

基于高通量测序分析早期新生儿肠道和咽部微生物菌群

王学娟^{1,2} 邵志英¹ 朱敏蓉¹ 游铭钰² 张宇涵² 陈筱青²

(1.上海市浦东新区妇幼保健院新生儿科, 上海 201206;

2.南京医科大学第一附属医院儿科, 江苏南京 210029)

[摘要] **目的** 初步探讨早期新生儿肠道和咽部微生物群的分布特点及相关性。**方法** 选取上海市浦东新区妇幼保健院 2021 年 9 月—2022 年 1 月出生的混合喂养的足月健康新生儿为研究对象。采用 16S rRNA 基因测序技术分析新生儿出生当天及出生后 5~7 d 的粪便和咽拭子样本, 分析比较早期新生儿肠道和咽部微生物群的组成及功能差异。**结果** 多样性分析表明, 早期新生儿咽部微生物群的多样性高于肠道, 但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。门水平上, 出生当天肠道变形菌门相对丰度高于咽部 ($P<0.05$); 出生后 5~7 d 肠道放线菌门和变形菌门相对丰度高于咽部、厚壁菌门相对丰度低于咽部 ($P<0.05$)。属水平上, 出生当天肠道和咽部的优势菌属组成差异无统计学意义 ($P>0.05$); 出生后 5~7 d 肠道和咽部的链球菌属、葡萄球菌属、罗氏菌属、双歧杆菌属及埃希菌-志贺菌属等共生菌差异有统计学意义 ($P<0.05$)。直系同源序列聚类数据库分析显示, 咽部菌群更多地集中在染色质结构和动力学及细胞骨架上, 而肠道菌群在 RNA 加工修饰、能量生成和转换、氨基酸转运代谢、碳水化合物转运代谢、辅酶转运和代谢等方面表现丰富 ($P<0.05$)。京都基因和基因组百科全书分析显示, 与咽部菌群相比, 肠道菌群对细胞运动、细胞进程和信号转导、内分泌系统、排泄系统、免疫系统、代谢性疾病、神经系统和转录功能参数的预测程度更高 ($P<0.05$)。**结论** 新生儿出生时肠道和咽部的微生物群组成及多样性无显著差异, 随着出生时间的推移, 两个生态位的微生物群组成开始出现分化, 并逐渐显现出各自不同的功能。

[中国当代儿科杂志, 2023, 25 (5): 508-515]

[关键词] 肠道菌群; 咽部菌群; 肠-肺轴; 16S rRNA 测序; 新生儿

Intestinal and pharyngeal microbiota in early neonates: an analysis based on high-throughput sequencing

WANG Xue-Juan, SHAO Zhi-Ying, ZHU Min-Rong, YOU Ming-Yu, ZHANG Yu-Han, CHEN Xiao-Qing. Department of Pediatrics, First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China (Chen X-Q, Email: chenxq2002@foxmail.com)

Abstract: Objective To investigate the distribution characteristics and correlation of intestinal and pharyngeal microbiota in early neonates. **Methods** Full-term healthy neonates who were born in Shanghai Pudong New Area Maternal and Child Health Hospital from September 2021 to January 2022 and were given mixed feeding were enrolled. The 16S rRNA sequencing technique was used to analyze the stool and pharyngeal swab samples collected on the day of birth and days 5-7 after birth, and the composition and function of intestinal and pharyngeal microbiota were analyzed and compared. **Results** The diversity analysis showed that the diversity of pharyngeal microbiota was higher than that of intestinal microbiota in early neonates, but the difference was not statistically significant ($P>0.05$). On the day of birth, the relative abundance of *Proteobacteria* in the intestine was significantly higher than that in the pharynx ($P<0.05$). On days 5-7 after birth, the relative abundance of *Actinobacteria* and *Proteobacteria* in the intestine was significantly higher than that in the pharynx ($P<0.05$), and the relative abundance of *Firmicutes* in the intestine was significantly lower than that in the

[收稿日期] 2023-01-05; [接受日期] 2023-03-24

[基金项目] 江苏省妇幼健康重点人才(苏卫办妇幼[2021]9号)。

[作者简介] 王学娟, 女, 硕士, 主治医师。

[通信作者] 陈筱青, 女, 副教授。Email: chenxq2002@foxmail.com。

pharynx ($P<0.05$). At the genus level, there was no significant difference in the composition of dominant bacteria between the intestine and the pharynx on the day of birth ($P>0.05$), while on days 5-7 after birth, there were significant differences in the symbiotic bacteria of *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Rothia*, *Bifidobacterium*, and *Escherichia-Shigella* between the intestine and the pharynx ($P<0.05$). The analysis based on the database of Clusters of Orthologous Groups of proteins showed that pharyngeal microbiota was more concentrated on chromatin structure and dynamics and cytoskeleton, while intestinal microbiota was more abundant in RNA processing and modification, energy production and conversion, amino acid transport and metabolism, carbohydrate transport and metabolism, coenzyme transport and metabolism, and others ($P<0.05$). The Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes analysis showed that compared with pharyngeal microbiota, intestinal microbiota was more predictive of cell motility, cellular processes and signal transduction, endocrine system, excretory system, immune system, metabolic diseases, nervous system, and transcription parameters ($P<0.05$).

