

## 婴幼儿川崎病急性期肠道菌群的特征分析

王宏茂<sup>1</sup> 张明明<sup>1</sup> 林瑶<sup>1</sup> 刘杨<sup>1</sup> 薛冠华<sup>2</sup> 石琳<sup>1</sup> 袁静<sup>2</sup> 李晓惠<sup>1</sup>

(首都儿科研究所附属儿童医院 1. 心血管内科; 2. 细菌研究室, 北京 100020)

**[摘要]** **目的** 分析婴幼儿川崎病 (Kawasaki disease, KD) 急性期肠道菌群的构成、丰度及功能差异, 探索肠道菌群在 KD 发病机制中的作用。**方法** 前瞻性选择 2021 年 7—10 月在首都儿科研究所附属儿童医院心血管内科住院的 6 例 0~3 岁 KD 急性期婴幼儿为 KD 组, 选取同期体检的年龄、性别匹配的 6 例健康婴幼儿为健康对照组。采用宏基因组测序检测并比较两组婴幼儿粪便样本的菌群结构及功能差异。**结果** 两组样本肠道菌群在结构组成、多样性分析方面差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。KD 组婴幼儿肠道菌群中单核细胞增生李斯特菌 (李斯特菌科、李斯特氏菌属)、鲁塞蒂双歧杆菌、海氏肠球菌、鸟肠球菌丰度高于健康对照组 ( $|LDA|>2$ ,  $P<0.05$ )。KD 组中类固醇降解和细胞凋亡通路较健康对照组显著升高, 而细菌分泌系统、硫代谢、丁酸甲酯代谢、苯甲酸降解、 $\beta$  丙氨酸代谢、 $\alpha$  亚麻酸代谢等通路显著减低 ( $|LDA|>2$ ,  $P<0.05$ )。**结论** 0~3 岁 KD 急性期婴幼儿肠道菌群在结构及多样性方面与健康婴幼儿相比均有显著差异, 提示 KD 急性期存在肠道菌群紊乱, 尤其是单核细胞增生李斯特菌、海氏肠球菌、鸟肠球菌可能通过类固醇降解及细胞凋亡参与 KD 的发病机制。

[中国当代儿科杂志, 2024, 26 (10): 1101-1107]

**[关键词]** 川崎病; 肠道菌群; 宏基因组学; 婴幼儿

### Characteristics of intestinal microbiota in the acute phase of Kawasaki disease in infants and children

WANG Hong-Mao, ZHANG Ming-Ming, LIN Yao, LIU Yang, XUE Guan-Hua, SHI Lin, YUAN Jing, LI Xiao-Hui.  
Department of Cardiovascular Disease, Children's Hospital Affiliated to Capital Institute of Pediatrics, Beijing 100020,  
China (Li X-H, Email: lxhmaggie@126.com)

**Abstract: Objective** To study the composition, abundance, and functional profiles of the intestinal microbiota in infants and young children with Kawasaki disease (KD) during the acute phase, and to explore the potential role of intestinal microbiota in the pathogenesis of KD. **Methods** Six children aged 0-3 years with acute KD admitted to the Department of Cardiology, Children's Hospital Affiliated to Capital Institute of Pediatrics from July to October 2021 were prospectively included as the KD group. Six age- and sex-matched healthy children who underwent physical examinations at the hospital during the same period were selected as the healthy control group. Metagenomics sequencing was used to detect and compare the differences in the microflora structure and functional profiles of fecal samples between the two groups. **Results** There were significant differences in the structural composition and diversity of intestinal microbiota between the two groups ( $P<0.05$ ). Compared with the healthy control group, the abundance of *Listeria monocytogenes* (family *Listeriaceae* and genus *Listeria*), *Bifidobacterium rouseletii*, *Enterococcus avium*, and *Enterococcus hirae* was significantly higher in the intestinal microbiota in the KD group ( $|LDA|>2.0$ ,  $P<0.05$ ). The steroid degradation and apoptosis pathways were significantly upregulated in the KD group compared with the healthy control group, while the Bacterial\_secretion\_system, Sulfur\_metabolism, Butanoate\_metabolism, Benzoate\_degradation,  $\beta$ -alanine metabolism, and  $\alpha$ -linolenic acid pathways were significantly downregulated ( $|LDA|>2$ ,  $P<0.05$ ). **Conclusions** There are significant differences in the structure and diversity of intestinal microbiota between children aged 0-3 years with acute KD and healthy children, suggesting that disturbances in intestinal microbiota occur during the

[收稿日期] 2024-05-27; [接受日期] 2024-09-02

[基金项目] 首都儿科研究所临床培育项目 (LCPY-2021-10)。

[作者简介] 王宏茂, 男, 硕士, 主治医师。

[通信作者] 李晓惠, 女, 主任医师。Email: lxhmaggie@126.com。

acute phase of KD. In particular, *Listeria\_monocytogenes*, *Enterococcus\_avium*, and *Enterococcus\_hirae* may be involved in the pathogenesis of KD through steroid degradation and apoptosis pathways.

