

4~6岁阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征患儿 肠道代谢产物特征及临床价值分析

陈悦^{1,2} 卢燕波^{1,2} 吴军华² 邱海燕²

(1. 宁波大学医学部, 浙江宁波 315000; 2. 宁波市妇女儿童医院儿科, 浙江宁波 315000)

[摘要] **目的** 探究4~6岁阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征 (obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome, OSAHS) 患儿肠道代谢产物特征及其临床价值。**方法** 前瞻性纳入31例4~6岁 OSAHS 患儿作为试验组, 24例4~6岁健康儿童作为对照组, 记录相关临床指标。收集粪便标本, 通过液-质联用非靶向代谢组学检测所有代谢产物。**结果** 共检测出206种代谢产物, 主要为氨基酸及其衍生物。试验组儿童肠道代谢产物整体构成与对照组差异有统计学意义 ($P<0.05$)。共筛选出18种差异代谢产物, 6种代谢产物 (N-乙酰蛋氨酸、L-蛋氨酸、L-赖氨酸、DL-苯丙氨酸、L-酪氨酸和L-异亮氨酸) 用于诊断 OSAHS 的受试者操作特征曲线下面积大于0.7。其中N-乙酰蛋氨酸曲线下面积最大, 为0.807, 灵敏度为70.83%, 特异度为80.65%。差异代谢产物与临床指标相关性分析显示, 扁桃体肿大程度与肠内酯, 尿酸与苯乙醛, 血糖与N-乙酰蛋氨酸, 胆固醇与9-六溴二苯醚和普鲁卡因呈正相关 ($P<0.05$); 扁桃体肿大程度与N-甲基酪胺, AST与吡啶丙烯酸和L-异亮氨酸, ALT与DL-苯丙氨酸、吡啶丙烯酸和L-异亮氨酸, 尿酸与羟喹啉, 尿素氮与N,N-二乙基哌嗪呈负相关 ($P<0.05$)。差异代谢产物影响的代谢功能通路主要有核黄素代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、泛酸和辅酶A生物合成、半胱氨酸和蛋氨酸代谢、赖氨酸降解和谷胱甘肽代谢等。**结论** 4~6岁 OSAHS 患儿肠道代谢产物与代谢功能发生改变, 主要为氨基酸代谢紊乱, 筛选出的肠道差异代谢产物作为 OSAHS 生物标志物具有潜在的筛查诊断价值。

[中国当代儿科杂志, 2024, 26 (6): 575-583]

[关键词] 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征; 肠道代谢产物; 生物标志物; 代谢功能; 儿童

Characteristics and clinical value of intestinal metabolites in children aged 4-6 years with obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome

CHEN Yue, LU Yan-Bo, WU Jun-Hua, QIU Hai-Yan. Department of Pediatrics, Ningbo Women and Children's Hospital, Ningbo, Zhejiang 315000, China (Qiu H-Y, Email: nbfeqhy@163.com)

Abstract: Objective To study the characteristics and clinical value of intestinal metabolites in children aged 4-6 years with obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome (OSAHS). **Methods** A total of 31 children aged 4-6 years with OSAHS were prospectively enrolled as the test group, and 24 healthy children aged 4-6 years were included as the control group. Relevant clinical indicators were recorded. Fecal samples were collected, and non-targeted metabolomics analysis using liquid chromatography-mass spectrometry was performed to detect all metabolites. **Results** A total of 206 metabolites were detected, mainly amino acids and their derivatives. There was a significant difference in the overall composition of intestinal metabolites between the test and control groups ($P<0.05$). Eighteen different metabolites were selected, among which six (N-acetylmethionine, L-methionine, L-lysine, DL-phenylalanine, L-tyrosine, and L-isoleucine) had receiver operating characteristic curve areas greater than 0.7 for diagnosing OSAHS. Among them, N-acetylmethionine had the largest area under the curve, which was 0.807, with a sensitivity of 70.83% and a specificity of 80.65%. Correlation analysis between different metabolites and clinical indicators showed that there were positive

[收稿日期] 2023-09-25; [接受日期] 2024-03-06

[基金项目] 浙江省医药卫生科技计划 (2024KY1576); 第一批宁波市临床医学研究中心依托单位 (2019A21002); 宁波市社会公益研究项目 (2021SI100); 宁波市医学重点学科建设计划 (2022-B17); 宁波市医疗卫生高端团队项目 (2022020405)。

[作者简介] 陈悦, 女, 硕士研究生。

[通信作者] 邱海燕, 女, 主任医师。Email: nbfeqhy@163.com。

correlations between the degree of tonsil enlargement and enterolactone, between uric acid and phenylacetaldehyde, between blood glucose and acetylmethionine, and between cholesterol and 9-bromodiphenyl and procaine ($P<0.05$). There were negative correlations between the degree of tonsil enlargement and N-methyltyramine, aspartate aminotransferase and indolepropionic acid and L-isoleucine, between alanine aminotransferase and DL-phenylalanine, between indolepropionic acid and L-isoleucine, between uric acid and hydroxyquinoline, and between urea nitrogen and N,N-dicyclohexylurea ($P<0.05$). The metabolic functional pathways affected by differential metabolites mainly included riboflavin metabolism, arginine and proline metabolism, pantothenic acid and coenzyme A biosynthesis, cysteine and methionine metabolism, lysine degradation and glutathione metabolism. **Conclusions** Intestinal metabolites and metabolic functions are altered in children aged 4-6 years with OSAHS, primarily involving amino acid metabolism disorders. The screened differential intestinal metabolites have potential screening and diagnostic value as biomarkers for OSAHS. [Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2024, 26(6): 575-583]

Key words: Obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome; Intestinal metabolite; Biomarker; Metabolic function; Child

阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征 (obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome, OSAHS) 是一种常见儿科疾病,其特征是在睡眠期间反复发生部分或完全上呼吸道阻塞,导致间歇性缺氧和睡眠碎片化^[1]。学龄前期至学龄期儿童的患病率为1.1%~4%^[2]。OSAHS不及时治疗可能导致儿童神经认知障碍、行为问题、生长迟缓 and 高血压等疾病^[3-4]。多导睡眠监测是诊断 OSAHS 的金标准^[5],但其操作繁琐、耗时费力、专业性强且需要在儿童身上安装大量电极,难以完全配合^[6-7]。因此,寻找 OSAHS 生物标志物来帮助临床筛查诊断具有重要意义。