Conclusions The composition and diversity of intestinal and pharyngeal microbiota of neonates are not significantly different at birth. The microbiota of these two ecological niches begin to differentiate and gradually exhibit distinct functions over time.

[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2023, 25(5): 508-515]

Key words: Intestinal microbiota; Pharyngeal microbiota; Gut-lung axis; 16S rRNA sequencing; Neonate

近年来,人体微生物群的研究受到越来越多的关注,尤其是“肠-肺轴”概念的提出,使肠道和肺部微生物群的研究得到了突破性的进展。肠-肺轴是一种双向轴,肠道和肺之间通过微生物群相互串扰,影响机体的稳态和疾病的进展^[1-2]。围生期作为体内微生态菌群定植及免疫介导效应形成的重要时期,也是肠道与肺部共生菌群之间发生交互作用的重要时期。已有研究表明,咽部微生物与下呼吸道微生物之间存在着大量重叠,咽部微生物可以在一定程度上反映呼吸道微生物的特征^[3]。目前对肠道和肺部微生物群间交互调控的时机研究较少^[4],且大部分集中在婴幼儿和年长儿^[5-6]。本研究采用16S rRNA测序技术探讨早期新生儿肠道和咽部微生物群的组成和功能,以期进一步探索肠-肺轴早期微生物群的特征,为早期预防和治疗疾病提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2021年9月—2022年1月出生于上海市浦东新区妇幼保健院的混合喂养的足月健康新生儿为研究对象。纳入标准:(1)37周≤胎龄<42周,顺产,单胎;(2)母亲无吸烟、酗酒、非法药物使用史,孕期体健,母亲无产前发热、羊水污染、胎膜早破,无围生期抗生素应用史;(3)母亲产前1个月内和/或新生儿生后均无益生菌制剂使用史。排除标准:(1)新生儿出生时有窒息、颅内出血等病史;(2)新生儿有先天性畸形或遗传代谢性疾病;(3)新生儿在研究期间患有高胆红素血症或其他新发疾病;(4)成对样本(粪便和咽拭子样本)采集不完整或重要临床资料数据不全

者。根据纳入和排除标准,最终纳入12例新生儿,平均胎龄为 (278 ± 4) d,平均出生体重为 $(3\,516\pm337)$ g,生后混合喂养(母乳与配方奶的比例为40%~60%,母乳为亲喂,配方奶为无益生菌相关物质添加的整蛋白牛乳配方)。按采样部位及采样时间不同分为4组,分别为S1(粪便,出生当天)、T1(咽拭子,出生当天)、S2(粪便,出生后5~7 d)、T2(咽拭子,出生后5~7 d)。本研究通过上海市浦东新区妇幼保健院伦理委员会批准(20210615B),新生儿监护人均知情并签署知情同意书。

1.2 样本采集

由经过培训的医护人员于新生儿出生当天和出生后5~7 d分别采集粪便和咽拭子样本。(1)粪便采样方法:使用一次性无菌粪便采样管采集新生儿生后首次胎粪及第5~7天自然排出的新鲜粪便3~5 g。(2)咽拭子采样方法:生后4~6 h内及第5~7天晨起沐浴时采样,采样前30 min不进食,用无菌采样拭子迅速擦拭其咽后壁及双侧颊弓后放入无菌冻存管,每次采集3份样本。采样完成编号后立即放入-40℃冰箱,1周内用干冰运送至实验室,放入-80℃冰箱保存待检。

1.3 资料收集

通过体格检查、询问病史的方式收集新生儿及其母亲的相关临床资料。

1.4 样本DNA提取、扩增及建库

采用Omega的E.Z.N.A.TM Mag-Bind Soil DNA Kit(型号M5635-02),按说明书提取粪便和咽拭子样本中微生物的总DNA。基于16S rRNA基因的V3—V4可变区通用引物(341F: 5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3', 805R: 5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3')进行2次聚合酶链反应(polymerase chain reaction,

PCR) 扩增。PCR 扩增产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 合格后使用荧光定量系统对文库进行定量, 再使用 Illumina Miseq™/HiSeq™ 平台对 PCR 扩增产物进行上机测序建库。

1.5 生物信息学分析

利用 USEARCH 软件, 将获得的有效序列按照 97% 相似度进行聚类, 得到操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU), 然后利用 RDP classifier 与 RDP 数据库 (<http://rdp.cme.msu.edu/misc/resources.jsp>) 比对, 对物种进行注释, 从而获得每个 OTU 对应的物种分类信息。样本检测及测序服务由上海生工生物工程股份有限公司完成。