[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2024, 26(10): 1101-1107]

**Key words:** Kawasaki disease; Intestinal microbiota; Metagenomics; Infant and young child

川崎病 (Kawasaki disease, KD) 好发于5岁以下儿童, 是一种急性发热性全身血管炎性疾病。1967年由日本川崎医生首次报道, 通常表现为持续发热、多形性红斑、颈部淋巴结肿大、口唇干红皲裂及杨梅舌、眼红、手足潮红硬肿, 主要累及中、小血管, 特别是冠状动脉, 是儿童获得性心脏病最常见病因<sup>[1]</sup>。迄今为止, 其发病机制尚未完全阐明。目前大多认为KD是感染因素诱发的超级免疫炎症反应, 推测免疫功能紊乱在KD发生发展中起重要作用<sup>[2]</sup>。复杂多样的肠道微生物在人体免疫、营养代谢等方面有着重要作用<sup>[3]</sup>。

近年来, 肠道菌群与人类心血管疾病的关系受到广泛关注。肠道菌群作为“微生物器官”, 通过脂多糖等细胞成分、氧化三甲胺、短链脂肪酸等代谢物直接调节机体健康状态, 也可通过细菌及其产物影响机体免疫。“肠-心轴”及“脑-肠-心轴”等假说有望成为心血管疾病防治的新突破口<sup>[4-6]</sup>。肠道菌群的组成和功能决定了肠道的免疫平衡, 特别是其产生的各种代谢产物对免疫系统有着直接影响<sup>[7]</sup>。

已有关于KD肠道菌群的研究提示肠道菌群紊乱和KD全身免疫炎症反应密切相关<sup>[8]</sup>。既往关于KD肠道菌群的研究, 多以3岁以上儿童为主, 忽略了饮食结构等对肠道菌群带来的影响。在生命早期, 肠道菌群结构相对简单, 3岁后逐渐趋于成熟, 因此, 0~3岁婴幼儿的肠道菌群组成和代谢功能较为相似<sup>[9]</sup>, 对研究肠道菌群对疾病的影响具有更重要的意义。本研究通过宏基因组学方法, 对0~3岁KD患儿肠道菌群进行研究, 分析其肠道菌群的丰度、组成、物种差异及功能差异等, 探索肠道菌群在KD发病机制中的作用。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

前瞻性选择2021年7—10月在首都儿科研究所附属儿童医院心血管内科住院的6例KD急性期婴幼儿为KD组。选取同期于我院体检的年龄、性别匹配的健康婴幼儿为健康对照组。在KD患儿入

院确诊后开始静脉注射人免疫球蛋白标准方案治疗之前收集粪便样本, 通过住院病历系统收集临床资料, 包括年龄、性别、身长、体重及炎症指标等。

KD组纳入标准: (1) 首次发病且住院治疗的KD急性期患儿, 诊断标准符合2017年美国心脏协会诊断指南<sup>[10]</sup>; (2) 年龄0~3岁, 顺产, 母乳喂养; (3) 院外应用同一种抗生素 (本研究指头孢曲松, 以避免不同抗生素治疗对肠道菌群的影响); (4) 家长签署知情同意书。排除标准: (1) 发病1周内或者住院期间补充肠道益生菌或者益生元; (2) 有遗传性疾病、代谢性疾病、免疫性疾病、慢性胃肠道疾病及菌血症病史。

健康对照组纳入标准: (1) 与KD患儿年龄、性别匹配的健康儿童; (2) 顺产, 母乳喂养; (3) 家长签署知情同意书。排除标准: (1) 近1周内补充过肠道益生菌或者益生元; (2) 近1周内应用过抗生素的病史。

本研究经过首都儿科研究所附属儿童医院伦理委员会批准 (批准号: SHERLL2021054), 并由家长签署知情同意书。

### 1.2 样本采集

采用灭菌便盒收集KD患儿应用人免疫球蛋白治疗前的粪便样本, 以及健康对照组婴幼儿的新鲜粪便, 于-80℃冰箱保存。在实验室操作台上使用无菌接种环挖取粪便样本中段里部, 并分装到3支无菌冻存管内, 每管粪便量3~5 g, -80℃储存备用。

### 1.3 粪便DNA提取及纯化

将粪便复融, 取1 g粪便并加入1 mL的PBS缓冲液, 混匀, 以3 000 r/min离心5 min并去沉渣, 留取上清液重复离心3次, 然后收集上清液, 以13 000 r/min离心3 min后弃上清取沉渣; 沉渣用PBS清洗4次, 水洗1次, 然后加入50 μL蒸馏水和50 μL 1% 聚乙二醇辛基苯基醚, 100℃煮沸5 min后立即将反应管置于冰水中冷却, 使用粪便DNA提取试剂盒提取粪便DNA, 并用显微分光光度计和电泳法评价其质量和完整性。