近年来代谢组学被应用在生物药理学和临床研究中,非靶向代谢组学分析特定样品中的所有代谢组成分,通常用于寻找新的生物标志物^[8-9]。已有一些研究发现 OSAHS 的间歇性缺氧和高碳酸血症会改变肠道微生物群和代谢产物,并可能通过调节宿主肠道通透性、炎症反应、微生物代谢等影响动脉粥样硬化的进展^[10-11]。相关资料显示4~6岁 OSAHS 儿童肠道微生物群发生改变,肠道菌群功能预测表明肠道代谢功能发生改变^[12]。本研究收集4~6岁 OSAHS 患儿和同期健康对照儿童的粪便,探索4~6岁 OSAHS 患儿肠道代谢产物特征及其临床价值。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本研究采用前瞻性研究的方法,选取2020年10月—2021年12月于宁波市妇女儿童医院耳鼻喉头颈外科与呼吸科门诊以主诉为睡眠时打鼾就诊的4~6岁儿童作为试验组,同时期4~6岁在该院体检或该院同事的健康子女且无睡眠时打鼾儿童

作为对照组。所有参与者均征得儿童家长同意并签署知情同意书。本研究已通过宁波市妇女儿童医院伦理委员会审核(审查编号:EC2022-004),符合《赫尔辛基宣言》的基本原则。排除标准:鼻咽喉或气道先天性异常及颅面部畸形、贫血、消化道畸形,以及近3个月内使用抗生素或益生菌。

1.2 临床资料收集

所有纳入对象均接受多导睡眠监测,记录阻塞性呼吸暂停低通气指数 (obstructive apnea-hypopnea index, OAHl) 与最低血氧饱和度 (lowest oxygen saturation, LaSO₂) 等睡眠监测指标,并收集血红蛋白、血小板、谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST)、肌酸激酶同工酶 (creatinine kinase-MB, CK-MB)、尿酸、血肌酐、尿素氮、甘油三酯、胆固醇和血糖等临床指标。诊断标准参考《中国儿童阻塞性睡眠呼吸暂停诊断与治疗指南(2020)》^[13]。

1.3 标本采集与处理

入院后向家属提供粪便收集专用标本盒,采集新鲜粪便样本约2 g,立即放入-80℃冰箱保存。

取0.5 g样本置于离心管,冷冻干燥24 h。取20 mg冻干样本,加入100 μL 0.5%甲酸充分混匀,加入800 μL甲醇,-20℃静置1 h,振荡后离心10 min (12 000 r/min),取上清,置于真空浓缩仪中挥干。取预处理后样本100 μL至离心管中,加入200 μL甲醇,充分混匀1 min,离心10 min (12 000 r/min),转移上清到新的进样瓶中,0.22 μm膜过滤待检。

1.4 色谱条件

色谱柱为C18柱(1.7 μm, 2.1 mm×100 mm),流动相A为超纯水,流动相B为色谱纯乙腈,流动

相中加入0.1%甲酸，流速0.3 mL/min。以线性梯度洗脱，初始条件为2%的流动相B保持0.5 min，2%~50%流动相B 0.5~9 min；50%~98%流动相B 9~12 min，98%流动相B 12~13 min，98%~2%流动相B 13~14 min，平衡色谱柱1 min后采集下一个样品。每次进样量4 μ L，柱温40℃，自动进样器维持4℃。亮氨酸脑啡肽溶液用于质量校正(0.4 ng/L，0.1%甲酸CAN/H₂O 50/50)。

1.5 质谱条件

电喷雾电离源，正负离子电离模式。离子源温度120℃，脱溶剂温度300℃，脱溶剂氮气流速650 L/h，锥孔反吹氮气50 L/h。正离子和负离子模式毛细管电离电压分别为3.0 kV和2.8 kV，取样锥孔电压为27 eV，萃取锥孔4 eV，碰撞能为6 eV，四极杆扫描范围50~1 500 m/z。

1.6 统计学分析

利用LC-MS预处理软件XCMS对检测获得的原始文件进行数据预处理。多元统计分析采用R软件包Ropls，对样本数据进行主成分分析(principal component analysis, PCA)与偏最小二乘判别分析(partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)。

本研究中统计分析采用SPSS 22.0、GraphPad Prism 8、PASS 2021等软件。计量资料用均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示，组间比较采用两样本 t 检验；等级分类资料采用秩和检验进行比较。采用两样本 t 检验筛选差异代谢产物并通过受试者操作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC曲线)分析差异代谢产物的诊断价值，记录曲线下面积(area under the curve, AUC)、灵敏度和特异度。采用Spearman或Pearson相关分析法进行指标间的相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料与临床指标

试验组纳入31例，对照组纳入24例。两组年龄、身高、体重、体重指数(body mass index, BMI)和血压等一般资料的比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。试验组扁桃体肿大程度与OAH1显著高于对照组，LaSO₂显著低于对照组，差异具有统计学意义($P < 0.05$)；其余指标两组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

2.2 肠道产物总体特征

共检测出206种代谢产物，其中相对含量前50

的代谢产物占总体相对含量的比例达85.2%，包括16种氨基酸及其衍生物，6种苯环型化合物，4种有机酸及其衍生物，3种胆碱及其代谢物，3种维生素，2种脂肪酸及胆汁酸代谢衍生物，2种有机氧化合物，2种组胺及其代谢物，2种多胺类，2种生物碱，1种多酚类，1种黄酮类物质和6种未分类的物质。相对含量排名前10的物质为N-甲基吡咯烷酮、异孕烯醇酮、乙酰甲胆碱、乙酰胆碱、DL-苯丙氨酸、L-异亮氨酸、脯氨酸-亮氨酸、脯氨酸-异亮氨酸、乙硫异烟胺、N-乙酰精胺盐酸盐。

