

## 肝硬化患者的肠道菌群特征研究

马 驰<sup>1</sup>, 杨 涓<sup>2</sup>, 郑 盛<sup>2\*</sup>, 付新年<sup>1</sup>, 李心怡<sup>1</sup>, 曾雪丽<sup>1</sup>, 刘 佩<sup>1</sup>, 张顺玲<sup>1</sup>, 刘 涛<sup>3</sup>

<sup>1</sup>大理大学临床医学院 云南大理白族自治州

<sup>2</sup>大理大学第二附属医院 云南昆明

<sup>3</sup>腾冲市人民医院 云南保山

**【摘要】目的** 肠道菌群的动态平衡对维系机体健康发挥着重要作用。本研究旨在探讨肝硬化患者的肠道菌群特征，以及肝硬化进展过程中，不同 child-pugh 分级下的肠道菌群变化特征。**方法** 选择 2023 年 2 月至 2023 年 8 月就诊于云南省第三人民医院的 37 例肝硬化患者（child A 22 例，child B 9 例，child C 6 例），以及同期 36 例健康志愿者。收集其新鲜的粪便样本，采用 16SrDNA 高通量测序技术检测肠道菌群，进行菌群多样性及组成分析。**结果** 肝硬化患者的三个 child-pugh 分组与健康对照组（ZC 组）的群落丰富度、物种多样性均存在显著差异，且均低于健康对照组。根据各 child-pugh 分组对比结果显示，随着肝脏储备功能的下降，粪杆菌属（Faecalibacterium）、罗氏菌属（Roseburia）和瘤胃球菌属（Ruminococcus）等肠道内重要的丁酸盐产生菌丰度逐渐下降；属水平上的差异菌群（ $P < 0.05$ ）中，柯林斯氏菌属（Collinsella）、Fusicatenibacter 丰度逐渐下降。此外，大肠杆菌-志贺菌属（Escherichia Shigella）、链球菌属（Streptococcus）、粪杆菌属（Faecalibacterium）、双歧杆菌属（Bifidobacterium）和拟杆菌属（Bacteroides）作为属水平丰度最高的 5 个菌属，各肝硬化组中 Escherichia-Shigella 和 Streptococcus 丰度均高于健康对照组，而 Bacteroides 丰度均低于健康对照组。LEfSe 分析显示，不同 child-pugh 分级的优势菌属各有不同。**结论** Escherichia-Shigella 和 Streptococcus 是肝硬化患者属水平上丰度最高的菌属；并且随着肝脏储备功能的下降，毛螺菌科（Lachnospiraceae）、丹毒杆菌科（Erysipelatoclostridiaceae）、红蝈菌科（Coriobacteriaceae）、Collinsella 和 Fusicatenibacter 丰度逐渐下降，差异均具有统计学意义。

**【关键词】** 肠道菌群；肝硬化；child-pugh 分级；肠道菌群多样性；差异菌群

**【基金项目】** 云南省高层次科技人才及创新团队选拔专项-中青年学术和技术带头人后备人才项目（编号：202405AC350067）；云南省教育厅科学研究基金项目（编号：2024Y919）

**【收稿日期】** 2024 年 11 月 16 日

**【出刊日期】** 2025 年 1 月 8 日

**【DOI】** 10.12208/j.ijcr.20250008

### Characteristics of intestinal flora in patients with liver cirrhosis

Chi Ma<sup>1</sup>, Juan Yang<sup>2</sup>, Sheng Zheng<sup>2\*</sup>, Xinnian Fu<sup>1</sup>, Xinyi Li<sup>1</sup>, Xueli Zeng<sup>1</sup>, Pei Liu<sup>1</sup>, Shunling Zhang<sup>1</sup>, Tao Liu<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Clinical Medical College of Dali University, Dali Bai Autonomous Prefecture, Yunnan

<sup>2</sup>The Second Affiliated Hospital of Dali University, Yunnan Hospital, Kunming, Yunnan

<sup>3</sup>Tengchong People's Hospital, Baoshan, Yunnan

**【Abstract】Objective** The dynamic balance of intestinal flora plays an important role in maintaining body health. The purpose of this study was to investigate the characteristics of intestinal flora in patients with cirrhosis and the changes of intestinal flora under different child-pugh grades during the progression of cirrhosis. **Methods** A total of 37 patients with cirrhosis (22 child A, 9 child B, 6 child C) and 36 healthy volunteers were selected from the Third People's Hospital of Yunnan Province from February 2023 to August 2023. Fresh fecal samples were collected, 16SrDNA high-throughput sequencing technology was used to detect intestinal flora, and microbial diversity and composition were analyzed. **Results** There were significant differences in community richness and species diversity between the three child-pugh groups of cirrhosis patients and the healthy control group, and they were all lower than the healthy control group. The comparison

作者简介：马驰（1998-）女，硕士研究生，研究方向：消化系病学；

\*通讯作者：郑盛（1982-）男，硕士，副主任医师，研究方向：消化系病学。

results of child-pugh groups showed that with the decrease of liver reserve function, the abundance of important butyrate bacterium such as *Faecalibacterium*, *Roseburia* and *Ruminococcus* in the gut has gradually decreased. The abundance of *Collinsella* and *Fusicatenibacter* decreased gradually among the different flora at genus level ( $P < 0.05$ ). In addition, *Escherichia Shigella*, *Streptococcus*, *Faecalibacterium*, *Bifidobacterium* and *Bacteroides* are the five genera with the highest level abundance. The abundances of *Escherichia-Shigella* and *Streptococcus* in all cirrhosis groups were higher than those in healthy control group, while the abundances of *Bacteroides* were lower than those in healthy control group. LEfSe analysis showed that the dominant strains of different child-pugh grades were different. **Conclusion** *Escherichia-Shigella* and *Streptococcus* were the most abundant genera in patients with cirrhosis. And with the liver reserve function decline, *Lachnospiraceae*, *Erysipelatoclostridiaceae*, *Coriobacteriaceae*, *Collinsella* and *Fusicatenibacter* abundance gradually decline, differences were statistically significant.

**【Keywords】** Intestinal flora; Liver cirrhosis; Child-pugh classification; Intestinal flora diversity; Differential flora

复杂的肠道生态系统对维系机体健康与促进疾病发生发展均发挥着巨大作用。目前已知人体肠道微生物群拥有多达 1000 种细菌<sup>[1]</sup>, 它们所构成的集体基因, 比人类基因组大 150 倍<sup>[2-3]</sup>。肠道菌群失衡通过能量吸收、短链脂肪酸 (SCFAs) 与胆汁酸等多种途径影响宿主的健康<sup>[4]</sup>。肝硬化是慢性肝病的常见终末期, 与一系列事件有关, 其中肠道细菌过度生长和生态失调是中心<sup>[5]</sup>。既往研究发现, 通过肠-肝轴作用导致肠道细菌过度生长、病理性细菌移位与内毒素血症发生, 导致肝脏 toll 样受体激活, 触发机体炎症反应, 引起慢性炎症, 导致肝脏病变形成、纤维化进展、肝硬化和肝细胞癌发展<sup>[6]</sup>。并且通过检测肠道菌群, 寻找生物标志物可能成为诊断、干预及治疗肝硬化和肝细胞癌等慢性肝病的有效工具<sup>[7-8]</sup>。本文中, 通过对肝硬化患者不同 child-pugh 分组与健康对照组的肠道菌群特征进行对比研究, 希望可以进一步寻找在肝脏储备功能下降过程中具有特征性的菌属, 为采用微生物疗法干预肝硬化进展提供一定参考和依据。

## 1 对象及方法

### 1.1 研究对象

选取 2023 年 2 月至 2023 年 8 月在云南省第三人民医院就诊的 37 例肝硬化的患者 (child A 22 例, child B 9 例, child C 6 例), 以及同期 36 例健康志愿者。本研究所有研究对象均自愿参与研究并且签署知情同意书, 并通过云南省第三人民医院伦理委员会审核批准 (2023KY050)。