### 1.4 宏基因组测序方法

采用 TruSeq Nano DNA LT Sample Preparation Kit 对以上样本进行基因组 DNA 的提取 (Illumina), 并使用 Covaris S220 仪将其剪切至 300~500 bp, 进行 DNA 片段化和进一步纯化。然后对片段化的 DNA 进行末端修复、a-尾链化、适配器连接等方法进行文库构建。然后在 Illumina 平台上以 PE150 模式进行测序。在测序生成后需要对原始测序数据进行一系列预处理, 包括序列的初步质控及去宿主污染。序列经过质控后, 对序列进行更为准确的功能注释分析, 需要进行宏基因组的组装分析。

### 1.5 生物信息分析

测序数据采用 Trimmomatic 软件切除接头, 用 Bowtie2 软件将双端短读原始序列同宿主基因组进行比对, 去宿主污染。随后使用 Megahit 软件进行宏基因组拼接, 使用基因预测软件 Prodigal 对拼接的较长序列进行开放阅读框架 (open reading frame, ORF) 预测, 使用 Cdhit 软件对所有样本中预测出的基因进行非冗余基因集的构建, 得到基因集代表序列后, 使用 Bowtie2 软件分别将每个样本精细过滤后的序列与非冗余基因集进行比对 (95% 置信区间), 统计基因在对应样本中的丰度信息。使用 Diamond 软件对基因集代表序列与京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 等数据库数据进行对比注释, 并同时获取物种注释, 然后在各个分类学水平上统计物种在各个样品中的丰度, 从而构建丰度谱。使用 R 软件对物种丰度谱或功能丰度谱, 进行主坐标分析 (principal coordinates analysis, PCoA) 等。

### 1.6 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件进行数据分析。计量资料符合正态分布时, 用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组样本比较采用两样本  $t$  检验。计数资料用例数和百分率或构成比 (%) 表示, 率的比较采用 Fisher 确切概率法。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

运用 Diamond 软件与 KEGG 数据库进行对比物种组成信息, 计算相应信息及丰度, 分析相应代谢通路和蛋白功能类群, 并比较两组功能差异; 使用 R 3.2.0 软件对物种丰度谱或者功能丰度谱进行相对丰度分析、主成分分析 (principle component analysis, PCA)、PCoA、非度量多维尺度分析 (nonmetric multidimensional scaling, NMDS)

降维分析和基于功能丰度的组间差异 Anosim 分析等; 利用线性判别分析 (linear discriminant analysis effect size, LEfSe) 分析获得具有显著差异的物种,  $|LDA| > 2.0$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 临床特征分析

共收集 KD 组 6 例, 健康对照组 6 例, 两组年龄、身高、体重、性别比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。两组儿童均来自北京及周边地区的汉族, 饮食习惯无明显差异。KD 组患儿白细胞 (white blood cell, WBC) 计数, 红细胞沉降率 (erythrocyte sedimentation rate, ESR), C 反应蛋白 (C-reaction protein, CRP), 肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ), 白介素 (interleukin, IL)-6 均高于健康对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 两组人口学信息及炎症指标比较

| 项目                                        | 健康对照组<br>( $n=6$ ) | KD 组<br>( $n=6$ ) | $t$ 值 | $P$ 值 |
|-------------------------------------------|--------------------|-------------------|-------|-------|
| 年龄 ( $\bar{x} \pm s$ , 岁)                 | 2.0 $\pm$ 0.9      | 2.1 $\pm$ 0.9     | 0.877 | 0.421 |
| 性别 [例(%)]                                 |                    |                   |       |       |
| 男                                         | 4(67)              | 4(67)             | -     | 1.000 |
| 女                                         | 2(33)              | 2(33)             |       |       |
| 身高 ( $\bar{x} \pm s$ , m)                 | 0.89 $\pm$ 0.10    | 0.88 $\pm$ 0.10   | 0.913 | 0.403 |
| 体重 ( $\bar{x} \pm s$ , kg)                | 12.1 $\pm$ 2.0     | 11.8 $\pm$ 2.2    | 1.644 | 0.161 |
| WBC ( $\bar{x} \pm s$ , $\times 10^9/L$ ) | 6.5 $\pm$ 1.2      | 16.0 $\pm$ 7.5    | 3.237 | 0.023 |
| ESR ( $\bar{x} \pm s$ , mm/h)             | 8 $\pm$ 3          | 76 $\pm$ 22       | 8.301 | 0.001 |
| CRP ( $\bar{x} \pm s$ , mg/L)             | 3.9 $\pm$ 1.7      | 70.2 $\pm$ 27.4   | 5.988 | 0.002 |
| TNF- $\alpha$ ( $\bar{x} \pm s$ , pg/mL)  | 6 $\pm$ 3          | 20 $\pm$ 10       | 3.502 | 0.017 |
| IL-6 ( $\bar{x} \pm s$ , pg/mL)           | 6 $\pm$ 3          | 50 $\pm$ 27       | 4.520 | 0.006 |

注: [KD] 川崎病; [WBC] 白细胞; [ESR] 红细胞沉降率; [CRP] C 反应蛋白; [TNF- $\alpha$ ] 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; [IL-6] 白介素-6。