1.6 统计学分析

应用 SPSS 26.0 统计学软件进行数据处理。利用 Mothur 软件计算生物多样性指数: Ace 指数和 Chao1 指数反映生物的丰富度, 指数越大, 表明丰富度越高; Shannon 指数和 Simpson 指数反映生物的多样性, Shannon 指数越大, 表明多样性越高, Simpson 指数则相反。利用 R 3.6.0 软件制作稀释性曲线图、主成分分析 (principal component analysis, PCA) 图及相对丰度柱状图。采用 STAMP 2.1.3 软件对不同生态位的差异类群进行分析。正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间

比较采用两样本 t 检验, 组内比较采用配对样本 t 检验; 非正态分布的计量资料以中位数 (四分位数间距) [$M(P_{25}, P_{75})$] 表示, 组间比较采用 Mann-Whitney U 检验, 组间相似性分析采用相似性分析法 (analysis of similarities, ANOSIM); 计数资料采用构成比 (%) 表示, 组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 高通量测序情况

所有样本进行 16S rRNA 测序后共获得原始序列 3 000 429 条, 经过滤处理后, 20% 的序列被去除, 最终用于后续分析的有效序列有 2 384 091 条, 平均碱基长度 (422 ± 6) bp, 基本覆盖数据库中 V3—V4 区的长度范围为 341~805 bp, 平均 460 bp。

2.2 稀释曲线

如图 1 所示, 随着测序量的增加, OTU 数目逐渐增加, 达到最大测序量时, 只有少数样本的曲线未达到饱和, 每个样本平均测序量均在 15 000 个读长以上, 结合各样本曲线形态说明本研究测序深度、覆盖度足够, 适合进行下一步分析比较。

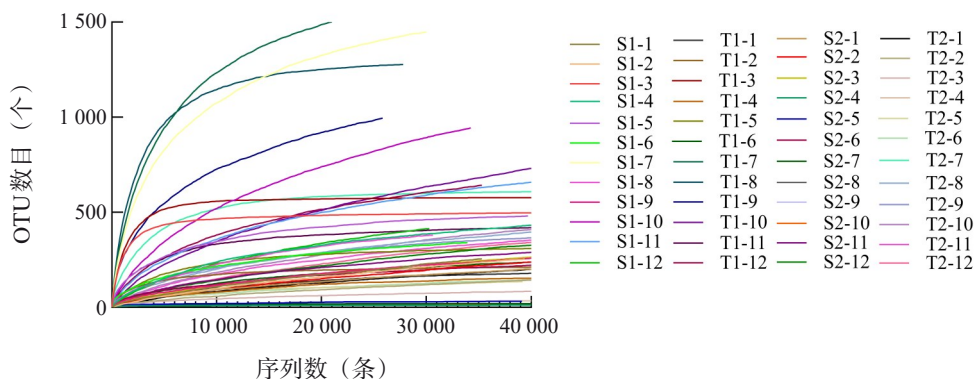


图1 OTU 稀释性曲线图 横轴为样本中随机抽取的序列数, 纵轴为该序列数下对应的 OTU 数目, 每条曲线代表一个样本。

2.3 生物多样性指数分析

2.3.1 α 多样性 由表 1~2 可见, 新生儿出生当天咽部菌群的多样性高于肠道、丰富度低于肠道, 至出生后 5~7 d 咽部菌群的多样性及丰富度均高于肠道, 但差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。

2.3.2 β 多样性 ANOSIM 分析结果显示, 各组组间差异大于组内差异 (R 值均 > 0), 除 S1 组与 T1 组组间差异无统计学意义外 ($P = 0.076$), 其余差异

均有统计学意义 ($P = 0.001$), 见表 3。为了比较肠道和咽部整体微生物群的组成, 基于 OTU 水平进行了 PCA 分析。由图 2 可见, 同一生态位的不同时间之间菌群明显分离, 组内菌群组成差异有统计学意义 ($P = 0.001$); 而同一时间的不同生态位之间菌群组成对比结果不同: 出生当天肠道和咽部微生物群的组成差异无统计学意义 ($P = 0.076$), 随着出生时间的推移, 出生后 5~7 d 肠道和咽部菌群的

组成差异逐渐增大，差异有统计学意义 ($P=0.001$)。

2.4 早期新生儿不同生态位微生物群结构的比较

2.4.1 门水平上肠道和咽部的微生物群组成
由图 3 可见，肠道和咽部的主要优势菌门均是变形菌门、厚壁菌门、放线菌门和拟杆菌门。与出生当天相比，新生儿出生后 5~7 d 肠道的变形菌门相对丰度下降 ($P=0.003$)，厚壁菌门 ($P=0.001$)、放线菌门 ($P=0.003$) 及拟杆菌门 ($P=0.021$) 相对丰度上升；咽部的变形菌门 ($P<0.001$) 及拟杆菌门 ($P=0.027$) 相对丰度下降，厚壁菌门相对丰度上升 ($P<0.001$)，放线菌门相对丰度差异无统计学意义 ($P=0.733$)。出生当天，肠道变形菌门的相对丰度高于咽部 ($P=0.005$)；出生后 5~7 d，肠道放线菌门和变形菌门的相对丰度高于咽部（分别 $P=0.021$ 、 0.019 ），厚壁菌门相对丰度低于咽部 ($P=0.021$)。