### 1.2 纳入、排除标准

(1) 肝硬化组纳入标准: 肝硬化诊断标准参考中华医学会肝病学分会制定的《肝硬化诊治指南(2019 年版)》<sup>[9]</sup>; 年龄在 18~85 岁; 无其他恶性肿瘤病史; 未经任何抗肿瘤治疗 (如手术、放化疗、免疫治疗等);

签署知情同意书。(2) 健康对照组纳入标准: 为健康志愿者, 排除急慢性肝胆及其他消化道疾病, 常规检查未见异常; 年龄 18~85 岁; 无恶性肿瘤史; 签署知情同意书。(3) 排除标准: 妊娠或哺乳期妇女; 入院前 4 周内使用抗生素及微生态制剂者; 合并有肠道疾病 (如胃肠道感染、炎症性肠病、肠易激综合征等) 及包括原发性肝癌在内的肿瘤患者; 经放化疗治疗患者及研究者认为不适合参加本研究者。所有研究对象均填写了一份关于他们饮食习惯和生活情况 (包括有无饮酒, 作息失调及近期处于焦虑、抑郁状态等) 的调查问卷。

### 1.3 粪便样本采集

留取研究对象的新鲜粪便 (排便后 2 小时内), 避免尿液、水分等对样本的污染, 用统一无菌粪便采集管采集粪便中间部分, 采集量以大于 200mg 为宜, 包装密封后置于 -80℃ 液氮待检。所有样本收集结束, 使用干冰冷冻统一送检。

### 1.4 肠道菌群检测与分析

将收集的粪便样本提取基因组 DNA, 应用 16SV3-V4 区域特异引物进行 PCR 扩增 (上游引物 CCTACGGGNGGCWGCAG, 下游引物 GACTACHVGGGTATCTAATCC)。扩增产物通过 2% 琼脂糖凝胶电泳进行检测, 采用 AMPure XT beads 回收试剂盒回收, 评估合格后进行上机测序; 使用 NovaSeq 6000 测序仪进行 2×250bp 的双端测序, 相应试剂为 NovaSeq 6000 SP Reagent Kit (500 cycles)。后进行拼接、过滤和 DADA2 去噪, 将序列聚类成为分类操作单元 (operational taxonomic units, OTUs), 对 OTUs 序列与以 NT-16S 数据库进行物种注释, 进一步分析 Alpha 多样与 Beta 多样性, 并进行组间差异的比较, 揭示不同组别群落结构的差异特征。

### 1.5 统计学分析

根据样本情况选择不同的统计学方法: 所有数据首先进行正态性检验 (Shapiro-Wilktest), 对于符合正态分布的数据, 采用 t-test 或 ANOVA 进行组间比较。对于非正态分布的数据, 采用 Mann-Whitney U test 或 Kruskal-Wallis test 进行比较。p<0.05 为差异具有统计学意义。所有统计分析均使用 SPSS 软件 (版本 25.0) 进行。

## 2 结果

### 2.1 基本特征

36 例健康对照组人群和 37 例肝硬化患者性别、年龄、ALT 与血肌酐比较, 差异无统计学差异, 而 AST、总胆红素、白蛋白、白细胞、血小板、PT 与 APTT 比较, 差异均存在统计学差异 (见表 1); 根据 child-pugh 分级, child A 组、child B 组与 child C 组的年龄、ALT、AST、血肌酐、白细胞与血小板比较, 差异均无统计学意义 (见表 2)。

### 2.2 各组检测基线特征

组间重叠的 Venn 图显示, 4476 个扩增子序列变异 (ASV) 中有 394 个在三组之间共享, 而 4166 个 ASV 中有 856 个在 child A 组和 child B 组之间共享; 3637 个 ASV 中有 421 个在在 child A 组和 child C 组

之间共享; 2165 个 ASV 中有 421 个在在 child B 组和 child C 组之间共享。值得注意的是, 4476 例 ASV 中在 child A 组、child B 组和 child C 组独有的分别为 2311 个、839 个和 310 个 (见图 1)。

### 2.3 各组肠道菌群 Alpha 多样性分析

对四组人群物种丰度进行统计。根据稀释曲线分析, 四组人群的物种丰富度接近饱和 (见图 2)。在物种水平上, 四组的 Chao1 指数显示不同组别间群落丰富度存在显著差异, 并且 ZC>Child A>Child B>Child C (见图 3a); 而 Shannon 指数与 Simpson 指数反映着各组物种的多样性, 此次研究结果显示, Child A 组、Child B 组与 Child C 组的 Shannon 指数与 Simpson 指数均显著低于 ZC 组, 并且根据各 child-pugh 分组结果对比显示, 随着肝脏储备功能的下降, 其多样性逐步下降 (见图 3b, 图 3c)。

### 2.4 各组肠道菌群 Beta 多样性分析

基于 bray\_curtis 距离矩阵进行分析, PCoA (PCoA1+PCoA2=19.9%) 图显示, Child A 组、Child B 组和 Child C 组菌群结构偏离 ZC 组 (见图 4)。

表 1 健康对照组与肝硬化组基线资料比较

项目	健康对照组 (36 例)	肝硬化组 (37 例)	P-value
男性 n= (%)	23 (63.9%)	21 (56.8%)	0.534
年龄 (岁)	61.5 (10.0)	66.0 (19.0)	0.097
ALT (U/L)	20.1 (15.6)	18.7 (16.0)	0.886
AST (U/L)	18.1 (5.8)	39.1 (36.9)	0.000
IBil (umol/L)	11.3 (6.1)	24.1 (50.4)	0.000
albumin (g/L)	47.5 (5.0)	33.3 (7.6)	0.000
Scr (umol/L)	72.0 (25.8)	74.0 (42.5)	0.323
WBC (×10 <sup>9</sup> /L)	6.5 (2.7)	3.8 (2.2)	0.000
PLT (×10 <sup>9</sup> /L)	231.0 (55.5)	103.0 (81.5)	0.000
PT (s)	10.4 (0.7)	13.4 (3.6)	0.000
APTT (s)	26.9 (2.2)	30.2 (4.9)	0.000

表 2 各 child-pugh 分级组基线资料比较

项目	childA	childB	childC	childA vs childB vs childC	childA vs childB	childA vs childC	childB vs childC
年龄 (岁)	69.5 (20.5)	62.0 (15.0)	60.5 (37.3)	p=0.928	-	-	-
ALT (U/L)	18.0 (14.9)	22.8 (26.4)	16.9 (12.7)	p=0.524	-	-	-
AST (U/L)	36.0 (33.7)	32.6 (65.0)	44.7 (48.5)	p=0.578	-	-	-
TBil (uinol/L)	36.0 (33.7)	32.6 (65.0)	44.7 (48.5)	p=0.001	p=0.031	p=0.002	p=0.801
albinniii (g/L)	37.5 (5.0)	30.8 (4.9)	26.6 (4.2)	p=0.000	p=0.002	p=0.000	p=0.852
Scr (umol/L)	70.5 (34.0)	82.0 (45.5)	38.5 (177.5)	p=0.300	-	-	-
WBC (×10 <sup>9</sup> /L)	3.7 (2.0)	3.9 (3.1)	4.3 (9.5)	p=0.766	-	-	-
PLT (×10 <sup>9</sup> /L)	106.0 (61.0)	118.0 (173.5)	53.5 (55.5)	p=0.160	-	-	-
PT (s)	12.9 (1.6)	13.7 (2.5)	18.7 (7.7)	p=0.000	p=0.097	p=0.000	p=0.106
APTT (s)	28.7 (3.9)	30.4 (4.6)	46.7 (18.7)	p=0.001	p=0.537	p=0.000	p=0.061

注: ALT: 丙氨酸转氨酶; AST: 天冬氨酸转氨酶; TBil: 总胆红素; albumin: 白蛋白; Scr: 血肌酐; WBC: 白细胞计数, PLT: 血小板计数; PT: 凝血酶原时间; APTT: 部分凝血酶原时间。

