阈值 0~1 范围内乳酸杆菌、双歧杆菌、大肠埃希菌联合评估 AA 急性发作期患儿病情严重程度分级的净收益率均>0,乙酸、丁酸、脂多糖联合评估 AA 急性发作期患儿病情严重程度分级的净收益率均>0,有临床意义。进一步说明常见肠道菌群及其代谢产物与 AA 的发生、进展有关,且在疾病进展中发挥重要作用。因此,可通过早期检测 AA 急性发作期患儿乳酸杆菌、双歧杆菌、大肠埃希菌等常见肠道菌群及其代谢产物评估患儿病情严重程度,针对肠道菌群紊乱的患儿,采取针对性治疗措施,如服用双歧杆菌乳杆菌三联活菌,改善患儿肠道菌群及其代谢产物水平,或可进一步提高治疗效果。

综上所述,常见肠道菌群中乳酸杆菌、双歧杆菌、大肠埃希菌及其代谢产物乙酸、丁酸、脂多糖与 AA 急性发作期患儿病情严重程度有关,可能在 AA 的病情进展中发挥一定作用。临床可通过检测 AA 急性发作期患儿常见的肠道菌群及其代谢产物水平,评估患儿病情严重程度,并采取针对性治疗措施,纠正患儿肠道菌群紊乱,有利于提高治疗效果。本研究通过纳入标准和排除标准严格控制研究对象,匹配比较哮喘患者的基线资料如性别、早产、出生方式、6 月龄内喂养方式、哮喘家族史、主要监护人文化程度、被动吸烟史、发病季节、过敏原等可能的干扰因素。但本研究跨度 3 年,的确可能存在样本偏倚,这亦是本研究的局限性,未来将开展短时间跨度的大样本研究,得出更有价值的结果。另外,本研究仅纳入 6~14 岁儿童作为研究对象,并未观察<6 岁儿童肠道菌群及其代谢产物的水平,且本研究只观察了不同病情严重程度 AA 急性发作期患儿肠道菌群及其代谢产物水平,未与健康患儿比较,也未进行动态观察,以上均是本研究的不足,未来仍需针对以上不足进行深入研究。

参考文献:

- [1] SCHAUBERGER D E, MYERS J, HUA H M, et al. Use of the Pediatric Asthma Risk Score to predict allergic and nonallergic asthma [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2020, 124(6): 629-631.
- [2] WANG L, WAN H, TANG W, et al. Critical roles of adenosine A2A receptor in regulating the balance of Treg/Th17 cells in allergic asthma [J]. *Clin Respir J*, 2018, 12(1): 149-157.
- [3] 宋颖, 张胜红. 观察舌下免疫治疗阻断学龄前儿童过敏性咳嗽变异型哮喘发展为典型哮喘的作用[J]. *中国免疫学杂志*, 2021, 37(5): 600-604.
- [4] GALAZZO G, VAN BEST N, BERVOETS L, et al. Development of the microbiota and associations with birth mode, diet, and atopic disorders in a longitudinal analysis of stool samples, collected from infancy through early childhood [J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(6): 1584-1596.
- [5] MCKENZIE C, TAN J, MACIA L, et al. The nutrition-gut microbiome-physiology axis and allergic diseases [J]. *Immunol Rev*, 2017, 278(1): 277-295.
- [6] 王卫平, 孙锟, 常立文. 儿科学[M]. 第 9 版. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 248-250.
- [7] LI Y, WANG D, ZHI L, et al. Respiratory tract infections in children with allergic asthma on allergen immunotherapy during influenza season [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 2083.
- [8] 刘晓颖, 王静, 王群, 等. 尘螨特异性免疫治疗哮喘合并变应性鼻炎患儿早期疗效及影响因素研究[J]. *中国实用儿科杂志*, 2016, 31(3): 190-194.
- [9] 柳萍飞. 咳嗽变异型哮喘患儿肠道菌群及血清干扰素- γ 和白介素-4 水平的变化[J]. *中国微生态学杂志*, 2020, 32(4): 444-446.
- [10] HUFNAGL K, PALI-SCHÖLL I, ROTH-WALTER F, et al. Dysbiosis of the gut and lung microbiome has a role in asthma [J]. *Semin Immunopathol*, 2020, 42(1): 75-93.
- [11] HOU M, LI F. Changes of intestinal flora, cellular immune function and inflammatory factors in Chinese advanced maternal age with gestational diabetes mellitus [J]. *Acta Medica Med*, 2020, 36(2): 1137-1142.
- [12] 任盛, 夏梅梅, 赵将, 等. 肠道益生菌辅助对支气管哮喘患儿免疫功能、肠道菌群及复发率的影响[J]. *中国全科医学*, 2020, 23(1): 72-75.
- [13] WAWRYK-GAWDA E, MARKUT-MIOTŁA E, EMERYK A. Postnatal probiotics administration does not prevent asthma in children, but using prebiotics or synbiotics may be the effective potential strategies to decrease the frequency of asthma in high-risk children--a meta-analysis of clinical trials [J]. *Allergol Immunopathol*, 2021, 49(4): 4-14.
- [14] SARZINSZKY E, LUPINEK C, VRTALA S, et al. Expression in *Escherichia coli* and purification of folded rDer p 20, the arginine kinase from *Dermatophagoides pteronyssinus*: a possible biomarker for allergic asthma [J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2021, 13(1): 154-163.
- [15] GANGI A, CICCIO M E, COMBERIATI P, et al. Go with your gut: the shaping of T-cell response by gut microbiota in allergic asthma [J]. *Front Immunol*, 2020, 11(1): 1485.
- [16] 杨玉婷, 倪吉祥, 徐彪, 等. 肠道菌群通过短链脂肪酸参与过敏性哮喘发病的相关机制研究进展[J]. *山东医药*, 2021, 61(23): 109-112.
- [17] YIP W, HUGHES M R, LI Y, et al. Butyrate shapes immune cell fate and function in allergic asthma [J]. *Front Immunol*, 2021, 12(1): 628453.
- [18] THEILER A, BRNTHALER T, PLATZER W, et al. Butyrate ameliorates allergic airway inflammation by limiting eosinophil trafficking and survival [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2019, 144(3): 764-776.
- [19] CHEN Y, HUANG J, XU C. Lipopolysaccharide-induced DC-SIGN/TLR4 crosstalk activates NLRP3 inflammasomes via MyD88-independent signaling in gastric epithelial cells [J]. *Exp Cell Res*, 2020, 396(1): 112292.

(编辑:杨丹)

(收稿日期:2022-05-11 修回日期:2022-09-20)