表 1 S1 与 T1 组间 α 多样性指数比较 [$M(P_{25}, P_{75})$]

项目	S1 组 ($n=12$)	T1 组 ($n=12$)	Z 值	P 值
Ace 指数	786.64 (554.29, 916.02)	514.57 (269.59, 1294.93)	-1.039	0.299
Chao1 指数	560.10 (531.99, 807.10)	514.71 (273.31, 1278.11)	-0.751	0.453
Shannon 指数	1.50 (0.55, 3.15)	2.18 (1.23, 4.70)	-1.097	0.273
Simpson 指数	0.46 (0.12, 0.87)	0.33 (0.05, 0.55)	-1.155	0.248

表 2 S2 与 T2 组间 α 多样性指数比较 [$M(P_{25}, P_{75})$]

项目	S2 组 ($n=12$)	T2 组 ($n=12$)	Z 值	P 值
Ace 指数	173.39 (21.71, 719.14)	638.92 (285.00, 794.14)	-1.732	0.083
Chao1 指数	172.14 (18.25, 566.75)	503.88 (256.80, 624.27)	-1.790	0.073
Shannon 指数	1.32 (1.00, 1.67)	1.56 (1.42, 1.93)	-1.386	0.166
Simpson 指数	0.38 (0.25, 0.52)	0.30 (0.21, 0.42)	-1.328	0.184

表 3 基于 Bray-Curtis 距离算法的 ANOSIM 分析结果

组别比较	R 值	P 值
T1 组 vs S1 组	0.087	0.076
T1 组 vs T2 组	0.454	0.001
S1 组 vs S2 组	0.596	0.001
T2 组 vs S2 组	0.513	0.001

注：R 值接近+1 表示组间差异大于组内差异，接近-1 表示组内差异大于组间差异，接近 0 则表示组间和组内没有明显差异。

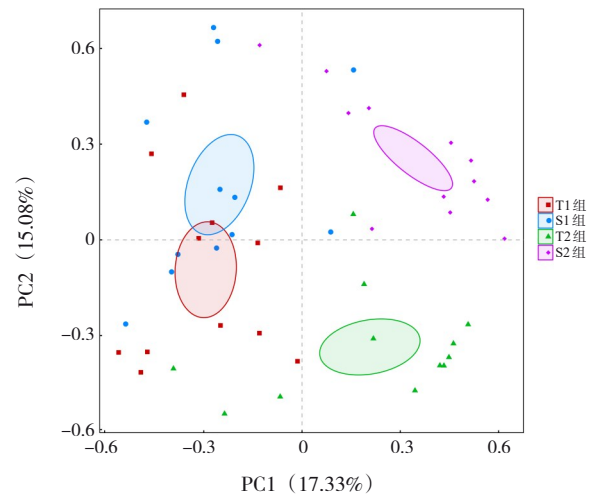


图 2 OTU 水平 PCA 图 横轴和纵轴表示两个选定的主成分轴，百分率表示主成分对样本组成差异的解释度值；不同颜色或形状的点代表不同组别的样本，两样本点越接近，表明两样本菌群组成越相似。

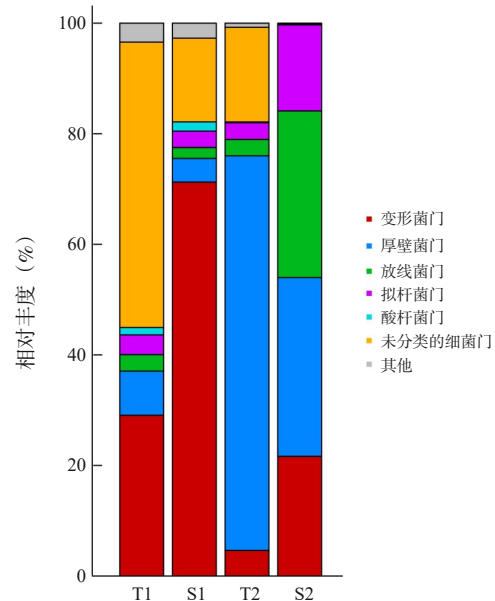


图 3 门水平各组菌群相对丰度 图中横轴代表分组名，纵轴代表菌群组成相对丰度构成比，不同颜色代表不同的菌群。

2.4.2 属水平上肠道和咽部的微生物群组成
出生当天，肠道微生物群主要由未分类肠杆菌科 (19.30%)、假单胞菌属 (13.95%)、不动杆菌属 (9.31%)、埃希菌-志贺菌属 (8.46%)、慢生根瘤菌属 (5.42%) 等组成；出生后 5~7 d，肠道菌群主要由双歧杆菌属 (24.99%)、埃希菌-志贺菌属 (17.69%)、拟杆菌属 (11.36%)、梭状芽孢杆菌属 (11.11%)、链球菌属 (10.39%)、葡萄球菌属 (6.00%) 等组成。