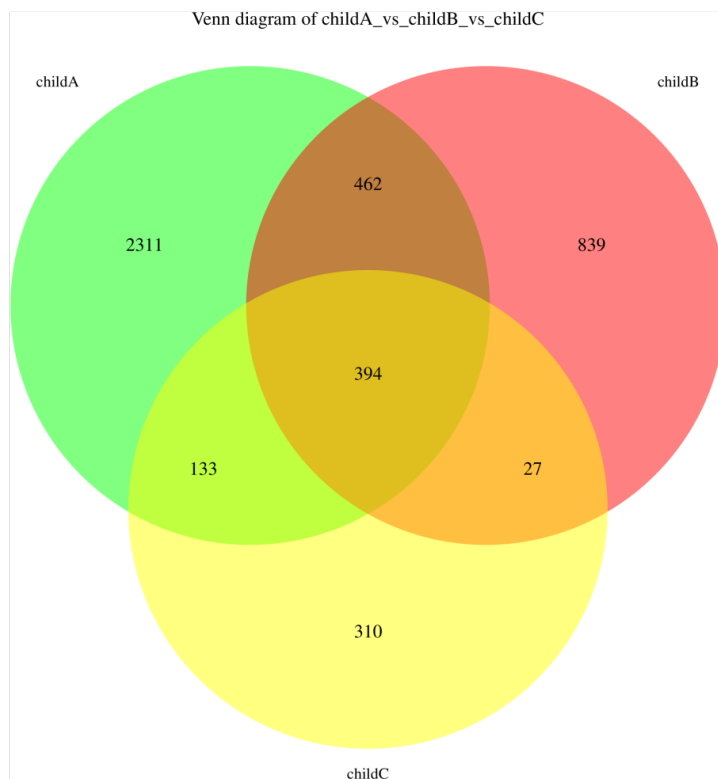


图 1 三组 child 分组 Venn 图

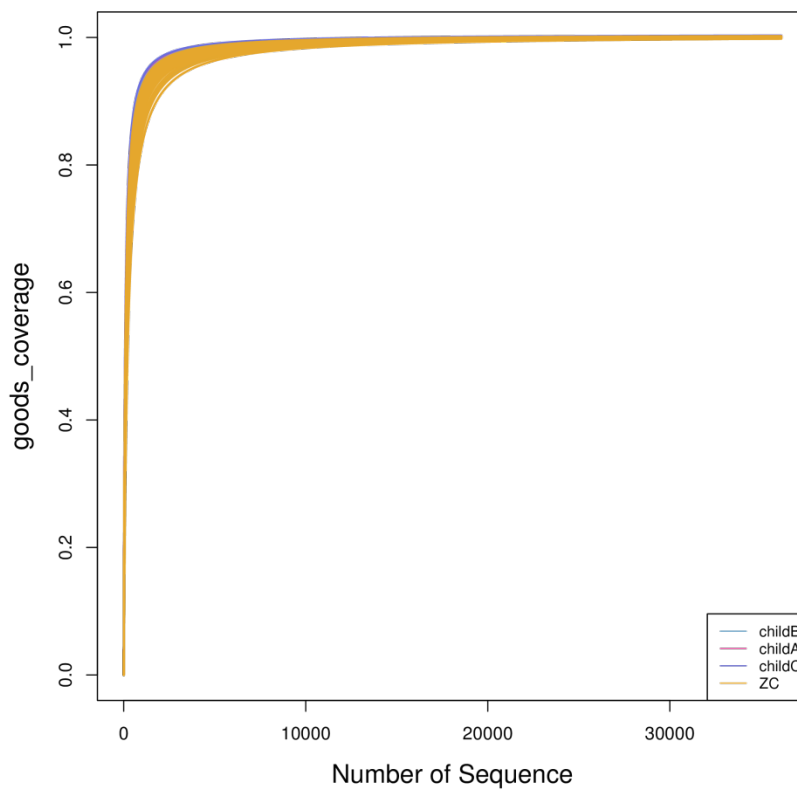


图 2 四组人群稀释曲线

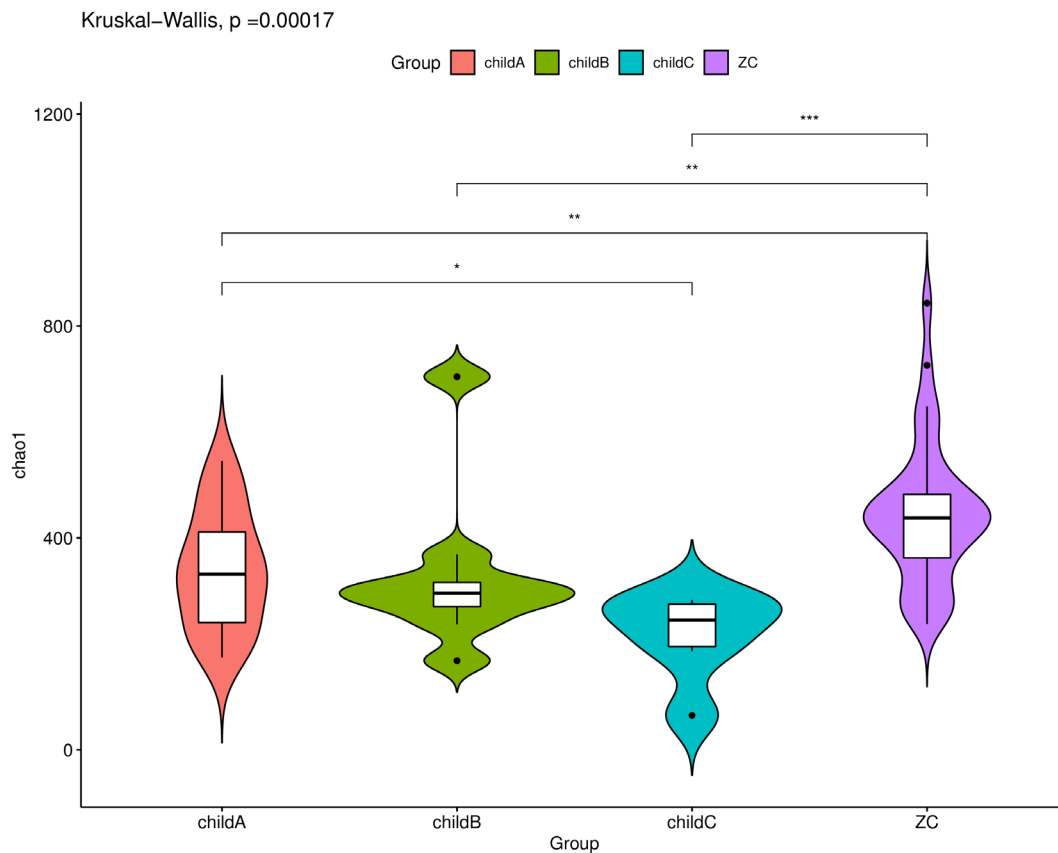


图 3a 四组人群 Chao1 指数图

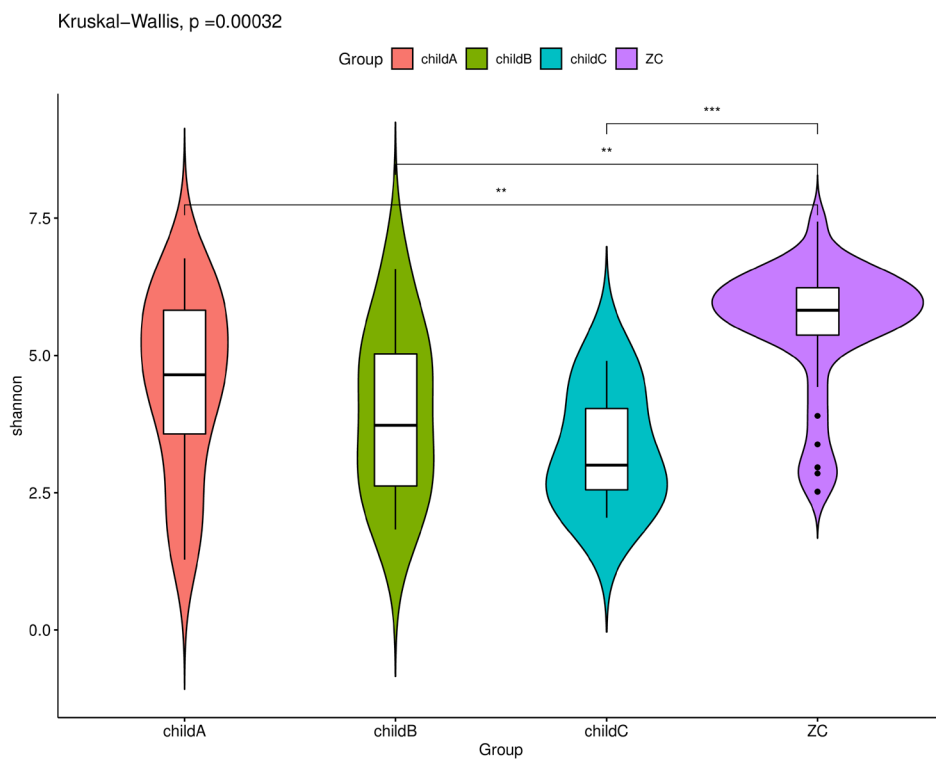


图 3b 四组人群 Shannon 指数图

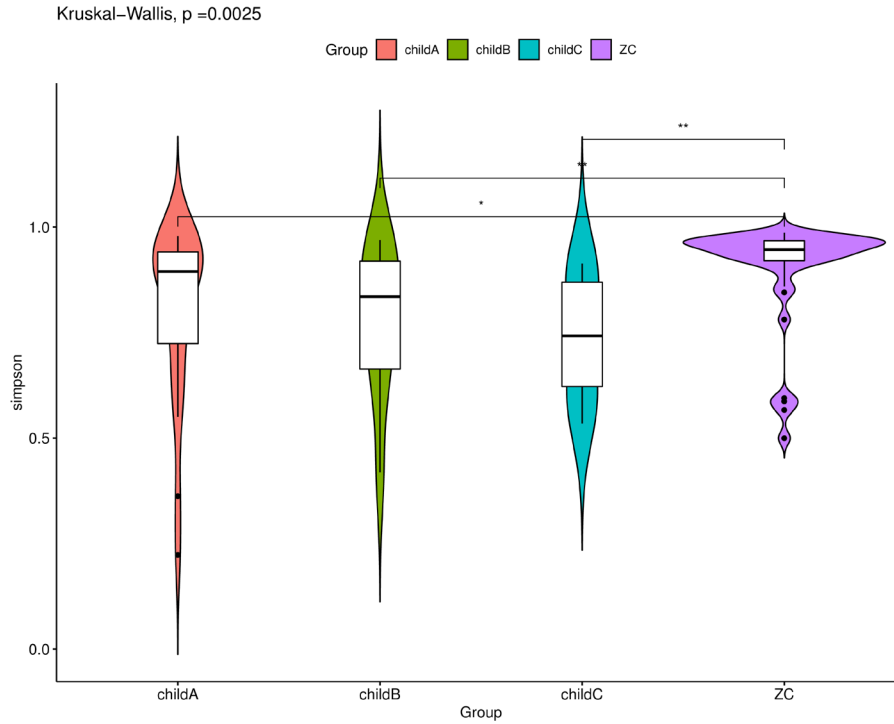


图 3c 四组人群 Simpson 指数图

注：左上角的 p 值是图中所有分组使用秩和检验所得 p 值，其中两两分组差异显著性会以\*表示差异显著，\*\*表示差异极显著，ns 表示表示无显著差异。ZC 组=健康对照组。

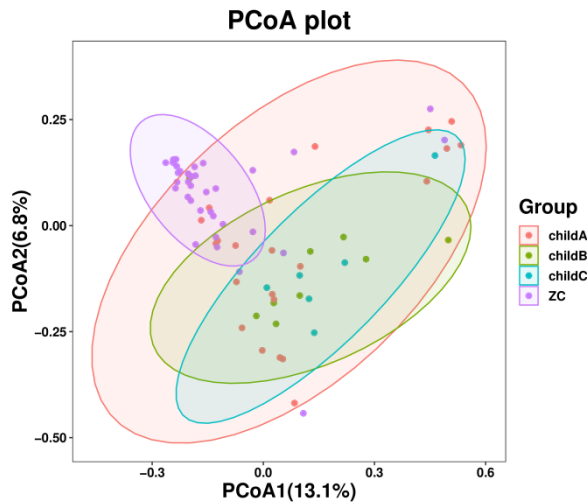


图 4 四组人群 β 多样性分析

## 2.5 各组差异物种分析

### 2.5.1 门、科、属水平物种丰度分析

根据物种相对丰度表，将各分类水平相对丰度 TOP30 个的群落通过热图加以呈现，分别在门、属级水平上做比较。结果显示，在门水平上，与 ZC 组相比，Child A 组、Child B 组与 Child C 组的变形菌门 (Proteobacteria) 丰度均升高，并且随着肝脏储备功能

的下降，也就是从 Child A、Child B、Child C 三组对比显示，肝脏储备功能越差，Proteobacteria 丰度越高；但与之相反，Child A 组、Child B 组与 Child C 组的芽单胞菌门 (Gemmatimonadota)、脱硫杆菌门 (Desulfobacterota) 丰度均低于 ZC 组，并且肝脏储备功能越差，其丰度越低。此外，与 ZC 组相比，Child A 组、Child B 组与 Child C 组的装甲菌门