### 2.2 肠道菌群的多样性分析

共有粪便样本 12 份, 各样本基因片段有效数据量分布在 5.22~9.47 GB, 中位非冗余基因集中 ORF 数目为 581 743。采用 PCoA 方法, 去除健康对照组中 1 个聚类较差的样本, 结果显示, 在属和种水平, 两组在菌群多样性上存在显著不同, 差异有统计学意义 (分别  $P=0.046$ 、0.049), 见图 1。



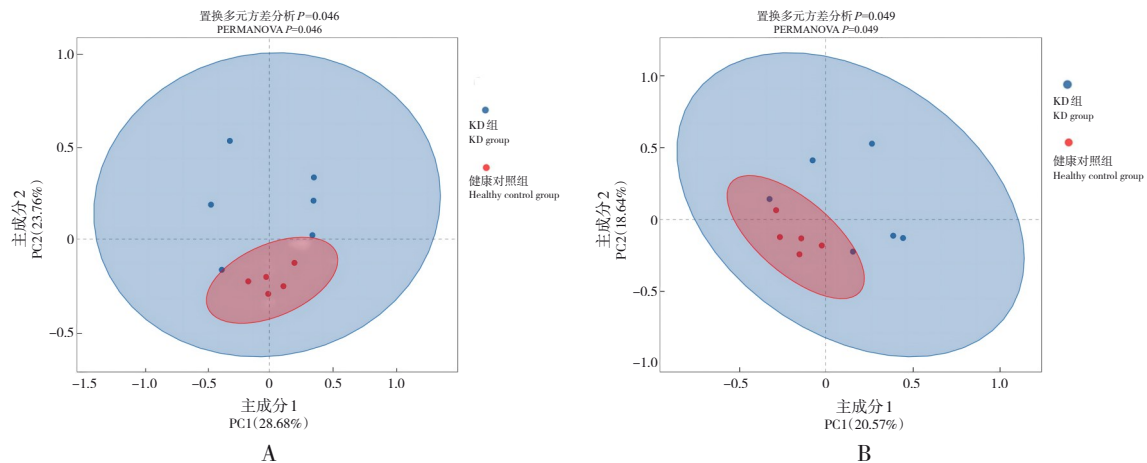


图1 KD组和健康对照组肠道菌群的PCoA多样性分析 图中每个点代表1个样本，图中椭圆为95%置信区间，横坐标代表主成分1，纵坐标代表主成分2，图A为属水平PCoA多样性分析，图B为种水平PCoA多样性分析，两组聚类分离，提示两组肠道菌群多样性存在差异。

### 2.3 不同种属水平菌群的构成分析

在门水平，KD组中，厚壁菌门（35.8%）丰度最高，其次分别是拟杆菌门（27.6%）、放线菌门（22.9%）、变形菌门（7.5%）；健康对照组中，厚壁菌门（43.1%）为优势菌门，其次分别是变形菌门（26.5%）、拟杆菌门（17.5%）、放线菌门

（7.9%），见图2A。在属水平，KD组双歧杆菌属（21.3%）、肠球菌属（17.5%）及拟杆菌属（16.7%）丰度占比较高，健康对照组埃希氏杆菌属（11.4%）丰度较高，见图2B。在种水平，KD组屎肠球菌（14%）丰度较高，健康对照组大肠埃希菌（11.2%）丰度较高，见图2C。

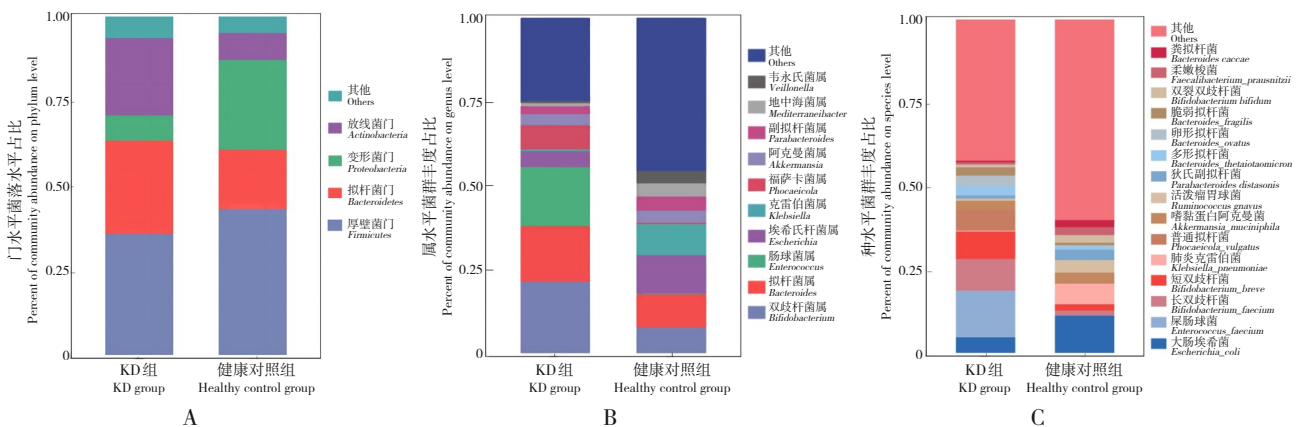


图2 两组在门、属、种水平群落结构堆积柱状图 图A为门水平，图B为属水平，图C为种水平，每根柱子代表一个组别，不同颜色对应不同菌门，色柱长短代表菌门所占比例大小。两组间各水平菌落结构组成明显不同。