出生当天，咽部菌群主要由未分类肠杆菌科 (8.85%)、慢生根瘤菌属 (8.02%)、葡萄球菌属 (4.78%)、伯克氏菌属 (2.41%)、不动杆菌属 (1.46%) 等组成；出生后 5~7 d，咽部微生物群以链球菌属 (41.26%)、葡萄球菌属 (22.91%)、李生菌属 (3.61%)、拟杆菌属 (2.53%)、颗粒链菌属 (2.38%) 等为主，见图 4。

2.5 不同生态位的差异类群分析

使用 STAMP 2.1.3 软件进行差异分析，比较不同生态位菌群的相对丰度差异。由图 5 可见，出生当天，肠道和咽部优势菌属组成差异均无统计学意义 (均 $P>0.05$)。出生后 5~7 d，肠道和咽部在某些优势菌属上出现显著差异。与肠道相比，咽部的链球菌属 ($P<0.001$)、葡萄球菌属 ($P=0.005$)、罗氏菌属 ($P=0.029$) 等相对丰度较高，双歧杆菌属 ($P=0.016$)、埃希菌-志贺菌属 ($P=0.015$) 的相对丰度较低。

2.6 肠道和咽部微生物群的功能预测差异分析

对出生后 5~7 d 的肠道与咽部菌群进行了功能预测分析，包括直系同源序列聚类数据库 (Clusters of Orthologous Groups of proteins, COG)、京都基因和基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 功能分析。COG 分析表明，咽部菌群的预测功能主要集中在染色质结构和动力学、细胞骨架上，肠道菌群则与 RNA 加工

修饰、能量生成和转换、氨基酸转运代谢、碳水化合物转运代谢、辅酶转运和代谢等有关 ($P<0.05$ ，表 4)。KEGG 分析表明，与咽部细菌相比，肠道细菌对细胞运动、细胞进程和信号转导、内分泌系统、排泄系统、免疫系统、代谢性疾病、神经系统和转录功能参数的预测程度更高 ($P<0.05$ ，表 5)。