(Armatimonadota)、蓝菌门(Cyanobacteria)丰度明显下降,但它们三组之间丰度差异并不明显(见图 5a)。

在科水平上, Child A 组、Child B 组与 Child C 组的 Ruminococcaceae、颤螺旋菌科(Oscillospiraceae)、Coriobacteriaceae、Erysipelatoclostridiaceae、丹毒丝菌科(Erysipelotrichaceae)、拟杆菌科(Bacteroidaceae)、脱硫弧菌科(Desulfovibrionaceae)丰度亦逐渐下降,且均低于 ZC 组;而肠杆菌科(Enterobacteriaceae)和 Streptococcaceae 在三个肝硬化组中的丰度均高于 ZC 组,并且在三个肝硬化组中,Enterobacteriaceae 丰度在 Child A 组中最低,在 Child C 组中最高(见图 5b)。

而在属水平上,与 ZC 组相比,Child A 组、Child B 组和 Child C 组的 Ruminococcus、Collinsella、布劳特氏菌属(Blautia)、Roseburia、Erysipelotrichaceae\_UCG-003、小杆菌属(Dialister)、琼脂杆菌属(Agathobacter)、罕见小球菌属(Subdoligranulum)、Faecalibacterium、Bacteroides、普氏菌属(Prevotella\_9)等丰度均下降,并且随着肝脏储备功能下降,其丰度也逐渐下降;

此外,结果还显示,三个肝硬化组的 Escherichia-

Shigella、Streptococcus 均高于 ZC 组,但三组之间并无太大差异(见图 5c)。

此项研究中,我们还选择了丰度 top5 的菌群,通过 Circos 圈图展示的各组间的分布状况,其反映着每个样本组的优势物种组成比例,以及各优势物种在不同样本组之间的分布比例。