### 2.4 物种差异分析

采用LEfSe对两组样本中差异显著的潜在生物学标志物进行分析。LEfSe显示KD组中单核细胞增生李斯特菌（李斯特菌科、李斯特氏菌属）（ILDAI=2.69， $P=0.025$ ）、鲁塞蒂双歧杆菌（ILDAI=2.91， $P=0.028$ ）、海氏肠球菌（ILDAI=3.10， $P=0.025$ ）、鸟肠球菌（ILDAI=3.87， $P=0.025$ ）丰度高于健康对照组，差异有统计学意义，而在健康对照组中埃斯

谷菌纲（ILDAI=4.48， $P=0.037$ ）、韦荣氏菌目（韦荣氏菌科）（ILDAI=4.43， $P=0.025$ ）、布劳特氏菌属（ILDAI=4.22， $P=0.037$ ）、梭菌属（ILDAI=4.02， $P=0.037$ ）、韦荣氏菌（ILDAI=3.95， $P=0.037$ ）丰度显著高于KD组，差异有统计学意义，见图3A。在不同系统发育水平上的种水平，其中以单核细胞增生李斯特菌、海氏肠球菌、鸟肠球菌差异最显著（图3B），且最可能具有临床意义。

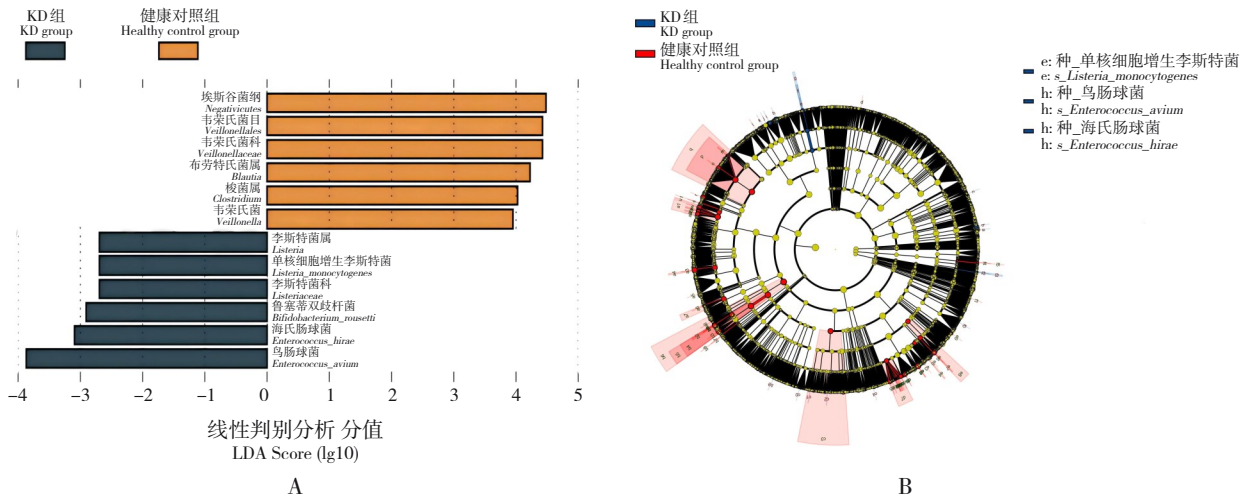


图3 物种差异分析组图 图A柱状图的长度代表差异显著物种影响的大小,  $|LDA| > 2$  表示该物种为差异有统计学意义。图B分支图中不同颜色表示不同分组, 紫色节点表示在红色组别中丰度相对较高的差异显著物种, 黄色节点表示在绿色组别中丰度相对较高的差异显著物种。

## 2.5 基于差异肠道菌群的功能水平分析

KEGG 是一个广泛使用的生物信息学数据库, 用于研究基因组、代谢组、信号通路和生物化学反应等方面的信息。本研究在 KEGG 代谢通路图功能水平进行功能丰度数据分析, 通过 LEfSe 分析两组中物种功能差异对差异贡献度大小。结果显示, KD 组中, 类固醇降解 ( $|LDA| = 2.22$ ,  $P = 0.022$ ) 和细胞凋亡 ( $|LDA| = 2.24$ ,  $P = 0.037$ ) 显著升高; 而健康对照组则在细菌分泌系统 ( $|LDA| = 3.19$ ,  $P = 0.006$ )、硫代谢 ( $|LDA| = 3.12$ ,  $P = 0.016$ )、丁酸甲酯代谢 ( $|LDA| = 3.01$ ,  $P = 0.037$ )、苯甲酸降解 ( $|LDA| = 2.90$ ,  $P = 0.037$ )、 $\beta$  丙氨酸代谢 ( $|LDA| = 2.688$ ,  $P = 0.025$ )、 $\alpha$  亚麻酸代谢 ( $|LDA| = 2.17$ ,  $P = 0.037$ ) 等方面明显升高, 差异有统计学意义。见图 4。