2.3 肠道代谢产物多元统计分析

2.3.1 PCA PCA得分图(图1)显示95%样本处于置信区间内，个别标准离群。试验组与对照组聚类区分明显，提示两组肠道代谢产物整体构成存在显著差异。

每个点代表一个样本，成分越相似的标本在图上距离越近。横坐标代表第一主成解释度，可以解释6.95%的差异，纵坐标表示第二主成解释度，可以解释3.86%的差异。

2.3.2 PLS-DA 进一步采用PLS-DA模型分析两组代谢产物之间的差异，PLS-DA得分图(图2)显示模型可解释的变量 $R^2X=10.8\%$ ，监督模型的解释率 $R^2Y=78\%$ ，说明模型拟合度和预测能力良好，两组样本显著区分，进一步说明两组代谢产物整体构成存在差异。

2.4 差异代谢产物分析

两样本 t 检验显示，两组间共有18种代谢产物存在差异(表2)。其中14种代谢产物在试验组相对含量显著降低，包括9-六溴二苯醚、肠内酯、4-甲基-5-噻唑乙醇、DL-苯丙氨酸、吡啶丙烯酸、L-异亮氨酸、L-赖氨酸、L-蛋氨酸、苯丙氨酸-脯氨酸、L-酪氨酸、N-乙酰蛋氨酸、羟喹啉、维生素B₂和肌氨酸；4种代谢产物相对含量显著升高，包括N,N-二环己脲、N-甲基酪胺、苯乙醛、普鲁卡因。

将18种两组间存在差异的代谢产物进行ROC曲线分析，结果显示用于筛选潜在标志物共有6种代谢产物的AUC大于0.7。其中N-乙酰蛋氨酸AUC最大，为0.807，灵敏度为70.83%，特异度为80.65%。L-蛋氨酸、DL-苯丙氨酸、L-酪氨酸和L-异亮氨酸、羟喹啉、肠内酯具有潜在诊断价值(特异度 $>85\%$)，L-赖氨酸、N,N-二环己脲、N-甲基酪胺、普鲁卡因具有潜在筛查价值(灵敏度 $>85\%$)。见表2。

表 1 试验组和对照组临床指标的比较

指标	对照组 (n=24)	试验组 (n=31)	$\chi^2/t/Z$ 值	P值
性别 (男/女, 例)	15/9	13/18	2.29	0.130
年龄 (岁)	5.1 ± 0.6	5.2 ± 0.8	0.79	0.434
身高 (cm)	112 ± 5	112 ± 8	0.09	0.927
体重 (kg)	20 ± 3	20 ± 4	0.40	0.691
BMI (kg/m ²)	15.9 ± 1.8	16.1 ± 2.0	0.42	0.678
收缩压 (mmHg)	106 ± 9	104 ± 10	-0.76	0.450
舒张压 (mmHg)	64 ± 69	64 ± 8	0.08	0.937
扁桃体肿大 (无/Ⅰ度/Ⅱ度/Ⅲ度, 例)	24/0/0/0	0/5/13/13	-6.69	<0.001
LaSO ₂ (%)	0.92 ± 0.02	0.72 ± 0.16	5.93	<0.001
OAHI (次/h)	0.18 ± 0.08	8.66 ± 5.80	7.15	<0.001
血红蛋白 (g/L)	128 ± 7	125 ± 9	-0.77	0.448
血小板 (× 10 ⁹ /L)	350 ± 88	330 ± 59	-0.73	0.474
ALT (U/L)	11 ± 6	14 ± 6	1.18	0.248
AST (U/L)	33 ± 6	31 ± 6	-1.08	0.289
CK-MB (U/L)	29 ± 8	25 ± 7	-1.37	0.181
尿酸 (μmol/L)	244 ± 51	250 ± 65	0.28	0.779
肌酐 (μmol/L)	50 ± 10	51 ± 5	0.38	0.706
尿素氮 (mmol/L)	4.8 ± 0.9	5.1 ± 1.3	0.59	0.558
甘油三酯 (mmol/L)	1.0 ± 0.4	1.3 ± 0.6	1.42	0.165
总胆固醇 (mmol/L)	4.2 ± 0.6	4.6 ± 0.8	1.53	0.135
血糖 (mmol/L)	5.2 ± 0.7	5.3 ± 0.7	0.18	0.856

注：除“性别”和“扁桃体肿大”这 2 个指标用频数表示外，其余指标均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。[BMI] 体重指数；[LaSO₂] 最低血氧饱和度；[OAHI] 呼吸暂停低通气指数；[ALT] 谷丙转氨酶；[AST] 谷草转氨酶；[CK-MB] 肌酸激酶同工酶。