从图中可以得出,在属水平上,所检测到的丰度最高的 5 个菌属分别为: Escherichia - Shigella、Streptococcus、Faecalibacterium、Bifidobacterium 和 Bacteroides。其中,Child A 组、Child B 组和 Child C 组中的 Escherichia-Shigella 占比分别为 21.60%、14.45% 和 15.85%,均高于 ZC 组的 6.88%;而 Streptococcus 在 Child A 组、Child B 组和 Child C 组占比分别为 12.69%、11.42% 和 11.60%,也均高于 ZC 组的 3.49%。但 Faecalibacterium 和 Bacteroides 在 Child A 组、Child B 组和 Child C 组中的占比低于 ZC 组, Faecalibacterium 在 ZC 组、Child A 组、Child B 组和 Child C 组占比分别为 10.75%、5.71%、2.04% 和 0.78%; Bacteroides 在 ZC 组、Child A 组、Child B 组和 Child C 组占比分别为 7.41%、5.37%、3.14% 和 2.53%(见图 6)。

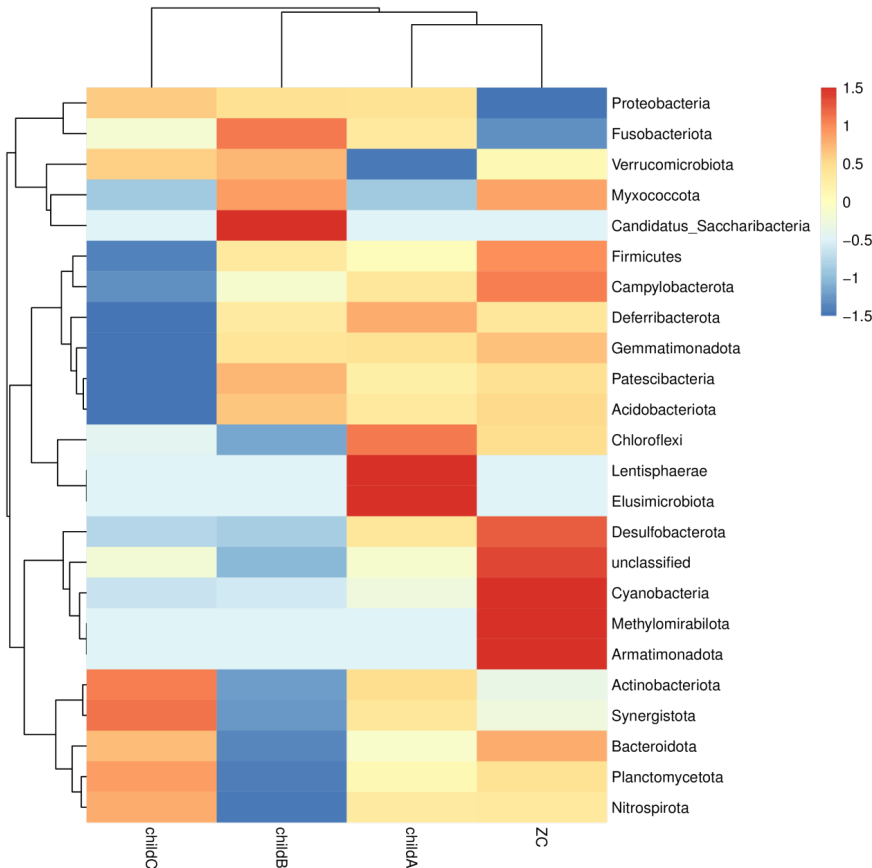


图 5a 门水平物种丰度热图

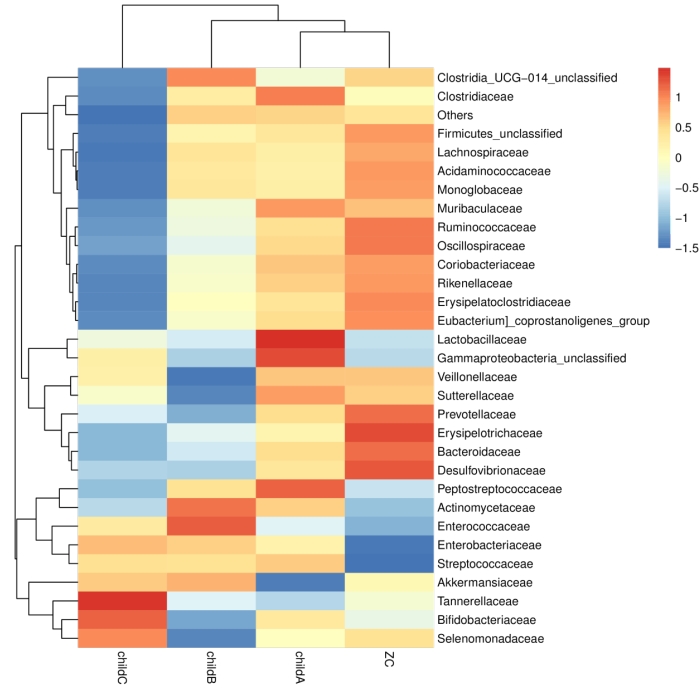


图 5b 科水平物种丰度热图

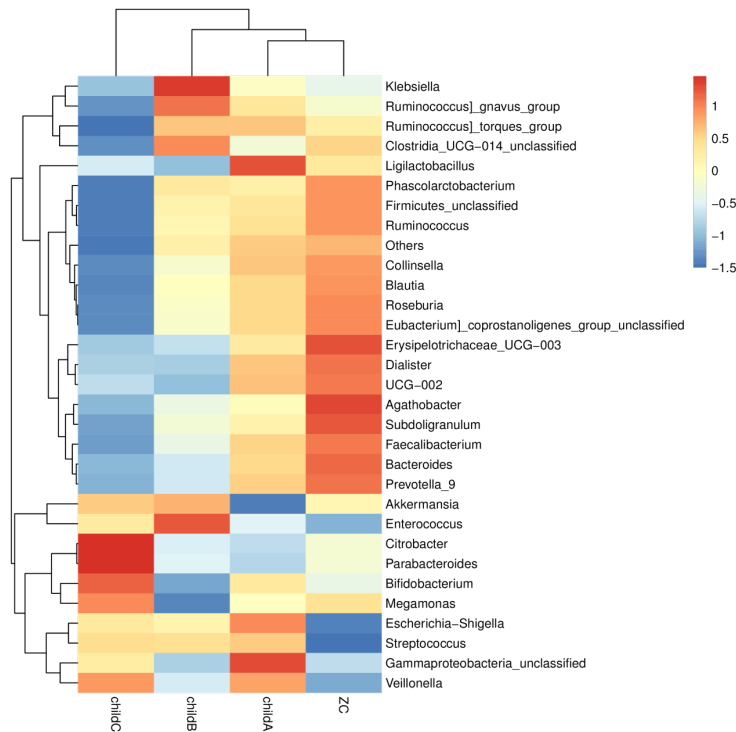


图 5c 属水平物种丰度热图

注：图中每行代表物种，每列代表分组，图中用蓝色到红色的渐变色反映丰度由低到高的变化，越趋近于蓝色，丰度越低，越趋近于红色，丰度越高。Proteobacteria=变形菌门，Gemmatimonadota=芽单胞菌门，Desulfobacterota=脱硫杆菌门，Armatimonadota=装甲菌门，Cyanobacteria=蓝菌门，Ruminococcaceae=瘤胃球菌科，Oscillospiraceae=颤螺旋菌科，Coriobacteriaceae=红螬菌科，Erysipelatoclostridiaceae=丹毒杆菌科，Erysipelotrichaceae=丹毒丝菌科，Bacteroidaceae=拟杆菌科，Desulfovibrionaceae=脱硫弧菌科，Enterobacteriaceae=肠杆菌科，Streptococcaceae=链球菌科，Ruminococcus=瘤胃球菌属，Collinsella=柯林斯氏菌属，Blautia=布劳特氏菌属，Roseburia=罗氏菌属，Dialister=小杆菌属，Agathobacter=琼脂杆菌属，Subdoligranulum=罕见小球菌属，Faecalibacterium=粪杆菌属、Bacteroides=拟杆菌属、Prevotella\_9=普氏菌属，Escherichia-Shigella=大肠杆菌-志贺菌属，Streptococcus=链球菌属。