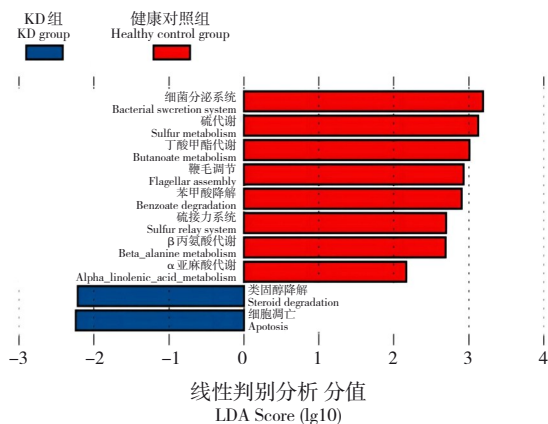


图4 物种功能差异组图 柱状图的长度代表差异显著物种影响的大小,  $|LDA| > 2$  表示该物种为差异有统计学意义。

## 3 讨论

KD 为主要发生于 5 岁以下儿童的发热出疹性疾病, 有关 KD 的发病机制目前尚未完全阐明。既往有关肠道菌群与 KD 发病机制的研究以 16S 高通量分析的方法发现 KD 肠道菌群存在微生态失调, 其中肠球菌、链球菌、志贺氏大肠菌、埃希菌等丰度较高, 表明肠道菌群紊乱可能是 KD 的致病诱因<sup>[11]</sup>。但这些研究未进行年龄分段。肠道菌群在生命之初由简单微生物开始, 随着环境、营养、生活方式、激素水平及遗传等相关因素的影响, 微生物群逐渐趋于复杂和成熟<sup>[12]</sup>。通常从 3 岁开始, 微生物群逐渐向类似成人的结构转变<sup>[13]</sup>。本研究采用宏基因组学方法分析 3 岁以内婴幼儿肠道菌群与 KD 发病的可能机制。研究发现, 在属水平, KD 组单核细胞增生李斯特菌、鲁塞蒂双歧杆菌、海氏肠球菌、鸟肠球菌丰度明显高于健康对照组, 埃斯谷菌纲、布劳特氏菌属、梭菌属、韦荣氏菌明显降低, 提示存在肠道菌群失调。已有研究报道肠道微生物区系的失衡可能间接干扰先天性免疫和获得性免疫功能, 并且可变的微生物区系与环境因素相互作用可能选择性地促进遗传易感儿童 KD 的发生<sup>[14]</sup>。KEGG 数据库将生物代谢通路划分为 7 类, 即细胞过程、环境信息处理、遗传信息处理、人类疾病、新陈代谢、生物体系统、药物发展, 其中每类又被系统分类为二、三、四层。本研究深入到第三层功能水平, 即代谢通路图水平, 筛选到功能差异显著的生物标志物。在

KD组中,类固醇降解和细胞凋亡通路显著升高,而健康对照组则在细菌分泌系统、硫代谢、丁酸甲酯代谢、苯甲酸降解、 $\beta$ 丙氨酸代谢、 $\alpha$ 亚麻酸代谢等通路较KD组显著升高。提示这些通路可能参与KD发病机制。

越来越多的证据表明,稳态微生物群的破坏会导致病原体富集、促炎代谢物产生和炎症通路激活<sup>[15-16]</sup>。研究表明肠道菌群是影响和调节机体免疫系统免疫应答的重要因素<sup>[17]</sup>,目前导致KD免疫失衡的具体机制尚未完全阐明。因此对KD患儿肠道菌群进行研究,寻找对相关免疫功能改变产生关键作用的菌属或菌种,可能为KD发生发展的预防和治疗提供新思路和新策略。

本研究还发现海氏肠球菌、鸟肠球菌在KD组中患儿粪便中明显增加。国内外均有研究显示,肠球菌在KD组较健康对照组有显著富集,可能参与KD的发病<sup>[11, 18]</sup>。研究表明肠球菌可以通过细胞溶解素、肠球菌表面蛋白、肠球菌胶原蛋白黏附素等致病<sup>[19]</sup>,推测肠球菌可能通过黏附素的作用,分泌细胞溶解素及明胶酶等毒性物质,侵袭宿主组织细胞,并产生非特异性免疫应答,产生大量炎症因子,诱发超级免疫炎症反应,从而参与KD的发生发展。国外有研究显示,粪肠球菌的定植可降低小鼠体内内源性糖皮质激素皮质酮的水平<sup>[20]</sup>。与此相似,本研究显示肠球菌属的富集与KD患儿体内类固醇降解明显相关,可能通过改变KD患儿体内激素水平,影响免疫功能状态,进而参与KD的发病机制。

本研究还发现单核细胞增生李斯特菌在KD组明显升高。李斯特菌为侵袭性胞内菌,进入人体肠道后,可以借助其表面的内化蛋白与肠上皮细胞表面的钙黏蛋白结合,通过胞饮作用进入肠上皮细胞,在李斯特自溶素等<sup>[21]</sup>感染机制作用下,从膜囊泡中释放至细胞质中,并在细胞膜繁殖,引起败血症<sup>[22]</sup>。每一步均有特定的毒力因子调控,最终引起严重感染<sup>[23]</sup>,同时促进炎症因子IL-1 $\beta$ 和IL-18等的表达和分泌,诱导免疫炎症应答,导致细胞凋亡<sup>[24]</sup>。故考虑李斯特菌在肠道富集过度,引起严重感染,进而诱发全身免疫炎症反应,从而参与KD的发生与发展。本研究中KD组肠道菌群的构成变化,与国外研究相比有所不同<sup>[25]</sup>,可能与人群种族的基因、饮食、药物使用等不同有关。为避免分娩方式和喂养方式可能对肠道菌群造成的影响,本课题研究对象选择顺产、母乳喂

养的婴幼儿。为避免不同抗生素使用对肠道菌群构成的影响,本研究选用KD患儿采集粪便之前均应用同一种抗生素(头孢曲松)。以上这些严苛的限制条件在既往的研究中<sup>[26-27]</sup>尚未报道。

本研究的不足之处在于样本量偏小,且目前研究提示的结果有待通过基础实验研究验证。

综上所述,婴幼儿KD急性期患儿肠道菌群在物种组成、丰度差异及各种功能水平上,均与健康儿童存在显著差异;KD急性期患儿单核细胞增生李斯特菌、海氏肠球菌和鸟肠球菌丰度升高,并且可能通过类固醇降解及细胞凋亡通路参与KD的发病机制,具体机制有待进一步验证和深入研究。

作者贡献声明:王宏茂负责研究设计、采集和分析数据、论文撰写;张明明负责对研究的指导和提出可行性意见;林瑶、刘杨负责督促和数据分析;薛冠华负责研究设计、数据分析及指导;石琳负责研究设计和督促指导;袁静负责研究设计及指导;李晓惠负责研究设计、论文修改、实验指导及部分经费支持。

利益冲突声明:所有作者声明不存在利益冲突。

## [参 考 文 献]

- [1] McCrindle BW, Rowley AH, Newburger JW, et al. Diagnosis, treatment, and long-term management of Kawasaki disease: a scientific statement for health professionals from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2017, 135(17): e927-e999. PMID: 28356445. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000484.
- [2] Lei WT, Chang LS, Zeng BY, et al. Pharmacologic interventions for Kawasaki disease in children: a network meta-analysis of 56 randomized controlled trials[J]. *EBioMedicine*, 2022, 78: 103946. PMID: 35306339. PMCID: PMC8933672. DOI: 10.1016/j.ebiom.2022.103946.
- [3] Gomaa EZ. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2020, 113(12): 2019-2040. PMID: 33136284. DOI: 10.1007/s10482-020-01474-7.
- [4] Dai Y, Shen Z, Khachatryan LG, et al. Unraveling mechanistic insights into the role of microbiome in neurogenic hypertension: a comprehensive review[J]. *Pathol Res Pract*, 2023, 249: 154740. PMID: 37567034. DOI: 10.1016/j.prp.2023.154740.
- [5] Tang WHW, Li DY, Hazen SL. Dietary metabolism, the gut microbiome, and heart failure[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2019, 16(3): 137-154. PMID: 30410105. PMCID: PMC6377322.



- DOI: 10.1038/s41569-018-0108-7.
- [6] Felizardo RJF, Watanabe IKM, Dardi P, et al. The interplay among gut microbiota, hypertension and kidney diseases: the role of short-chain fatty acids[J]. *Pharmacol Res*, 2019, 141: 366-377. PMID: 30639376. DOI: 10.1016/j.phrs.2019.01.019.
- [7] Gorelik M, Chung SA, Ardalan K, et al. 2021 American College of Rheumatology/Vasculitis Foundation guideline for the management of Kawasaki disease[J]. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2022, 74(4): 538-548. PMID: 35257507. DOI: 10.1002/acr.24838.
- [8] Chen J, Yue Y, Wang L, et al. Altered gut microbiota correlated with systemic inflammation in children with Kawasaki disease[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 14525. PMID: 32884012. PMCID: PMC7471315. DOI: 10.1038/s41598-020-71371-6.
- [9] Tamburini S, Shen N, Wu HC, et al. The microbiome in early life: implications for health outcomes[J]. *Nat Med*, 2016, 22(7): 713-722. PMID: 27387886. DOI: 10.1038/nm.4142.
- [10] 林瑶, 李晓惠, 石琳, 等. 2017年版《川崎病的诊断、治疗及远期管理——美国心脏协会对医疗专业人员的科学声明》解读[J]. *中国实用儿科杂志*, 2017, 32(9): 641-648. DOI: 10.19538/j.ek2017090601.
- [11] Zeng Q, Zeng R, Ye J. Alteration of the oral and gut microbiota in patients with Kawasaki disease[J]. *PeerJ*, 2023, 11: e15662. PMID: 37456866. PMCID: PMC10340105. DOI: 10.7717/peerj.15662.
- [12] Ahearn-Ford S, Berrington JE, Stewart CJ. Development of the gut microbiome in early life[J]. *Exp Physiol*, 2022, 107(5): 415-421. PMID: 35041771. PMCID: PMC9305283. DOI: 10.1113/EP089919.
- [13] Milani C, Duranti S, Bottacini F, et al. The first microbial colonizers of the human gut: composition, activities, and health implications of the infant gut microbiota[J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2017, 81(4): e00036-17. PMID: 29118049. PMCID: PMC5706746. DOI: 10.1128/MMBR.00036-17.
- [14] Kaneko K, Akagawa S, Akagawa Y, et al. Our evolving understanding of Kawasaki disease pathogenesis: role of the gut microbiota[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1616. PMID: 32793240. PMCID: PMC7393004. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01616.
- [15] Rowley AH. Is Kawasaki disease an infectious disorder?[J]. *Int J Rheum Dis*, 2018, 21(1): 20-25. PMID: 29105346. PMCID: PMC5777874. DOI: 10.1111/1756-185X.13213.
- [16] Tsoukas P, Yeung RSM. Kawasaki disease-associated cytokine storm syndrome[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2024, 1448: 365-383. PMID: 39117827. DOI: 10.1007/978-3-031-59815-9\_25.
- [17] Esposito S, Polinori I, Rigante D. The gut microbiota-host partnership as a potential driver of Kawasaki syndrome[J]. *Front Pediatr*, 2019, 7: 124. PMID: 31024869. PMCID: PMC6460951. DOI: 10.3389/fped.2019.00124.
- [18] 沈男, 王莹, 王兴翠, 等. 川崎病对儿童肠道菌群的影响[J]. *基础医学与临床*, 2019, 39(5): 636-640. DOI: 10.3969/j.issn.1001-6325.2019.05.005.
- [19] Fiore E, Van Tyne D, Gilmore MS. Pathogenicity of *Enterococci* [J]. *Microbiol Spectr*, 2019, 7(4): 10.1128/microbiolspec.gpp3-0053-2018. PMID: 31298205. PMCID: PMC6629438. DOI: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0053-2018.
- [20] Wu WL, Adame MD, Liou CW, et al. Microbiota regulate social behaviour via stress response neurons in the brain[J]. *Nature*, 2021, 595(7867): 409-414. PMID: 34194038. PMCID: PMC8346519. DOI: 10.1038/s41586-021-03669-y.
- [21] Agbavor C, Zimmnicka A, Kumar A, et al. The chaperone PrsA2 regulates the secretion, stability, and folding of listeriolysin O during *Listeria monocytogenes* infection[J]. *mBio*, 2024, 15(7): e0074324. PMID: 38809022. PMCID: PMC11253611. DOI: 10.1128/mbio.00743-24.
- [22] Skrobas U, Zie WS, Bielewicz J, et al. The rapidly progressing and fatal outcome of rhombencephalitis by listeriosis in a 61-year-old male[J]. *Ann Agric Environ Med*, 2024, 31(2): 311-314. PMID: 38940119. DOI: 10.26444/aaem/178178.
- [23] Wing EJ, Gregory SH. *Listeria monocytogenes*: clinical and experimental update[J]. *J Infect Dis*, 2002, 185 Suppl 1: S18-S24. PMID: 11865436. DOI: 10.1086/338465.
- [24] Ling Z, Zhao D, Xie X, et al. *inlF* enhances *Listeria monocytogenes* early-stage infection by inhibiting the inflammatory response[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 11: 748461. PMID: 35223532. PMCID: PMC8866704. DOI: 10.3389/fcimb.2021.748461.
- [25] Shen J, Ding Y, Yang Z, et al. Effects of changes on gut microbiota in children with acute Kawasaki disease[J]. *PeerJ*, 2020, 8: e9698. PMID: 33005487. PMCID: PMC7512135. DOI: 10.7717/peerj.9698.
- [26] Teramoto Y, Akagawa S, Hori SI, et al. Dysbiosis of the gut microbiota as a susceptibility factor for Kawasaki disease[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1268453. PMID: 38022552. PMCID: PMC10644744. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1268453.
- [27] Khan I, Li XA, Law B, et al. Correlation of gut microbial compositions to the development of Kawasaki disease vasculitis in children[J]. *Future Microbiol*, 2020, 15: 591-600. PMID: 32490694. DOI: 10.2217/fmb-2019-0301.

(本文编辑: 王颖)

(版权所有©2024 中国当代儿科杂志)