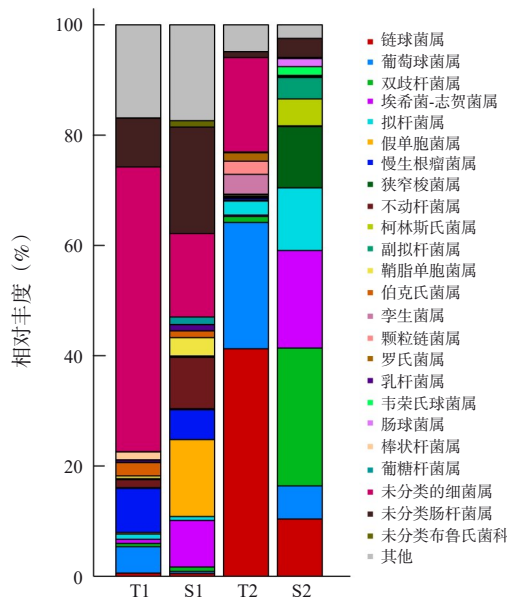


图 4 属水平各组菌群相对丰度 图中横轴代表组名，纵轴代表菌群组成相对丰度构成比，不同颜色代表不同的菌群 (总丰度大于 1% 的菌)。

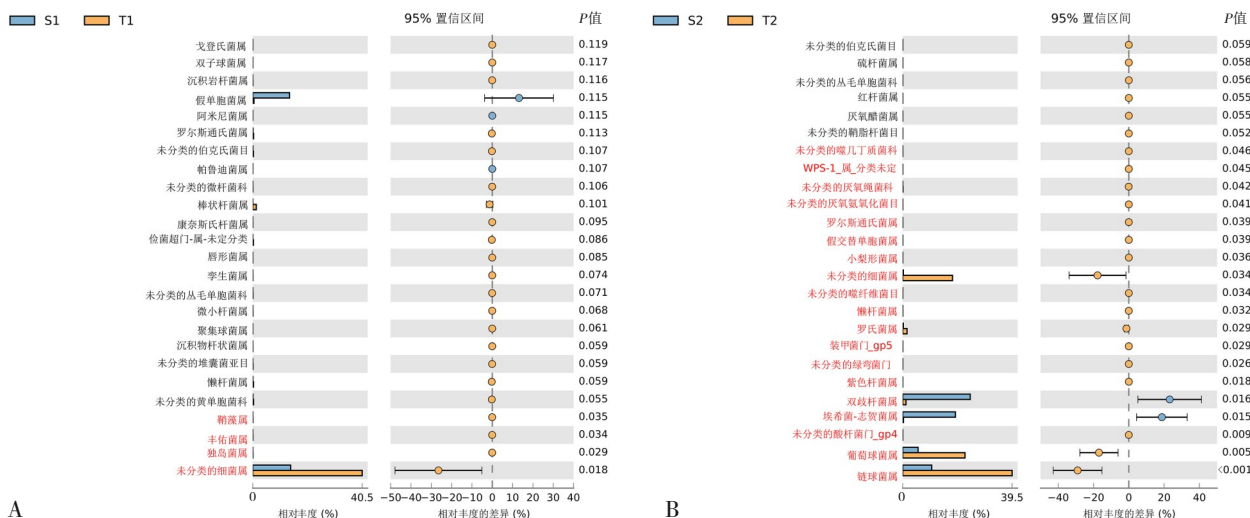


图 5 属水平组间差异类群分析结果 图 A、B 中，左侧为两组样本中不同菌群分类的丰度；中间为 95% 置信区间内菌群分类丰度的差异；右侧为 P 值， $P<0.05$ 表示差异有统计学意义，用红色标识。

表 4 肠道和咽部显著差异丰度菌群的 COG 功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

功能	S2 组 (n=12)	T2 组 (n=12)	P 值
[A] RNA 加工修饰	7 006 ± 1 182	1 697 ± 611	0.010
[B] 染色质结构和动力学	2 801 ± 967	3 785 ± 417	0.043
[C] 能量生成和转换	1 260 965 ± 412 022	868 187 ± 333 120	0.018
[E] 氨基酸转运代谢	2 396 333 ± 728 292	1 776 860 ± 625 716	0.036
[G] 碳水化合物转运代谢	2 822 757 ± 967 001	1 587 650 ± 614 407	0.001
[H] 辅酶转运和代谢	1 018 676 ± 92 586	774 108 ± 82 590	0.024
[K] 转录	2 044 700 ± 623 428	1 417 301 ± 515 359	0.013
[L] 复制、重组和修复	1 881 524 ± 662 735	1 273 296 ± 444 621	0.015
[M] 细胞壁/膜/被膜的生物合成	1 757 692 ± 207 164	1 177 955 ± 143 105	0.011
[T] 信号转导机制	1 232 951 ± 131 816	788 007 ± 103 993	0.004
[U] 胞内转运、分泌和小泡运输	496 734 ± 63 943	350 006 ± 39 351	0.024
[Z] 细胞骨架	105 ± 50	449 ± 161	0.011

表 5 肠道和咽部显著差异丰度菌群的 KEGG 功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

功能	S2 组 (n=12)	T2 组 (n=12)	P 值
心血管疾病	69 ± 36	860 ± 369	0.001
细胞运动	381 285 ± 87 552	143 209 ± 35 513	0.004
细胞进程和信号转导	1 053 675 ± 117 977	715 918 ± 76 780	0.024
循环系统	214 ± 83	1 609 ± 446	0.003
内分泌系统	83 281 ± 11 667	44 826 ± 7 824	0.006
排泄系统	4 905 ± 1 359	2 027 ± 778	0.015
免疫系统	16 509 ± 2 452	6 627 ± 1 747	0.004
代谢性疾病	35 403 ± 11 258	25 846 ± 9 230	0.033
神经系统	25 114 ± 2 888	13 584 ± 2 035	0.003
转录	735 598 ± 192 276	548 708 ± 187 131	0.025
其他次生代谢产物的生物合成	284 552 ± 118 604	159 958 ± 70 668	0.005

3 讨论

肠道和肺是人体两大重要的微生物生态位，有着共同的黏膜起源，其菌群成分和代谢产物具有调节全身和局部免疫的能力。研究表明，肠道菌群和呼吸系统之间存在双向调控的肠-肺轴^[5]。肠-肺轴解释了肺和肠之间的相关性，一方面肠道菌群及其代谢产物通过调节免疫反应的信号通路，影响肺部疾病的发生发展；另一方面，肺部疾病尤其是感染性疾病，可造成菌群紊乱并通过免疫调节影响肠道^[7]。对肠道和咽部微生物群组成和功能的分析可能有助于进一步研究肠道和肺部微生物群的动态和稳态。

本研究表明，早期新生儿咽部微生物群多样性高于肠道，与 Yang 等^[3]的研究结果一致；出生当天咽部微生物群的丰富度低于肠道，至出生后 5~7 d 则高于肠道，但差异均无统计学意义。本研

究 ANOSIM 分析表明，出生当天，肠道和咽部的组间差异较小，至出生后 5~7 d，组间差异增大；PCA 分析显示，至出生后 5~7 d 肠道和咽部的样本明显分开，组间差异有统计学意义，与以往的报道^[8]相一致。

微生物组成分析表明，早期新生儿肠道和咽部微生物群均以厚壁菌门、放线菌门、变形菌门和拟杆菌门为主，与既往研究^[9-10]一致。出生当天，肠道和咽部的优势门均为变形菌门；属水平上的菌群组成亦无显著差异，这表明出生时肠道和咽部菌群的起源可能是相同的。至出生后 5~7 d，肠道和咽部微生物群在门、属水平上均显现出差异，咽部以链球菌属（41.26%）和葡萄球菌属（22.91%）为主，与婴儿的口腔微生物群相似^[11]；肠道以双歧杆菌属（24.99%）、埃希菌-志贺菌属（17.69%）为主，与 Bäckhed 等^[12]的研究一致。这些结果同样表明人体肠道和咽部菌群早在出生 1 周

内已出现分化。纵向分析可见, 门水平上, 肠道从最初的变形菌门最丰富演变为变形菌门、厚壁菌门、放线菌门及拟杆菌门共同主导; 咽部由厚壁菌门取代最初的变形菌门成为绝对优势门。属水平上, 肠道由最初的需氧或兼性厌氧菌为主演变为以双歧杆菌、拟杆菌等厌氧菌为主的菌群组成; 咽部则持续以需氧或兼性厌氧菌为主, 其中链球菌及葡萄球菌显著增加成为优势菌。这些初步和探索性的结果表明, 新生儿早期微生物定植是一个动态演变的过程, 且与定植部位及时间变量有关。

本研究发现, 出生 1 周左右新生儿的肠道菌群主要由厚壁菌门和放线菌门组成, 其中放线菌门的双歧杆菌属在肠道菌群中起重要作用。咽部菌群主要由厚壁菌门组成, 其中的链球菌属为优势属。双歧杆菌是健康婴儿肠道的主要分类群, 可产生短链脂肪酸防止病原体的定植和肠道致病菌的感染^[13-14]。链球菌属是健康人体口咽微生物的最优菌属^[15-16], 是一个非常异质性的群体, 包括共生菌和病原体, 共生链球菌可以产生过氧化氢抑制病原微生物的生长, 包括医院内的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌, 因此它被认为是一种潜在益生菌^[17-18]。

研究表明, 肠道菌群在能量生成和转换、氨基酸转运代谢、碳水化合物转运代谢及辅酶转运和代谢这些新陈代谢相关功能的预测上更具优势。可能的原因是肠道菌群具有消化功能, 富含大量细胞, 需要更多的细菌富集^[19]。肠道菌群产生与能量相关的代谢物, 如葡萄糖和甘露糖^[20]。咽部菌群在染色质结构和动力学方面更加丰富, 它们可能与肺的气体交换有关, 气体交换需要免疫防御, 并产生大量抗体。因此, 咽部菌群的功能更多地集中在免疫防御相关的代谢产物, 如免疫球蛋白 A^[21]。肠道菌群在细胞运动、细胞进程和信号转导、转录, 以及内分泌、排泄、免疫、代谢和神经系统功能方面的预测功能较咽部菌群更具优势, 已被证明是当今许多疾病的治疗靶点^[22-23]。

本研究尚存在一些局限与不足。(1) 样本量较小, 为了保留数据的真实性, 未剔除离群值; (2) 由于新生儿临床样本采集的困难性及伦理限制, 未进行下呼吸道样本的比较跟踪; (3) 受检测技术所限, 结果只分析到了属水平。

综上所述, 本研究结果显示了早期健康新生

儿肠道和咽部具有独特的微生物群组成和功能, 并有一些共同的微生物群, 这些微生物群在肠-肺轴中的具体作用还有待进一步研究。本研究为进一步了解肠道和肺部微生物群之间的初始关系提供了基础。

利益冲突声明: 所有作者均声明不存在利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] Anand S, Mande SS. Diet, microbiota and gut-lung connection[J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 2147. PMID: 30283410. PMCID: PMC6156521. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02147.
- [2] Enaud R, Prevel R, Ciarlo E, et al. The gut-lung axis in health and respiratory diseases: a place for inter-organ and inter-kingdom crosstalks[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10: 9. PMID: 32140452. PMCID: PMC7042389. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00009.
- [3] Yang S, Qiao L, Shi J, et al. Clinical study of correlation for the intestinal and pharyngeal microbiota in the premature neonates[J]. *Front Pediatr*, 2021, 9: 632573. PMID: 33665178. PMCID: PMC7920978. DOI: 10.3389/fped.2021.632573.
- [4] Budden KF, Gellatly SL, Wood DL, et al. Emerging pathogenic links between microbiota and the gut-lung axis[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2017, 15(1): 55-63. PMID: 27694885. DOI: 10.1038/nrmicro.2016.142.
- [5] Grier A, McDavid A, Wang B, et al. Neonatal gut and respiratory microbiota: coordinated development through time and space[J]. *Microbiome*, 2018, 6(1): 193. PMID: 30367675. PMCID: PMC6204011. DOI: 10.1186/s40168-018-0566-5.
- [6] Chiu CY, Chan YL, Tsai MH, et al. Cross-talk between airway and gut microbiome links to IgE responses to house dust mites in childhood airway allergies[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 13449. PMID: 32778700. PMCID: PMC7417544. DOI: 10.1038/s41598-020-70528-7.
- [7] Dang AT, Marsland BJ. Microbes, metabolites, and the gut-lung axis[J]. *Mucosal Immunol*, 2019, 12(4): 843-850. PMID: 30976087. DOI: 10.1038/s41385-019-0160-6.
- [8] Bosch AATM, Levin E, van Houten MA, et al. Development of upper respiratory tract microbiota in infancy is affected by mode of delivery[J]. *EBioMedicine*, 2016, 9: 336-345. PMID: 27333043. PMCID: PMC4972531. DOI: 10.1016/j.ebiom.2016.05.031.
- [9] Bach LL, Ram A, Ijaz UZ, et al. A longitudinal study of the human oropharynx microbiota over time reveals a common core and significant variations with self-reported disease[J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 573969. PMID: 33552004. PMCID: PMC7861042. DOI: 10.3389/fmicb.2020.573969.
- [10] Iboronke O, McGuinness LR, Lu SE, et al. Species-level evaluation of the human respiratory microbiome[J]. *Gigascience*,

- 2020, 9(4): g1aa038. PMID: 32298431. PMCID: PMC7162353. DOI: 10.1093/gigascience/g1aa038.
- [11] Ruiz L, Bacigalupe R, García-Carral C, et al. Microbiota of human precolostrum and its potential role as a source of bacteria to the infant mouth[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 8435. PMID: 31182726. PMCID: PMC6557856. DOI: 10.1038/s41598-019-42514-1.
- [12] 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(5): 690-703. PMID: 25974306. DOI: 10.1016/j.chom.2015.04.004.
- [13] Lin C, Lin Y, Zhang H, et al. Intestinal 'infant-type' bifidobacteria mediate immune system development in the first 1000 days of life[J]. *Nutrients*, 2022, 14(7): 1498. PMID: 35406110. PMCID: PMC9002861. DOI: 10.3390/nu14071498.
- [14] Ducarmon QR, Zwiitink RD, Hornung BVH, et al. Gut microbiota and colonization resistance against bacterial enteric infection[J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2019, 83(3): e00007-19. PMID: 31167904. PMCID: PMC6710460. DOI: 10.1128/MMBR.00007-19.
- [15] Wang H, Dai W, Feng X, et al. Microbiota composition in upper respiratory tracts of healthy children in Shenzhen, China, differed with respiratory sites and ages[J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 6515670. PMID: 30013985. PMCID: PMC6022278. DOI: 10.1155/2018/6515670.
- [16] Powell EA, Fontanella S, Boakes E, et al. Temporal association of the development of oropharyngeal microbiota with early life wheeze in a population-based birth cohort[J]. *EBioMedicine*, 2019, 46: 486-498. PMID: 31353293. PMCID: PMC6710983. DOI: 10.1016/j.ebiom.2019.07.034.
- [17] Mammen MJ, Scannapieco FA, Sethi S. Oral-lung microbiome interactions in lung diseases[J]. *Periodontol* 2000, 2020, 83(1): 234-241. PMID: 32385873. DOI: 10.1111/prd.12301.
- [18] Qi C, Zhou J, Tu H, et al. Lactation-dependent vertical transmission of natural probiotics from the mother to the infant gut through breast milk[J]. *Food Funct*, 2022, 13(1): 304-315. PMID: 34889924. DOI: 10.1039/d1fo03131g.
- [19] Heintz-Buschart A, Wilmes P. Human gut microbiome: function matters[J]. *Trends Microbiol*, 2018, 26(7): 563-574. PMID: 29173869. DOI: 10.1016/j.tim.2017.11.002.
- [20] Zhou J, Tang L, Shen CL, et al. Green tea polyphenols modify gut-microbiota dependent metabolisms of energy, bile constituents and micronutrients in female Sprague-Dawley rats[J]. *J Nutr Biochem*, 2018, 61: 68-81. PMID: 30189365. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2018.07.018.
- [21] Pattaroni C, Watzenboeck ML, Schneidegger S, et al. Early-life formation of the microbial and immunological environment of the human airways[J]. *Cell Host Microbe*, 2018, 24(6): 857-865. e4. PMID: 30503510. DOI: 10.1016/j.chom.2018.10.019.
- [22] Maglio M, Zibera F, Aitoro R, et al. Intestinal production of anti-tissue transglutaminase 2 antibodies in patients with diagnosis other than celiac disease[J]. *Nutrients*, 2017, 9(10): 1050. PMID: 28934109. PMCID: PMC5691667. DOI: 10.3390/nu9101050.
- [23] Zhou Y, Zheng T, Chen H, et al. Microbial intervention as a novel target in treatment of non-alcoholic fatty liver disease progression[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 51(5): 2123-2135. PMID: 30522122. DOI: 10.1159/000495830.

(本文编辑: 王颖)