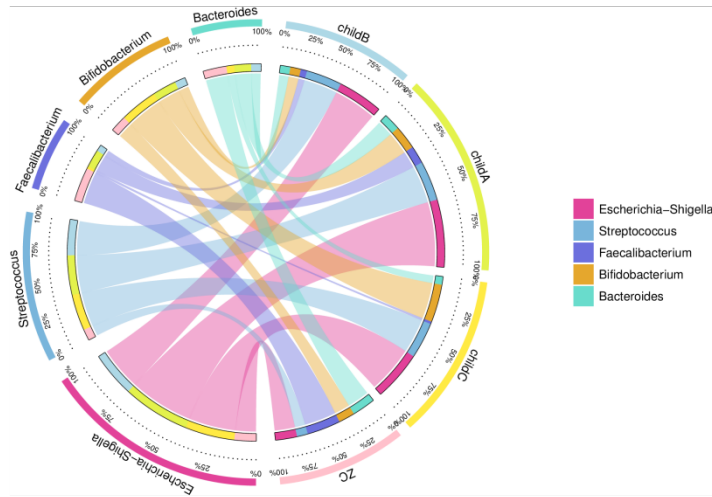


图 6 属水平物种丰度圈图

注：左半部分是丰度 top5 的门以及其对应的丰度信息，右半部分是按照分组展示的分组信息，所占宽度越宽，表示丰度越高，相反所占宽度越短，表示丰度越低。Bifidobacterium=双歧杆菌属。

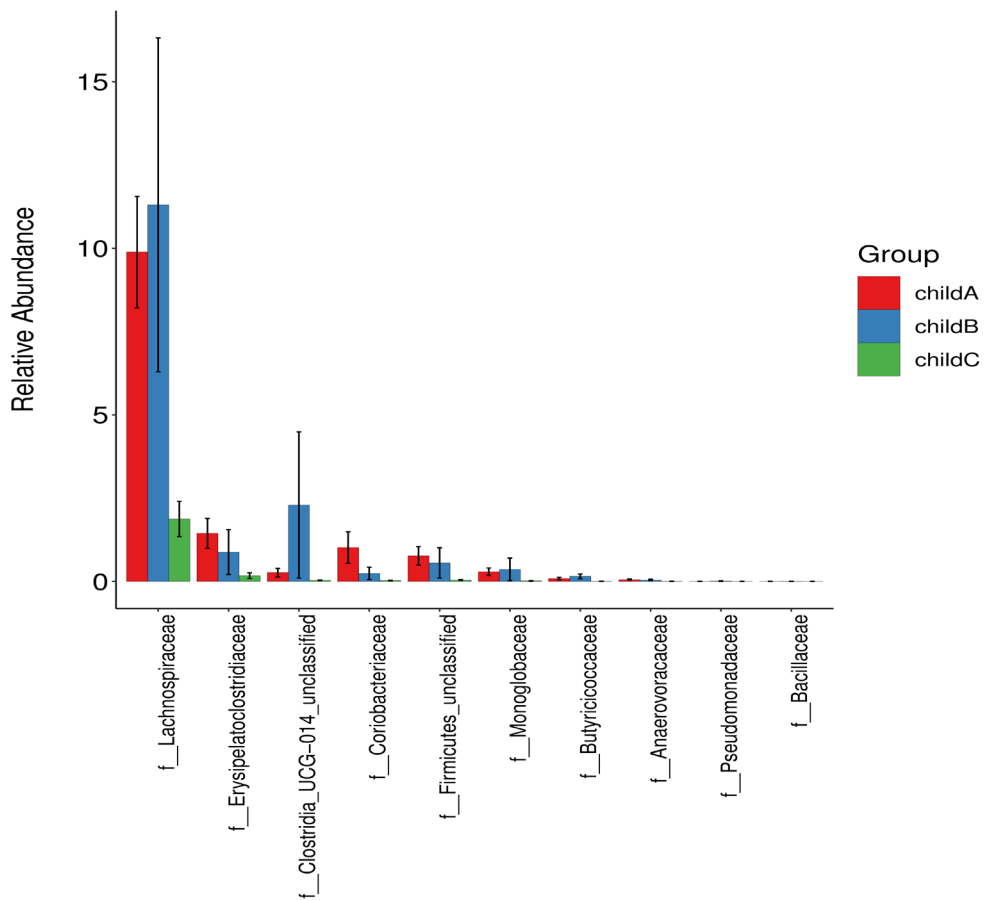


图 7a 三组 child 分组科水平物种差异分析

### 2.5.2 科、属水平差异物种分析

根据物种平均相对丰度, 对不同 Child 分级患者菌群检测结果进行 Mann-Whitney U test 检验, 筛选出 P 值<0.05 的差异菌属。从 Child A 组、Child B 组、Child C 对比结果显示, 肝脏储备功能越差, 科水平上, Erysipelatoclostridiaceae、Coriobacteriaceae 丰度越低, P 值分别为: 0.03 和 0.02; 而毛螺菌科(Lachnospiraceae) 是三个肝硬化组的差异菌属中, 丰度最高的菌属, P 值为: 0.03 (见图 7a)。属水平上, Collinsella、Fusicatenibacter 丰度也越低(见图 7b), P 值分别为: 0.02 和 0.04。

### 2.5.3 优势菌群分析

采用 LEfSe 分析对所有分类单元物种进行分析, 进一步筛选出不同 Child-pugh 分组的优势菌属。结果显示, Child A 组优势菌属为 Clostridia、Collinsella、

Fusicatenibacter 和 Ruminococcus; Child B 组优势菌属为 Clostridia\_UCG\_014、Dorea、沙门氏菌(Salmonella) 和单球菌 (Monoglobus); Child C 组优势菌属为 Faecalibaculum (见图 8)。

### 3 讨论

正常状态下的肠道菌群在机体中发挥着许多有益的作用, 如维持正常的免疫系统, 防止病原体定植, 营养物质的消化和吸收<sup>[10]</sup>。

但当各种因素影响下, 肠道菌群结构或丰度发生改变时, 相应的菌群代谢产物发生变化, 可能导致疾病的发生, 甚至疾病进展。而近年来, 随着宏基因组学及代谢组学的发展, 越来越多的研究表明, 肠道菌群失调与肝硬化发生、发展相关, 但对于肠道菌群在肝硬化失代偿期不同 child-pugh 分级下的菌群变化特征研究尚少。

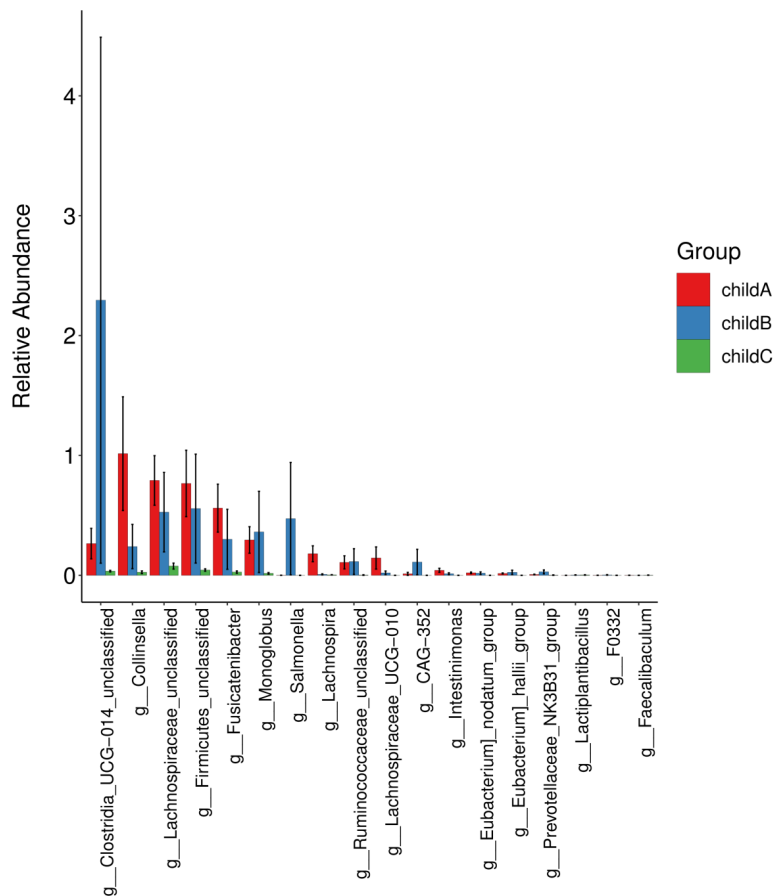


图 7b 三组 child 分组属水平物种差异分析

注: 图中横坐标代表差异物种 (按照丰度高从左到右排列), 纵坐标为相对丰度, 红色代表 childA 组、蓝色代表 childB 组、绿色代表 childC 组。Lachnospiraceae=毛螺菌科。