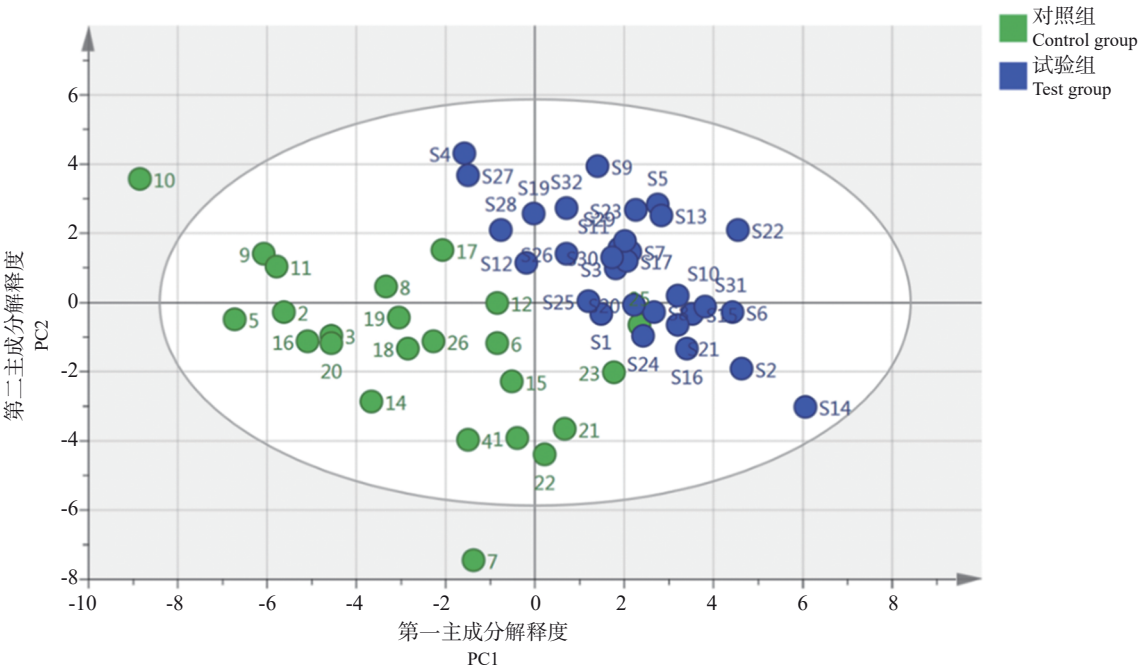


图 1 PCA得分图 每个点代表一个样本，成分越相似的标本在图上距离越近。横坐标代表第一主成分解释度，可以解释6.95%的差异，纵坐标表示第二主成分解释度，可以解释3.86%的差异。

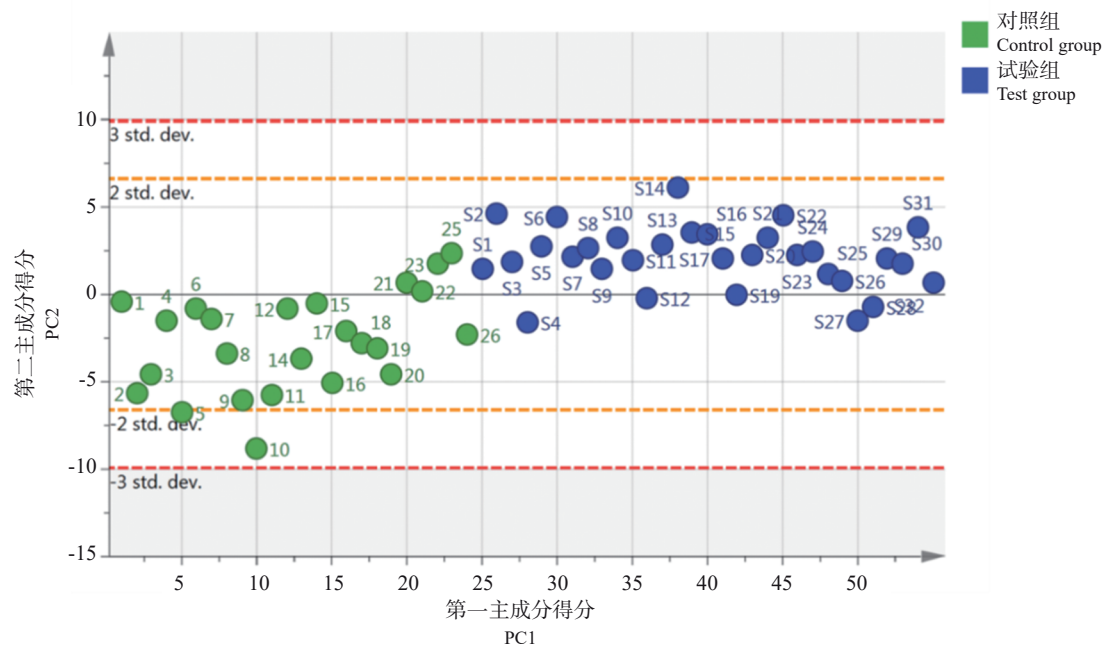


图2 PLS-DA得分图 显示对照组和试验组样本显著区分，说明两组代谢产物整体构成存在差异。

表2 试验组与对照组差异代谢产物的诊断价值统计

代谢产物	P值	AUC	灵敏度 (%)	特异度 (%)
N-乙酰蛋氨酸	0.001	0.807	70.83	80.65
L-蛋氨酸	<0.001	0.796	58.33	96.77
L-赖氨酸	<0.001	0.781	87.50	58.06
DL-苯丙氨酸	<0.001	0.776	66.67	90.32
L-酪氨酸	<0.001	0.770	66.67	87.10
L-异亮氨酸	<0.001	0.766	58.33	93.55
吡啶丙烯酸	0.039	0.675	66.67	67.74
维生素B ₂	0.003	0.668	58.33	80.65
9-六溴二苯醚	0.032	0.667	58.33	80.65
苯乙醛	0.019	0.661	66.67	64.52
N,N-二环己脲	0.049	0.632	91.67	32.26
肌氨酸	0.012	0.632	50.00	80.65
苯丙氨酰-脯氨酸	0.043	0.628	75.00	54.84
羟喹啉	0.039	0.616	25.00	100
N-甲基酪胺	0.022	0.610	100	25.81
4-甲基-5-噻唑乙醇	0.046	0.597	45.83	77.42
普鲁卡因	0.031	0.583	100	35.48
肠内脂	0.034	0.578	29.17	96.77

2.5 差异代谢产物与临床指标相关性分析

将 18 种差异代谢产物与临床指标进行相关性分析，结果显示：扁桃体肿大程度与肠内脂（ $r_s=0.453$ ， $P=0.010$ ），尿酸与苯乙醛（ $r=0.453$ ， $P=0.030$ ），血糖与 N-乙酰蛋氨酸（ $r=0.550$ ， $P=0.007$ ），胆固醇与 9-六溴二苯醚（ $r=0.449$ ， $P=0.031$ ）和普鲁卡因（ $r=0.457$ ， $P=0.028$ ）呈正相关；扁桃体肿大程度与 N-甲基酪胺（ $r_s=-0.429$ ， $P=0.016$ ），AST 与吡啶丙烯酸（ $r=-0.551$ ， $P=0.006$ ）和 L-异亮氨酸（ $r=-0.416$ ， $P=0.048$ ），ALT 与 DL-苯丙氨酸（ $r=-0.453$ ， $P=0.030$ ）、吡啶丙烯酸（ $r=-0.440$ ， $P=0.036$ ）和 L-异亮氨酸（ $r=-0.424$ ， $P=0.044$ ），尿酸与羟喹啉（ $r=-0.515$ ， $P=0.012$ ），尿素氮与 N,N-二环己脲（ $r=-0.451$ ， $P=0.031$ ）呈负相关。

2.6 代谢功能通路分析

差异代谢产物富集分析结果显示差异代谢产物共涉及 20 条代谢功能。以 Impact 值 ≥ 0.05 为筛选标准，得到与 OSAHS 最相关的 6 个代谢通路，包括核黄素代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、泛酸和辅酶 A 生物合成、半胱氨酸和蛋氨酸代谢、赖氨酸降解和谷胱甘肽代谢，见表 3 和图 3。

表 3 差异代谢物通路

通路	Total Cmpd	Hits	P值	Impact
核黄素代谢	13	1	0.125	0.170
精氨酸和脯氨酸代谢	29	2	0.285	0.150
泛酸和辅酶 A 生物合成	24	1	0.518	0.140
半胱氨酸和蛋氨酸代谢	40	1	<0.001	0.110
赖氨酸降解	17	2	0.002	0.070
谷胱甘肽代谢	22	2	0.128	0.050
嘌呤代谢	73	1	0.869	0.030
苯丙氨酸代谢	33	2	0.026	0.010
氨酰 tRNA 生物合成	45	5	<0.001	<0.001
赖氨酸生物合成	13	1	<0.001	<0.001
缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解	23	1	0.010	<0.001
缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成	22	1	0.010	<0.001
酪氨酸代谢	10	2	0.012	<0.001
新生生物素生物合成	3	1	0.016	<0.001
苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成	23	2	0.017	<0.001
硫胺素代谢	23	3	0.063	<0.001
甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢	33	2	0.128	<0.001
色氨酸代谢	10	1	0.136	<0.001
甘油磷脂代谢	22	1	0.168	<0.001
β-丙氨酸代谢	13	1	0.518	<0.001

注：Total Cmpd 代表此通路中所有代谢产物的数量；Hits 代表代谢通路中差异代谢产物数目；P 值代表检测到差异代谢产物对该代谢通路影响的大小；P 值越小，表示检测到的差异代谢产物对该代谢产物影响越显著；Impact 为贡献度，该值越高，代表该通路下检测到的代谢产物贡献度越高。

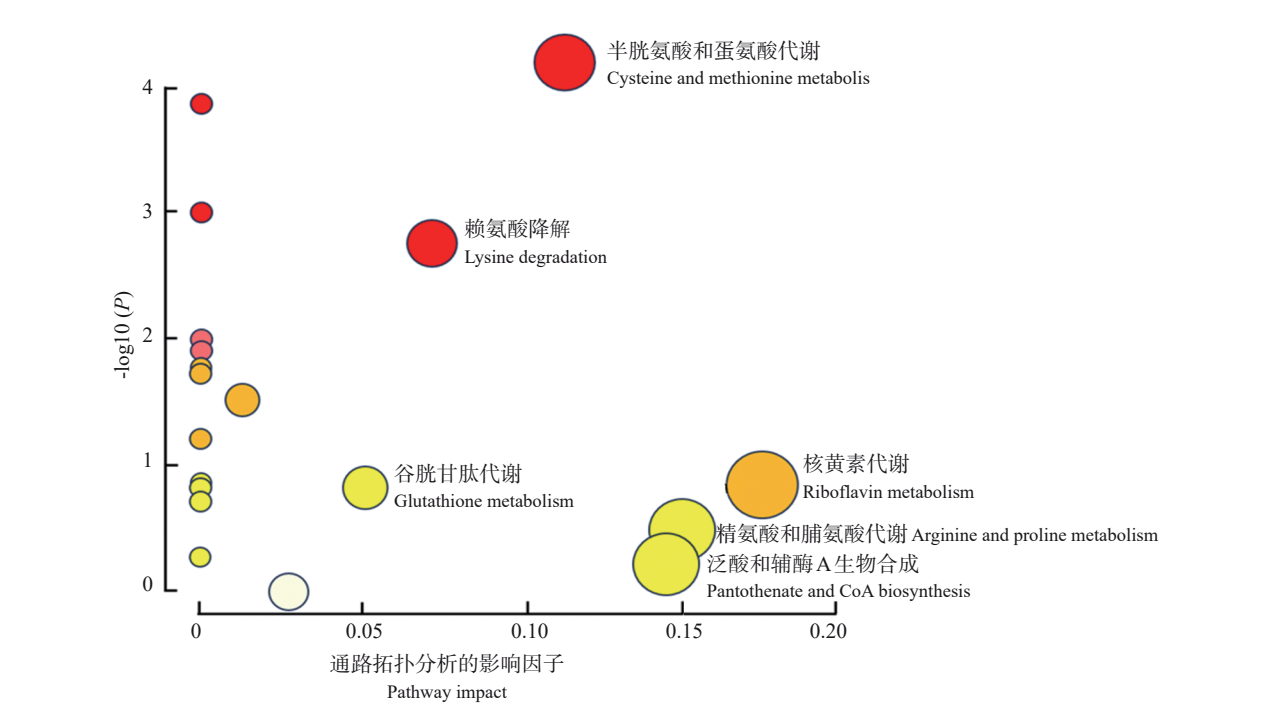


图 3 差异代谢产物通路分析结果气泡图 横坐标代表通路拓扑分析的影响因子，纵坐标代表通路富集分析的 P 值（取负对数）。气泡大小表示拓扑分析的影响因子大小，气泡越大影响因子越大；气泡颜色表示富集分析的 P 值大小，颜色越深 -log (P) 值越大。图中显示的是与 OSAHS 最相关的代谢通路。

3 讨论

本研究利用非靶向代谢组学技术检测4~6岁 OSAHS 儿童和同期对照儿童肠道代谢产物特征, 鉴定出206种代谢产物, 共筛选出18种差异代谢产物, 其中有14种表达下调, 以氨基酸居多, 4种表达上调。Ko等^[14]在 OSAHS 成人粪便中同样发现氨基酸代谢下调, 可能是由于长期缺氧条件下肠道代谢受到抑制。氨基酸代谢在 OSAHS 发病机制中可能存在重要作用。

下调的代谢产物如肠内脂, 它属于肠道微生物代谢产物, 与心血管疾病风险相关, 较高浓度的肠内脂会显著降低冠状动脉的风险^[15]。有研究表明其通过限制核因子- κ B (nuclear transcription factor- κ B, NF- κ B) 信号传导的激活而具有抗炎特性, 可能被用作特应性皮炎治疗候选药物^[16]。NF- κ B 相关炎症途径同样参与 OSAHS 发病机制^[5]。肠道微生物群是B族维生素的重要来源, 肠道微生物群的变化可能影响体内B族维生素需求^[17-18]。本研究显示维生素B₂和B₁的降解产物4-甲基-5-噻唑乙醇表达下降, 有研究发现肠道微生物群的代谢紊乱导致4-甲基-5-噻唑乙醇减少, 可能诱发氧化应激和炎症反应^[19]。而缺氧诱导的氧化应激会促进 OSAHS 代谢的变化。9-六溴二苯醚是亚油酸过氧化的产物, 可作为脂质过氧化指标, 诱导细胞内谷胱甘肽氧化^[20-21]。

表达上调的代谢产物中, N-甲基酪胺是苯丙氨酸代谢物, 可抑制脂肪细胞分解^[22]。苯乙醛会诱导活性氧的产生^[23], 其表达上调可能对 OSAHS 缺氧导致的氧化应激起促进作用。这些发现表明了儿童 OSAHS 肠道代谢情况, 为 OSAHS 和代谢组之间提供联系。

本研究对所有差异性代谢产物进行 ROC 曲线分析, 结果显示, 用于筛选诊断标志物的代谢产物中 N-乙酰蛋氨酸 AUC 最大, 为0.807, 灵敏度为70.83%, 特异度为80.65%, 具有一定的筛查诊断价值。目前已有研究显示 N-乙酰蛋氨酸与慢性血栓性肺动脉高压严重程度相关^[24]。L-蛋氨酸在判断非 OSAHS 患儿的能力中特异度超过96%, 有研究表明, 蛋氨酸饮食会减少线粒体活性氧的产生, 减少大脑内源性氧化分子损伤, 进一步改善与衰老相关的神经退行性疾病^[25-26]。在 OSAHS 患儿肠道代谢产物中蛋氨酸表达下调, 可能会进一步增强氧化应激反应, 导致疾病发生。

本研究差异代谢产物与临床指标相关性分析结果显示, 扁桃体肿大程度与肠内酯和 N-甲基酪胺呈负相关, 扁桃体肿大、打鼾是儿童 OSAHS 常见的危险因素^[27]。Chuang等^[28]对扁桃体微生物组研究发现拟杆菌变化可能与 OSAHS 的病理生理学有关。ALT 和 AST 与吡啶丙烯酸、异亮氨酸、DL-苯丙氨酸呈负相关, 相关研究显示 OSAHS 对血清 ALT、AST 有影响^[29-30]。在对于间歇性缺氧小鼠模型的研究中, 间歇性缺氧导致血清 ALT、AST 显著增高, 引起明显肝损伤^[31]。吡啶丙烯酸是色氨酸的代谢产物, 可以促进肠道的屏障保护作用 and 减轻炎症反应^[32]。肠道菌群失调导致色氨酸减少, 从而导致肠道通透性改变^[33]。OSAHS 缺氧会触发腺苷三磷酸酶过度降解为黄嘌呤, 导致尿酸堆积^[34], 但尿酸与 OSAHS 代谢产物之间的联系尚未有过报道。胆固醇与9-六溴二苯醚呈正相关, 部分研究表明胆固醇变化会引起肠道微生物组和代谢组改变^[35-36], 我们需要进一步探究 OSAHS 胆固醇改变与肠道代谢组之间的联系。

本研究最后通过 KEGG 分析找到所有差异代谢产物参与的通路, 差异代谢通路以氨基酸生物合成与代谢、核黄素代谢、泛酸和辅酶 A 生物合成、谷胱甘肽代谢为主。这与一些研究 OSAHS 差异代谢通路得到的结果相似^[37-38]。这进一步验证 OSAHS 患儿肠道代谢组的整体变化。

既往对 OSAHS 肠道代谢组的研究集中在成人或动物模型上, 比如 Zhang 等^[39]对 OSAHS 小鼠模型的肠道微生物分析并对其代谢途径预测表明微生物群的变化主要影响胆汁酸和脂肪酸代谢。Dong 等^[37]对成年 OSAHS 患者粪便进行代谢特征分析, 发现花生四烯酸、二十二碳六烯酸和11Z-二十烯酸的表达水平显著升高, 而硬脂酸、5-羟基吡啶乙酸、葡萄糖酸的含量显著减少。本研究显示4~6岁 OSAHS 患儿的肠道代谢产物与代谢功能发生改变, 主要为氨基酸代谢紊乱, 筛选出的肠道差异代谢产物作为 OSAHS 生物标志物具有潜在的筛查诊断价值, 为儿童 OSAHS 的病理生理机制提供了一定的基础, 但仍有待实验性研究进一步进行验证。

作者贡献声明: 陈悦负责初稿写作、调查研究、方法设计、形式分析、数据管理; 卢燕波负责调查研究、数据管理、内容审核及论文写作、修改; 吴军华负责论文构思与设计、内容审核及

论文写作、修改；邱海燕负责论文构思与设计、数据管理、内容审核及论文写作、修改。

利益冲突声明：所有作者声明无利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] Bitners AC, Arens R. Evaluation and management of children with obstructive sleep apnea syndrome[J]. *Lung*, 2020, 198(2): 257-270. PMID: 32166426. PMCID: PMC7171982. DOI: 10.1007/s00408-020-00342-5.
- [2] Lo Bue A, Salvaggio A, Insalaco G. Obstructive sleep apnea in developmental age. A narrative review[J]. *Eur J Pediatr*, 2020, 179(3): 357-365. PMID: 31940071. DOI: 10.1007/s00431-019-03557-8.
- [3] Marcus CL, Brooks LJ, Draper KA, et al. Diagnosis and management of childhood obstructive sleep apnea syndrome[J]. *Pediatrics*, 2012, 130(3): 576-584. PMID: 22926173. DOI: 10.1542/peds.2012-1671.
- [4] Menzies B, Teng A, Burns M, et al. Neurocognitive outcomes of children with sleep disordered breathing: a systematic review with meta-analysis[J]. *Sleep Med Rev*, 2022, 63: 101629. PMID: 35439720. DOI: 10.1016/j.smrv.2022.101629.
- [5] Gulotta G, Iannella G, Vicini C, et al. Risk factors for obstructive sleep apnea syndrome in children: state of the art[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2019, 16(18): 3235. PMID: 31487798. PMCID: PMC6765844. DOI: 10.3390/ijerph16183235.
- [6] Nowak N, Engler A, Thiel S, et al. Validation of breath biomarkers for obstructive sleep apnea[J]. *Sleep Med*, 2021, 85: 75-86. PMID: 34280868. DOI: 10.1016/j.sleep.2021.06.040.
- [7] Yoon DW, Shin HW. Sleep tests in the non-contact era of the COVID-19 pandemic: home sleep tests versus in-laboratory polysomnography[J]. *Clin Exp Otorhinolaryngol*, 2020, 13(4): 318-319. PMID: 33176398. PMCID: PMC7669320. DOI: 10.21053/ceo.2020.01599.
- [8] Zhang X, Wang S, Xu H, et al. Metabolomics and microbiome profiling as biomarkers in obstructive sleep apnoea: a comprehensive review[J]. *Eur Respir Rev*, 2021, 30(160): 200220. PMID: 33980666. PMCID: PMC9489097. DOI: 10.1183/16000617.0220-2020.
- [9] Bujak R, Struck-Lewicka W, Markuszewski MJ, et al. Metabolomics for laboratory diagnostics[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 113: 108-120. PMID: 25577715. DOI: 10.1016/j.jpba.2014.12.017.
- [10] Xue J, Allaband C, Zhou D, et al. Influence of intermittent hypoxia/hypercapnia on atherosclerosis, gut microbiome, and metabolome[J]. *Front Physiol*, 2021, 12: 663950. PMID: 33897472. PMCID: PMC8060652. DOI: 10.3389/fphys.2021.663950.
- [11] Allaband C, Lingaraju A, Martino C, et al. Intermittent hypoxia and hypercapnia alter diurnal rhythms of luminal gut microbiome and metabolome[J]. *mSystems*, 2021, 6(3): e0011621. PMID: 34184915. PMCID: PMC8269208. DOI: 10.1128/mSystems.00116-21.
- [12] Wu J, Lu Y, Cai X, et al. Gut microbiota dysbiosis in 4- to 6-year-old children with obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome[J]. *Pediatr Pulmonol*, 2022, 57(9): 2012-2022. PMID: 35580999. DOI: 10.1002/ppul.25967.
- [13] 中国儿童OSA诊断与治疗指南制订工作组, 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会小儿学组, 中华医学会儿科学分会呼吸学组, 等. 中国儿童阻塞性睡眠呼吸暂停诊断与治疗指南(2020) [J]. *中国循证医学杂志*, 2020, 20(8): 883-900. DOI: 10.7507/1672-2531.202005147.
- [14] Ko CY, Liu QQ, Su HZ, et al. Gut microbiota in obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome: disease-related dysbiosis and metabolic comorbidities[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2019, 133(7): 905-917. PMID: 30957778. PMCID: PMC6465302. DOI: 10.1042/CS20180891.
- [15] Liu G, Li J, Li Y, et al. Gut microbiota-derived metabolites and risk of coronary artery disease: a prospective study among US men and women[J]. *Am J Clin Nutr*, 2021, 114(1): 238-247. PMID: 33829245. PMCID: PMC8277432. DOI: 10.1093/ajcn/nqab053.
- [16] Yu L, Xu Q, Wang P, et al. Secoisolariciresinol diglucoside-derived metabolite, enterolactone, attenuates atopic dermatitis by suppressing Th2 immune response[J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 111: 109039. PMID: 35914449. DOI: 10.1016/j.intimp.2022.109039.
- [17] Magnúsdóttir S, Ravcheev D, de Crécy-Lagard V, et al. Systematic genome assessment of B-vitamin biosynthesis suggests co-operation among gut microbes[J]. *Front Genet*, 2015, 6: 148. PMID: 25941533. PMCID: PMC4403557. DOI: 10.3389/fgene.2015.00148.
- [18] Lau SK, Lam CW, Curreem SO, et al. Metabolomic profiling of *Burkholderia pseudomallei* using UHPLC-ESI-Q-TOF-MS reveals specific biomarkers including 4-methyl-5-thiazoleethanol and unique thiamine degradation pathway[J]. *Cell Biosci*, 2015, 5: 26. PMID: 26097677. PMCID: PMC4475313. DOI: 10.1186/s13578-015-0018-x.
- [19] Chen Z, Han S, Zhou D, et al. Effects of oral exposure to titanium dioxide nanoparticles on gut microbiota and gut-associated metabolism *in vivo*[J]. *Nanoscale*, 2019, 11(46): 22398-22412. PMID: 31738363. DOI: 10.1039/c9nr07580a.
- [20] Jira W, Spitteller G, Carson W, et al. Strong increase in hydroxy fatty acids derived from linoleic acid in human low density lipoproteins of atherosclerotic patients[J]. *Chem Phys Lipids*, 1998, 91(1): 1-11. PMID: 9488997. DOI: 10.1016/s0009-3084(97)00095-9.
- [21] Corteselli EM, Gibbs-Flournoy E, Simmons SO, et al. Long chain lipid hydroperoxides increase the glutathione redox potential through glutathione peroxidase 4[J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2019, 1863(5): 950-959. PMID: 30844486. PMCID: PMC6823641. DOI: 10.1016/j.bbagen.2019.03.002.
- [22] Leroux M, Lemery T, Boulet N, et al. Effects of the amino acid

- derivatives, β -hydroxy- β -methylbutyrate, taurine, and N-methyltyramine, on triacylglycerol breakdown in fat cells[J]. *J Physiol Biochem*, 2019, 75(3): 263-273. PMID: 30919256. DOI: 10.1007/s13105-019-00677-5.
- [23] Choi HS, Kim SL, Kim JH, et al. Plant volatile, phenylacetaldehyde targets breast cancer stem cell by induction of ROS and regulation of Stat3 signal[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2020, 9(11): 1119. PMID: 33202749. PMCID: PMC7697623. DOI: 10.3390/antiox9111119.
- [24] Swietlik EM, Ghataorhe P, Zalewska KI, et al. Plasma metabolomics exhibit response to therapy in chronic thromboembolic pulmonary hypertension[J]. *Eur Respir J*, 2021, 57(4): 2003201. PMID: 33060150. PMCID: PMC8012591. DOI: 10.1183/13993003.03201-2020.
- [25] Naudí A, Caro P, Jové M, et al. Methionine restriction decreases endogenous oxidative molecular damage and increases mitochondrial biogenesis and uncoupling protein 4 in rat brain [J]. *Rejuvenation Res*, 2007, 10(4): 473-484. PMID: 17716000. DOI: 10.1089/rej.2007.0538.
- [26] Ren B, Wang L, Mulati A, et al. Methionine restriction improves gut barrier function by reshaping diurnal rhythms of Inflammation-Related microbes in aged mice[J]. *Front Nutr*, 2021, 8: 746592. PMID: 35004799. PMCID: PMC8733897. DOI: 10.3389/fnut.2021.746592.
- [27] Xu Z, Wu Y, Tai J, et al. Risk factors of obstructive sleep apnea syndrome in children[J]. *J Otolaryngol Head Neck Surg*, 2020, 49(1): 11. PMID: 32131901. PMCID: PMC7057627. DOI: 10.1186/s40463-020-0404-1.
- [28] Chuang HH, Hsu JF, Chuang LP, et al. Different associations between tonsil microbiome, chronic tonsillitis, and intermittent hypoxemia among obstructive sleep apnea children of different weight status: a pilot case-control study[J]. *J Pers Med*, 2021, 11(6): 486. PMID: 34071547. PMCID: PMC8227284. DOI: 10.3390/jpm11060486.
- [29] Sookoian S, Pirola CJ. Obstructive sleep apnea is associated with fatty liver and abnormal liver enzymes: a meta-analysis[J]. *Obes Surg*, 2013, 23(11): 1815-1825. PMID: 23740153. DOI: 10.1007/s11695-013-0981-4.
- [30] Byrne TJ, Parish JM, Somers V, et al. Evidence for liver injury in the setting of obstructive sleep apnea[J]. *Ann Hepatol*, 2012, 11(2): 228-231. PMID: 22345340.
- [31] Chen LD, Huang ZW, Huang YZ, et al. Untargeted metabolomic profiling of liver in a chronic intermittent hypoxia mouse model [J]. *Front Physiol*, 2021, 12: 701035. PMID: 34305653. PMCID: PMC8298499. DOI: 10.3389/fphys.2021.701035.
- [32] Wlodarska M, Luo C, Kolde R, et al. Indoleacrylic acid produced by commensal peptostreptococcus species suppresses inflammation[J]. *Cell Host Microbe*, 2017, 22(1): 25-37. e6. PMID: 28704649. PMCID: PMC5672633. DOI: 10.1016/j.chom.2017.06.007.
- [33] Wang F, Zou J, Xu H, et al. Effects of chronic intermittent hypoxia and chronic sleep fragmentation on gut microbiome, serum metabolome, liver and adipose tissue morphology[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 820939. PMID: 35178032. PMCID: PMC8846366. DOI: 10.3389/fendo.2022.820939.
- [34] Zeng Z, Jin T, Ni J, et al. Assessing the causal associations of obstructive sleep apnea with serum uric acid levels and gout: a bidirectional two-sample Mendelian randomization study[J]. *Semin Arthritis Rheum*, 2022, 57: 152095. PMID: 36126568. DOI: 10.1016/j.semarthrit.2022.152095.
- [35] Zhang X, Coker OO, Chu ES, et al. Dietary cholesterol drives fatty liver-associated liver cancer by modulating gut microbiota and metabolites[J]. *Gut*, 2021, 70(4): 761-774. PMID: 32694178. PMCID: PMC7948195. DOI: 10.1136/gutjnl-2019-319664.
- [36] Meslier V, Laiola M, Roager HM, et al. Mediterranean diet intervention in overweight and obese subjects lowers plasma cholesterol and causes changes in the gut microbiome and metabolome independently of energy intake[J]. *Gut*, 2020, 69(7): 1258-1268. PMID: 32075887. PMCID: PMC7306983. DOI: 10.1136/gutjnl-2019-320438.
- [37] Dong Y, Wang P, Lin J, et al. Characterization of fecal metabolome changes in patients with obstructive sleep apnea[J]. *J Clin Sleep Med*, 2022, 18(2): 575-586. PMID: 34534066. PMCID: PMC8804979. DOI: 10.5664/jcsm.9668.
- [38] Xu H, Li X, Zheng X, et al. Pediatric obstructive sleep apnea is associated with changes in the oral microbiome and urinary metabolomics profile: a pilot study[J]. *J Clin Sleep Med*, 2018, 14(9): 1559-1567. PMID: 30176961. PMCID: PMC6134247. DOI: 10.5664/jcsm.7336.
- [39] Zhang Y, Luo H, Niu Y, et al. Chronic intermittent hypoxia induces gut microbial dysbiosis and infers metabolic dysfunction in mice[J]. *Sleep Med*, 2022, 91: 84-92. PMID: 35286865. DOI: 10.1016/j.sleep.2022.02.003.

(本文编辑: 邓芳明)

(版权所有©2024 中国当代儿科杂志)