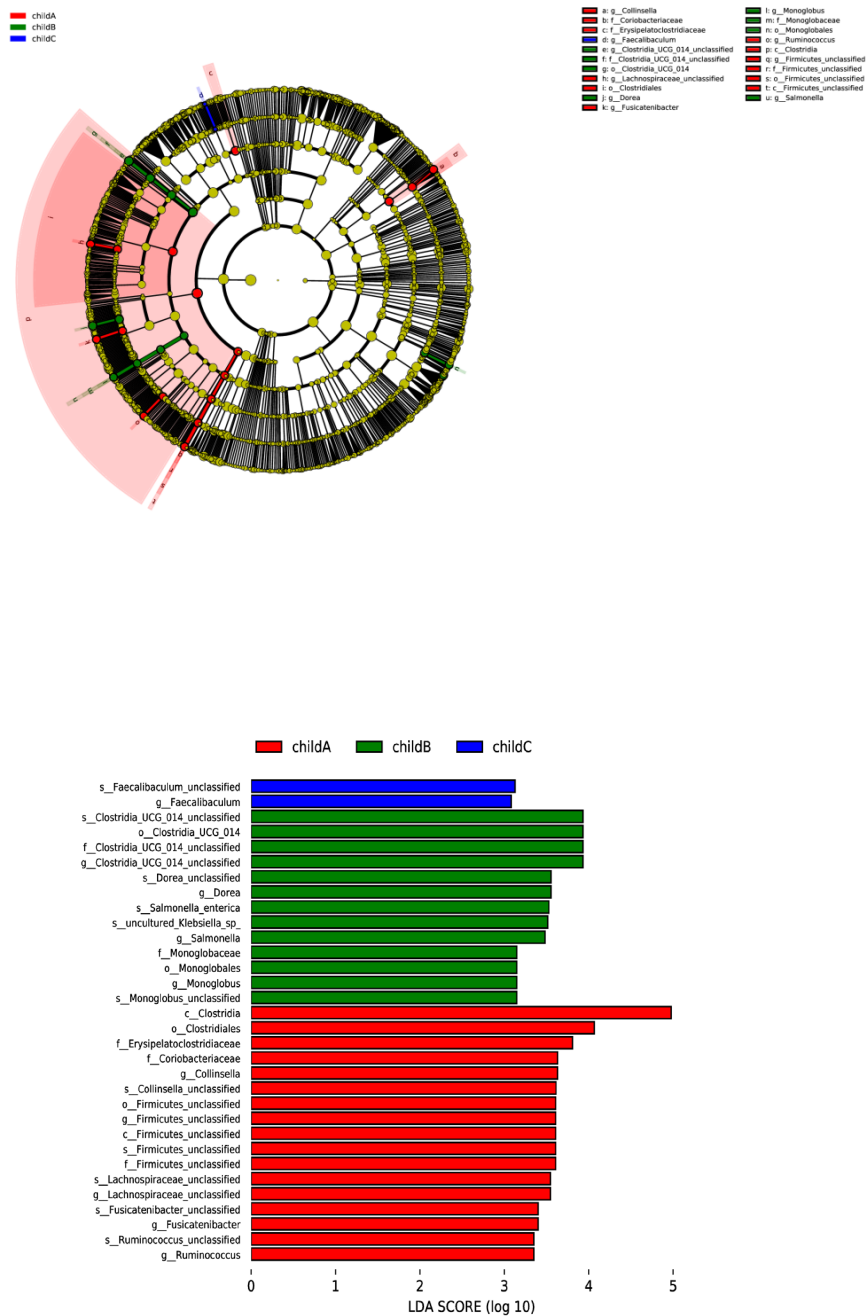


图 8 三组 child 分组肠道菌群 LEfSe 分析进化分支图与柱状图

注: Salmonella=沙门氏菌, Monoglobus=单球菌。

在本研究中, 我们通过 Alpha 多样性分析发现, 肝硬化患者的三个 child-pugh 分组与健康对照组的群落丰富度、物种多样性均存在显著差异, 且肝硬化患者肠道菌群的群落丰富度与物种多样性均低于健康对照

组, 同时, 随着肝脏储备功能的下降, 其群落丰富度、物种多样性均呈下降趋势。三组肝硬化人群物种多样性呈下降趋势, 这与 Heidrich 和 Ponziani 等<sup>[11,12]</sup>人研究肝硬化患者与健康人群结果一致。同时, 本研究中,

Beta 多样性分析显示肝硬化患者群落结构偏离健康人群。在物种丰度上, Proteobacteria 丰度高于健康人群等研究结果也与 Ponziani 等<sup>[12]</sup>人的研究结果一致, 但本研究中肝硬化患者 Cyanobacteria 丰度低于健康人群, 此结果与 Ponziani 等人的研究结果相反, 这可能与肝硬化病因不同有关, Ponziani 等人所研究的肝硬化人群主要为非酒精性脂肪性肝病相关肝硬化人群, 而我们此项研究中对肝硬化人群病因并未加以控制。此外, 属水平物种丰度上, Faecalibacterium、Roseburia 和 Ruminococcus 等菌属的丰度也随着肝脏储备能力下降而下降, 而这些菌属均为肠道内重要的丁酸盐产生菌。有研究发现<sup>[13]</sup>, 丁酸可能在慢性肾病 (CKD) 中具有肾保护作用, 可能通过 STING/NF- $\kappa$ B/p65 通路调节 nlrp3 介导的肾纤维化, 从而缓解肾纤维化。那么丁酸盐产生菌丰度的下降是否有可能导致代谢产物丁酸盐减少, 从而对肝脏储备能力造成影响, 这需要通过进一步检测微生物代谢产物加以验证。而 Juanola 等<sup>[14]</sup>人的研究进一步表明了丁酸循环水平与肝硬化患者门静脉高压症、内毒素血症及全身炎症呈负相关。这从逻辑上与我们研究结果中这些丁酸盐产生菌丰度随肝脏储备能力下降而降低一致。

通过 Circos 圈图展示结果显示, 属水平丰度最高的 5 个菌属分别为: Escherichia-Shigella、Streptococcus、Faecalibacterium、Bifidobacterium 和 Bacteroides, 并且各肝硬化组中 Escherichia-Shigella 和 Streptococcus 丰度均高于健康对照组, 而 Bacteroides 丰度均低于健康对照组。而同为一项对肝硬化人群肠道菌群及代谢产物的研究, Sharma 等<sup>[15]</sup>人对 142 例肝硬化患者进行微生物组分类分析, 针对肠道微生物群、代谢物和并发症 (静脉曲张、腹水、腹膜炎、脑病、肝肾综合征、肝细胞癌和死者) 的存在进行相关性分析, 研究发现, 所有并发症中 Bacteroidetes 丰度均显著降低, 并且他们的对肝硬化患者代谢物检测发现, 代谢物减少最多的前 5 位分别是 3-吡啶丙酸、丁酸、茉莉酸、壬二酸和粪胆素。我们此次研究中肝硬化人群 Bacteroides 丰度降低及产丁酸盐菌属丰度下降结果与之相符。Gedgudas 等<sup>[16]</sup>人研究发现, 肝硬化患者的外周和肝静脉血室的 Dialister、Escherichia-Shigella 和 Prevotella 较健康对照组富集, 且与 Escherichia-Shigella 和 Prevotella 与严重门脉高压有关。而门脉高压则是腹水形成的一大原因, 肠道菌群紊乱可能导致更为严重的门脉高压形成, 从而加重腹水生成, 最后致使肝脏储备能力下降。而 Hu 等<sup>[17]</sup>人在研究克罗恩病 (CD) 的肠道菌群时发现,

Escherichia-Shigella 丰度与 CRP 和白细胞计数呈正相关, 但与白蛋白呈负相关。同时, Hu 等<sup>[17]</sup>人还发现, Escherichia-Shigella 的丰度升高伴随着短链脂肪酸 (SCFA) 产生菌的丰度降低, 且与之呈负相关。Zhong 等<sup>[18]</sup>人研究也发现, 酒精性肝硬化中 Streptococcus 显著富集, 并且其作为优势菌, 与肝功能指标密切相关, 其相对丰度与 TBIl、AST、AST/ALT 呈正相关, 与 a/G 负相关。而本次研究中, Streptococcus 丰度在肝硬化中也存在富集情况。但由于资金有限, 此次的研究没有进一步分析差异菌属与相关生化指标之间的相关性, 因此, Escherichia-Shigella 在肝硬化患者机体中是否与白蛋白等指标存在相关性, 以及其在肝硬化中, Streptococcus 是否与肝功能指标也存在相关性, 仍需进一步研究。

此次研究还发现, 作为属水平上的差异菌群 ( $P < 0.05$ ), Fusicatenibacter、Collinsella 丰度随着肝脏储备能力的下降而逐渐下降。Zhang 等<sup>[19]</sup>人研究发现, 与正常组相比, 肝硬化组的 Fusicatenibacter 丰度降低, 这与我们的结果一致。而 Hirayama 等<sup>[20]</sup>人在研究 COVID-19 感染患者的肠道菌群特征时发现, Collinsella 可生产的熊去氧胆酸 (ursodiol, UDCA), 并抑制 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-2、IL-4 和 IL-6 等促炎细胞因子导致的细胞因子风暴综合征。而近期, 有研究发现<sup>[21]</sup>, 高剂量 UDCA 可以通过改变非酒精性脂肪性肝炎 (Nonalcoholic Steatohepatitis, NASH) 小鼠的肠道菌群组成和血清胆汁酸谱, 从而减轻 NASH 小鼠的肝脏炎症。那么, 此次研究结果显示 Collinsella 丰度在肝硬化中下降, 并且随着肝脏储备功能下降, 其丰度呈下降趋势。那么, Collinsella 是否有可能致使肝硬化患者体内 UDCA 生产水平下降, 从而导致肝脏炎症的加剧, 病情损伤程度的进展, 这仍需进一步研究。

此次研究通过 16SrDNA 测序技术比较分析了肝硬化患者与健康人群的肠道菌群特征, 并探索了不同 Child-pugh 分级下, 随着肝脏储备能力的下降, 其肠道菌群变化特征, 能够更加完整、直观的体现肠道菌群在肝硬化失代偿期的菌群变化特征; 此次研究局限性: 首先, 资金有限, 样本量较小, 可能存在一定的统计偏倚; 其次, 由于此研究为横断面研究, 它只能反映不同 child-pugh 分级下患者总体的肠道菌群情况, 无法具体展现肝硬化失代偿期合并不同并发症的肠道菌群特征; 最后, 16SrDNA 高通量测序技术只能反映菌群特征, 无法进行菌群代谢产物、菌群功能及菌群致病机制等的深入研究。

## 参考文献

- [1] Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome[J]. *Nature* 2012;486:207–14.
- [2] Qin J, Li R, Raes J, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing[J]. *Nature*. 2010;464(7285):59-65.
- [3] Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, et al. Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life[J]. *Cell Host Microbe*. 2015;17(6):852.
- [4] Chen Y, Zhou J, Wang L. Role and Mechanism of Gut Microbiota in Human Disease[J]. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11:625913.
- [5] Trebicka J, Macnaughtan J, Schnabl B, et al. The microbiota in cirrhosis and its role in hepatic decompensation[J]. *J Hepatol*. 2021;75 Suppl 1(Suppl 1):S67-S81.
- [6] Kassa Y, Million Y, Gedefie A, et al. Alteration of Gut Microbiota and Its Impact on Immune Response in Patients with Chronic HBV Infection: A Review[J]. *Infect Drug Resist*, 2021,14:2571-2578.
- [7] Trebicka J, Hernaez R, Shawcross DL, et al. Recent advances in the prevention and treatment of decompensated cirrhosis and acute-on-chronic liver failure (ACLF) and the role of biomarkers[J]. *Gut*. 2024;73(6):1015-1024.
- [8] Ma J, Li J, Jin C, et al. Association of gut microbiome and primary liver cancer: A two-sample Mendelian randomization and case-control study[J]. *Liver Int*. 2023;43(1):221-233.
- [9] 中华医学会肝病学会.肝硬化诊治指南(2019年版)[J]. *中华肝脏病杂志*, 2019,11:846-865.
- [10] Albhaisi SAM, Bajaj JS, Sanyal AJ. Role of gut microbiota in liver disease[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2020;318(1):G84-G98.
- [11] Heidrich B, Vital M, Plumeier I, et al. Intestinal microbiota in patients with chronic hepatitis C with and without cirrhosis compared with healthy controls[J]. *Liver Int*. 2018;38(1):50-58.
- [12] Ponziani FR, Bhoori S, Castelli C, et al. Hepatocellular Carcinoma Is Associated With Gut Microbiota Profile and Inflammation in Nonalcoholic Fatty Liver Disease[J]. *Hepatology*. 2019;69(1):107-120.
- [13] Tian X, Zeng Y, Tu Q, et al. Butyrate alleviates renal fibrosis in CKD by regulating NLRP3-mediated pyroptosis via the STING/NF- $\kappa$ B/p65 pathway[J]. *Int Immunopharmacol*. 2023; 124(Pt B):111010.
- [14] Juanola O, Ferrusquía-Acosta J, García-Villalba R, et al. Circulating levels of butyrate are inversely related to portal hypertension, endotoxemia, and systemic inflammation in patients with cirrhosis[J]. *FASEB J*. 2019;33(10):11595-11605.
- [15] Sharma SP, Gupta H, Kwon GH, et al. Gut microbiome and metabolome signatures in liver cirrhosis-related complications[J]. *Clin Mol Hepatol*. Published online July 25, 2024.
- [16] Gedgudas R, Bajaj JS, Skieceviciene J, et al. Circulating microbiome in patients with portal hypertension[J]. *Gut Microbes*. 2022;14(1):2029674.
- [17] Hu J, Cheng S, Yao J, et al. Correlation between altered gut microbiota and elevated inflammation markers in patients with Crohn's disease[J]. *Front Immunol*. 2022;13:947313.
- [18] Zhong X, Cui P, Jiang J, et al. Streptococcus, the Predominant Bacterium to Predict the Severity of Liver Injury in Alcoholic Liver Disease[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021,11:649060.
- [19] Zhang W, Xu X, Cai L, et al. Dysbiosis of the gut microbiome in elderly patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Sci Rep*. 2023;13(1):7797.
- [20] Hirayama M, Nishiwaki H, Hamaguchi T, et al. Intestinal Collinsella may mitigate infection and exacerbation of COVID-19 by producing ursodeoxycholate[J]. *PLoS One*. 2021;16(11):e0260451.
- [21] Li H, Wang M, Chen P, et al. A high-dose of ursodeoxycholic acid treatment alleviates liver inflammation by remodeling gut microbiota and bile acid profile in a mouse model of non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Biomed Pharmacother*. 2024;174: 116617.

版权声明: ©2025 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC) 所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS