

DOI:10.13350/j.cjpb.240408

• 论著 •

高度近视性与年龄相关性白内障患者泪液微生物构成差异研究*

许衍辉**, 陈娅, 李楠, 张越, 孟克青, 张武林, 陈志敏

(河北省眼科医院, 河北省眼科重点实验室, 河北省眼科研究所白内障科, 河北邢台 054000)

【摘要】 目的 探讨高度近视性白内障(HMC)和年龄相关性白内障(ARC)患者泪液微生物组成的差异,为白内障的微生物学研究提供新的视角。方法 采用前瞻性研究设计,分别从15例HMC患者和15例ARC患者中收集泪液样本。应用16s RNA高通量测序技术分析微生物DNA,并结合非度量多维尺度分析(NMDS)和主成分分析(PCA)对微生物群落多样性进行评估。使用PERMANOVA对两种类型白内障患者的泪液微生物组成进行比较。结果 HMC组和ARC组在厚壁菌门、变形菌门和放线菌门的平均占比分别为(33.29±6.96)%,(21.20±6.22)%,(9.83±6.88)%。具体到属水平,HMC组的棒状菌属、链球菌属和沙雷氏菌属丰度最高,而ARC组则为沙雷氏菌属、棒状菌属和葡萄球菌属。在HMC组中,棒状杆菌属的丰度显著升高($P<0.05$),而ARC组中葡萄球菌属的丰度降低($P<0.05$)。两组患者的Alpha多样性分析显示泪液微生物群落种类丰富,但组间无显著差异($P>0.05$)。Beta多样性分析和置换多变量方差分析(PERMANOVA)进一步证实了HMC组和ARC组间存在显著的微生物组成差异($P<0.05$)。微生物组代谢功能预测显示两组患者泪液中微生物组主要关联于短链脂肪酸、抗氧化剂、B族维生素等代谢功能。结论 HMC和ARC患者的泪液微生物组成存在差异,这可能与两种白内障不同的病理过程有关,为进一步研究白内障的微生物学机制及其在白内障预防和治疗中的潜在应用奠定了基础。

【关键词】 高度近视性白内障;年龄相关性白内障;泪液微生物组;高通量测序;微生物多样性

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1673-5234(2024)04-0417-07

[Journal of Pathogen Biology. 2024 Apr.;19(4):417-423.]

A comparative study of the tear microbiome in patients with highly myopic cataracts and age-related cataracts

XU Yanhui, CHEN Ya, LI Nan, ZHANG Yue, MENG Keqing, ZHANG Wulin, CHEN Zhimin (Hebei Provincial Eye Hospital, Hebei Provincial Key Laboratory of Ophthalmology, Hebei Provincial Institute of Ophthalmology, Xingtai 054000, Hebei, China)***

【Abstract】 **Objective** To explore the differences in the tear microbiome composition of patients with high myopia cataract (HMC) and age-related cataract (ARC), and provide a new perspective for microbiological research on cataract.

Methods A prospective study design was adopted to collect tear samples from 15 HMC patients and 15 ARC patients. 16s RNA high-throughput sequencing technology was used to analyze microbial DNA, and non-metric multidimensional scaling analysis (NMDS) and principal component analysis (PCA) were combined to evaluate microbial community diversity. PERMANOVA was used to compare the tear microbial composition of patients with two types of cataracts.

Results The average proportions of *Firmicutes*, *Proteobacteria* and *Actinobacteria* in the HMC group and ARC group were (33.29±6.96)%, (21.20±6.22)% and (9.83±6.88)% respectively. Specifically at the genus level, the HMC group had the highest abundance of the genera *Corynebacterium*, *Streptococcus* and *Serratia*, while the ARC group had the highest abundance of *Serratia*, *Corynebacterium* and *Staphylococcus*. In the HMC group, the abundance of *Corynebacterium* was significantly increased ($P<0.05$), while the abundance of *Staphylococcus* was decreased in the ARC group ($P<0.05$). Alpha diversity analysis of the two groups of patients showed that the tear microbial community was rich in species, but there was no significant difference between the groups ($P>0.05$). Beta diversity analysis and permutation multivariate analysis of variance (PERMANOVA) further confirmed that there were significant differences in microbial composition between the HMC group and the ARC group ($P<0.05$). The prediction of microbiome metabolic function showed that the microbiome in the tears of the two groups of patients was mainly related to metabolic functions

* **【基金项目】** 河北省科技厅民生科技专项(No. 192777103);河北省社会发展领域专项(No. 2021ZC066);邢台市重点研发计划项目(No. 2022zz073)。

** **【通讯作者(简介)】** 许衍辉(1981-),女,河北威县人,本科,副主任医师,主要研究方向:白内障,晶状体疾病。E-mail: xuyh11525@163.com

such as short-chain fatty acids, antioxidants, and B vitamins. **Conclusion** There are differences in the composition of tear microorganisms between HMC and ARC patients, which may be related to the different pathological processes of the two cataracts, laying the foundation for further research on the microbiological mechanism of cataract and its potential application in cataract prevention and treatment.

【Key words】 high myopia cataract; age-related cataract; tear microbiome; high-throughput sequencing; microbial diversity

白内障作为一种常见的眼部疾病,是全球成年人视力丧失的主要原因之一,随着人口老龄化的加剧,白内障的发病率呈现上升趋势^[1-2]。白内障可以分为多种类型,其中高度近视性白内障(High myopia cataract, HMC)和年龄相关性白内障(Age-related cataract, ARC)为临床上常见的两种形式^[3-4]。HMC往往与眼球解剖和生物力学的改变有关^[5-6],而ARC则与年龄增长导致的自然晶状体变性密切相关^[7-8]。尽管目前对白内障的病因已有一定了解,但是具体的发病机制尚未完全明确,特别是微生物因素在其中的作用尚未得到充分研究。

近年来,微生物组学作为一项新兴技术,已经在多个领域显示了其研究的重要性。微生物组学是指对微生物群落的组成、功能和动态变化的系统研究,它不仅提供了一个全新的角度来理解人体健康和疾病,还对疾病的预防、诊断和治疗提供了新的思路^[9]。微生物组学研究已经在肠道疾病、心血管疾病、肥胖、甚至精神疾病等多个领域揭示了微生物与宿主健康之间的密切联系^[10-11]。在眼科领域,人们对于眼部微生物群落的研究开始逐渐增多,如泪液微生物组的研究就揭示了眼部健康状态与微生物组之间的相关性^[12-13]。泪液作为眼表的重要组成部分,不仅为角膜和结膜提供必要的营养和保护,还可能扮演着反映眼部以及全身健康状况的“窗口”^[14-15]。泪液中的微生物组成可能会随着眼部疾病的状态而发生变化,从而为诊断和治疗提供新的依据,尤其是在白内障这种与年龄和眼部结构变化紧密关联的疾病中。

然而,目前关于白内障患者的泪液微生物组的相关研究相对较少,特别是在HMC和ARC之间的比较尚属空白。本研究旨在通过16sRNA高通量测序技术,深入探索这两种白内障类型患者泪液中的微生物组成,并分析两者之间是否存在显著差异,旨在为临床鉴别诊断提供新的视角,全面地理解白内障的复杂病理过程和微生物的角色,为白内障的预防、诊断和治疗策略的优化提供科学依据。

材料与方 法

1 研究对象

本研究为前瞻性研究,于2023年1-8月分别纳入

于河北省眼科医院白内障科就诊的HMC患者15例以及ARC患者15例。本研究严格符合《赫尔辛基宣言》原则和临床规范,所有患者在充分了解本研究目的及研究内容的前提下均签署了书面知情同意书,本研究中收集的所有数据和样本都以匿名的形式处理,确保参与者的隐私得到保护本研究获得河北省眼科医院医学伦理委员会批准(伦理批准编号:2022KY22)。

对于HMC患者,眼轴长度(Axial length, AL) > 26 mm,年龄为18岁及以上,性别不限,所有患者均需通过全面的眼科检查(包括远距裸眼视力、矫正视力)对患者的白内障进行诊断。本研究的排除标准为患者6个月内存在眼部手术史、眼部感染或炎症病史。此外,患有全身系统性疾病,如糖尿病、自身免疫性疾病等可能影响泪液微生物组的疾病也将被排除。同时,近期使用过抗生素、抗炎药或免疫抑制剂治疗的患者也不予以纳入。

对于ARC患者,纳入标准为专业眼科医师通过全面的眼科检查确诊为ARC的患者,年龄为50岁及以上,性别不限。排除标准与HMC组一致。

2 泪液样本收集

在本研究中,为了确保微生物组分析的准确性的同时最小化泪液采集过程对患者产生的不适,本研究采用非侵入性的微刺激采集泪液。研究人员使用无菌棉签轻触患者外侧眼睑近泪囊的区域诱导泪液分泌,使用一次性毛细管泪液采集器采集泪液样本,采集的泪液量至少为5 μ L并立即被转移到无菌的Eppendorf(EP)管中。随后,样本被置入液氮中冷冻后储存于-80 $^{\circ}$ C冰箱,直至进行DNA提取。

3 微生物组学分析

为了保证DNA提取的质量和效率,本研究采用了QIAamp DNA Microbiome Kit商业化DNA提取盒(Qiagen,德国),并严格按照制造商的操作指南进行。在提取过程中,所有操作都在无菌条件下进行,以避免导致样品污染的外部DNA引入。

对提取的DNA进行聚合酶链式反应(Polymerase chain reaction, PCR)扩增,特别是针对细菌的16S rRNA基因V3-V4区域,这一区域因其高变性和适中长度,适合用来区分不同的细菌种类;真菌微生物群落分析则通过扩增内转录间隔区(Internal

transcribed spacer, ITS) 来实现。采用 AMPure XP beads(Beckman Coulter, USA) 对 PCR 产物进行纯化,并被用于后续文库的构建,并在 Illumina NovaSeq 平台(Illumina, USA)进行高通量双端测序,为微生物组的多样性和结构分析提供基础。

在测序完成后,本研究对原始数据进行了一系列质量控制步骤,包括去除低质量和短读序列,以及识别和剔除嵌合体序列。然后,利用特定的生物信息学软件和数据库,对去噪后的序列进行操作分类单元(Operational taxonomic units, OTUs)的聚类,以及对聚类后的 OTUs 进行分类学注释。

4 统计学分析

采用 SPSS 统计软件包(版本 22.0)和 R 软件(版本 4.3.0)进行统计分析。为了反映出微生物群落的丰富度和均匀度,以及为进一步理解个体微生物的多样性提供基础,本研究计算 Alpha 多样性指数(包括 Shannon、Simpson 和 Chao1 指数)来评估样本的微生物多样性,同时,采用独立样本 *t* 检验分析 HMC 组和 ARC 组之间的差异。为了识别在 HMC 患者和 ARC 患者泪液中的微生物群落结构模式,本研究通过 Beta 多样性分析来比较 HMC 和 ARC 患者之间的微生物组成差异,采用非度量多维尺度分析(Non-metric multidimensional scaling analysis, NMDS)以及主成分分析(Principal component analysis, PCA)方法,在多维空间中可视化两组样本间的相似性和差异性。为了确定微生物组成变化与两种白内障类型是否相关联,采用置换多元方差分析(Permutational multivariate analysis of variance, PERMANOVA)的多变量统计方法来测试 HMC 组与 ARC 组患者泪液微生物组成的差异是否具有统计学意义。采用独立样本 *t* 检验对 HMC 和 ARC 两组患者的基线人口统计学数据进行差异分析,采用均值±标准差(Mean±SD)进行描述,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1 一般资料

HMC 组和 ARC 组入组前的基线描述性统计数据见表 1。HMC 组患者的年龄相较于 ARC 组明显较低($P<0.05$),进一步表明 ARC 组患者的白内障均与年龄相关,而由于 HMC 组患者的白内障是由高度近视引起,与统计学检验的结果一致。由于本研究的两组患者的晶状体存在明显浑浊,因此,两组患者的远距 logMAR 裸眼视力和矫正视力未发现统计学差异($P>0.05$),而由于 HMC 组患者的存在明显的近视,因此其眼轴长度相对于 ARC 组患者明显长约 2.6 mm($P<0.05$)。

表 1 HMC 组和 ARC 组的基线人口统计学特征比较
Table 1 Comparison of baseline demographic characteristics between HMC and ARC group

项目	HMC 组	ARC 组	<i>t</i>	<i>P</i>
人数	15	15	-	-
性别(男:女)	8:7	5:10	-	-
平均年龄(岁)	33.41±12.21	64.22±8.34	4.59	0.001
裸眼视力(logMAR)	1.75±0.33	1.74±0.41	0.85	0.402
矫正视力(logMAR)	1.88±0.23	1.86±0.37	-1.29	0.233
眼轴长度(mm)	27.63±0.52	25.02±0.27	3.26	0.001

2 16S rRNA 基因测序质量控制

获得的有效序列频数分布见图 1,最终去嵌合体(non-chimeric)序列的数量分布在 9 000~9 400 范围。本研究对 HMC 组和 ARC 组各自 15 例样本的原始序列进行质控、纠正错误序列(denoised)、拼接(merged)、去嵌合体(non-chimeric)、形成 OUT 的过程数据见表 2,结果显示经过一系列质量控制后的数据仍然保留了绝大部分的序列,体现了本研究的测序数据的可靠性较高。

表 2 HMC 组和 ARC 组的质量控制结果对比
Table 2 Comparison of quality control results between HMC group and ARC group

指标	HMC 组	ARC 组	<i>t</i>	<i>P</i>
质量控制	9490.00±121.13	9476.00±133.24	0.65	0.525
质控后序列占比(%)	83.67±1.07	83.55±1.17	-1.11	0.273
去噪序列	9390.00±121.13	9420.00±113.39	0.30	0.762
拼接序列	9290.00±119.23	9320.00±115.56	-0.85	0.400
拼接序列占比(%)	81.91±1.05	82.17±1.24	1.25	0.211
去嵌合体序列	9150.00±111.34	9203.00±117.82	-0.52	0.623
去嵌合体序列占比(%)	80.67±1.09	81.14±1.16	0.14	0.926

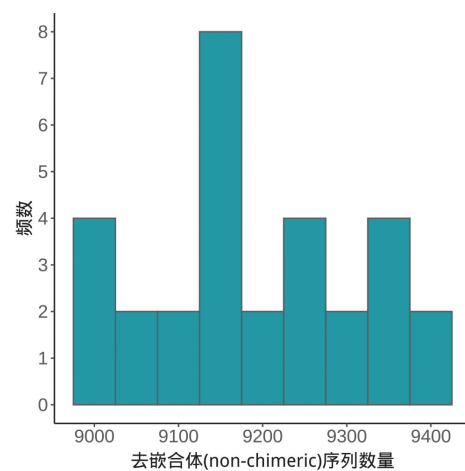


图 1 质量控制后去嵌合体(Non-chimeric)序列频数分布
Fig. 1 Frequency distribution of de-chimeric (non-chimeric) sequences after quality control

3 微生物组结构分析

本研究基于所有 30 例泪液样本最终形成的 OTU 特征序列,经过与 Greengenes Database 数据库(版本:13.8)进行比对,获得了 HMC 和 ARC 患者泪液的微

生物物种组成及多样性注释信息^[16]。基于 OTU 的丰度及注释信息,本研究对每例泪液样本在界(Kingdom)、门(Phylum)、纲(Class)、目(Order)、科(Family)、属(Genus)、种(Species)等 7 个水平的序列占比进行了统计。如图 2 所示,所有 30 例泪液样本的 OTU 在门水平注释的相对占比中,厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)以及放线菌门(Actinobacteriota)分别为前三优势微生物种类,在两组中的平均占比分别为(33.29±6.96)%,(21.20±6.22)% ,以及(9.83±6.88)%。

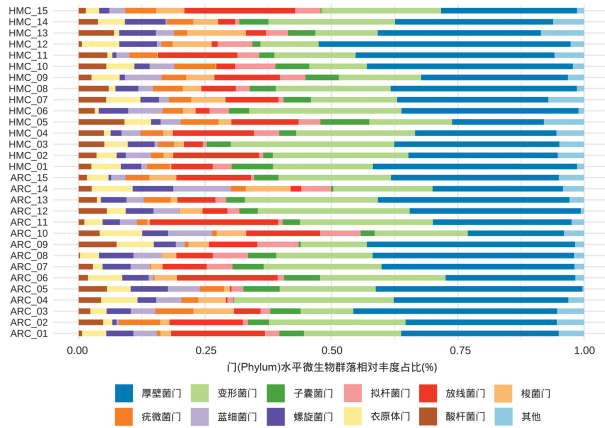


图 2 HMC 组和 ARC 组泪液样本的门(Phylum)水平微生物结构占比
Fig. 2 Percentage of microbial structure at the gate(Phylum) level in tear fluid samples from the HMC and ARC groups

对于 HMC 组泪液样本,在丰度最高的 10 种属水平微生物群落中,棒状菌属(15.33±4.58)%、链球菌属(14.26±5.21)%、沙雷氏菌属(13.19±4.24)%为前三类优势菌落(图 3);而对于 ARC 组患者的泪液样本,沙雷氏菌属(14.05±5.11)%、棒状菌属(13.74±4.88)%、葡萄球菌属(13.36±6.14)%为前三优势菌落(图 3)。在两组各自的优势菌落中,沙雷氏菌属和棒状菌属为两组的共有优势菌落。

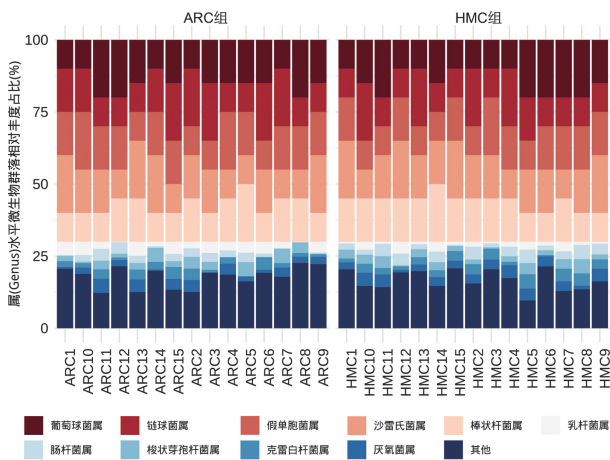


图 3 HMC 组和 ARC 组属(Genus)水平微生物菌落结构占比
Fig. 3 Percentage of microbial colony structure at genus(Genus) level in HMC and ARC groups

4 属水平微生物组差异分析

在属水平对 ARC 组和 HMC 组的微生物菌落结构的前 10 优势菌属的占比进行类差异分析,结果表明在 HMC 患者和 ARC 患者的泪液中,前 10 优势菌属的结构分布占比一致(图 4),其中,HMC 组与 ARC 组相比,棒状杆菌属的丰度占比明显升高($P < 0.05$)(图 5),葡萄球菌属的丰度占比明显降低($P < 0.05$)(图 5),该结果与前述微生物组的结构分析一致(前三优势菌属),棒状杆菌属与葡萄球菌属分别为 HMC 组和 ARC 组的特异性优势菌属。其余菌属在两组患者的泪液样本之间均未发现明显的统计学差异($P > 0.05$)。

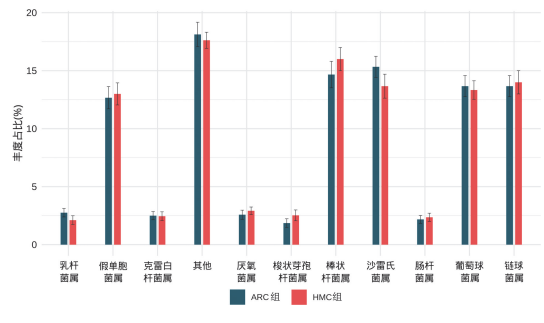


图 4 HMC 组和 ARC 组泪液属水平微生物组丰度差异
Fig. 4 Differences in microbiome abundance at the tear genus level between the HMC and ARC groups

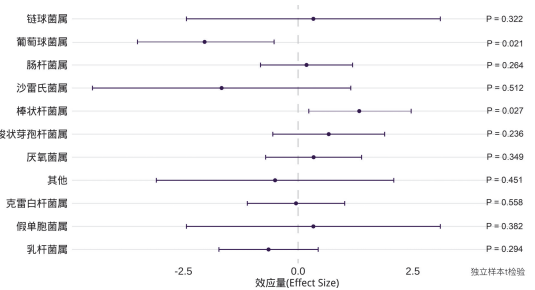


图 5 HMC 组相对于 ARC 组泪液属水平微生物组丰度差异森林图
Fig. 5 Forest plot of differences in microbiome abundance at the lacrima genus level in the HMC group relative to the ARC group

5 Alpha 多样性分析

Alpha 多样性指数是对 HMC 组和 ARC 组患者泪液样本中物种多样性的分析,包括泪液微生物组成的均匀度和丰富度两个维度。本研究中采用 Shannon 指数、Simpson 指数和 Chao1 指数进行评估。HMC 组的 Shannon 指数、Simpson 指数和 Chao1 指数分别为 1.90 ± 0.40 , 0.82 ± 0.06 , 28.86 ± 10.04 ;相应地,ARC 组分别为 2.15 ± 0.55 , 0.85 ± 0.12 , 29.21 ± 8.62 。如图 6 所示,HMC 组和 ARC 组均显示出了较高的微生物群落多样性,提示两组患者泪液中的微生物群落种类丰富,并且 3 种指数在两组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

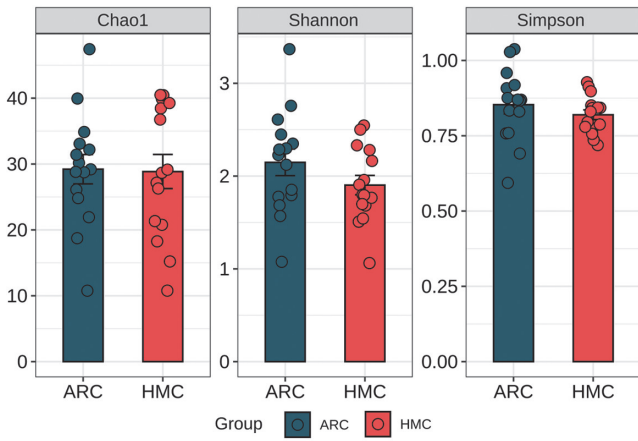


图 6 HMC 组和 ARC 组不同指数的 Alpha 多样性分析对比
Fig. 6 Comparison of Alpha diversity analysis of different indices in HMC and ARC groups

6 Beta 多样性分析

本研究采用基于 Bray-Curtis 距离矩阵的非度量多维尺度分析 (NMDS) 和主成分分析 (PCA) 方法对 HMC 组和 ARC 组的泪液微生物组进行 Beta 多样性分析。NMDS 分析能够在较低维度的空间中探索样本间的相异性, 而不会受到原始高维数据的限制。本研究的分析更侧重于群落水平上的比较, 而非单独物种与维度之间的关系, 如表 3 和图 7 所示, 一般而言, NMDS 拟合质量可接受的边界 Stress 值为 0.2, 本研究中的拟合优度值 (Stress) 为 0.2313, 表明所用模型的整体拟合程度是可接受的, 但也提示在解释结果时应持谨慎态度。值得注意的是, 尽管进行了 20 次尝试, 最优解并未重复出现, 意味着我们得到的最佳配置可能在一定程度上是不稳定的。这一点在随机开始的第 13 次尝试中得到了最佳解。

表 3 非度量多维尺度分析 (NMDS) 结果
Table 3 Non-metric multidimensional scaling analysis (NMDS) results

指标	结果	备注
维度	2	选择二维空间以便于解释和可视化
拟合优度值	0.2313	拟合程度是可接受
尝试次数	20	最佳结果未在 20 次尝试中重现
最佳解尝试	第 13 次随机开始	稳定性可能有限
距离度量	Bray-Curtis	适合评价物种组成差异

本研究中利用主成分分析 (PCA) 探究了 HMC 组和 ARC 两组在数据集的方差-协方差结构中的差异。结果表明, 本研究的 PCA 总惯性 (Inertia) 为 71.16%, 表明所提取的主成分能够解释约 71.16% 的数据变异。本研究中的 PC1 (16.73%) 和 PC2 (14.36%) 是两个最主要的主成分, 如图 8 所示, 两组之间有分离的趋势, 但也存在一些重叠的属性, 提示两组之间可能存在一些共同的变量影响。

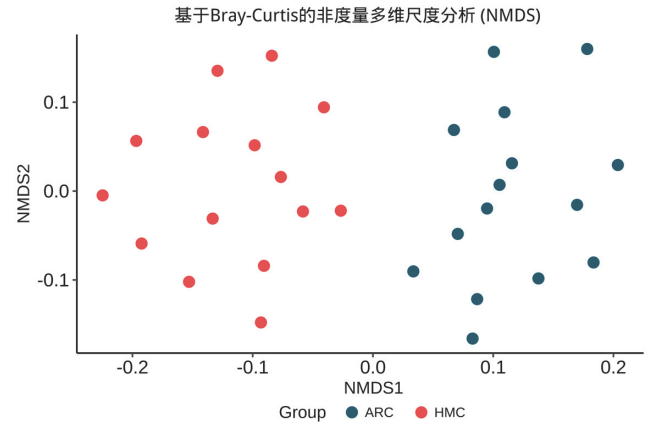


图 7 HMC 组和 ARC 组生物群落组成的非度量多维尺度排序 (NMDS) 图
Fig. 7 Non-metric multidimensional scaling disorder (NMDS) plot of biome composition for the HMC and ARC groups

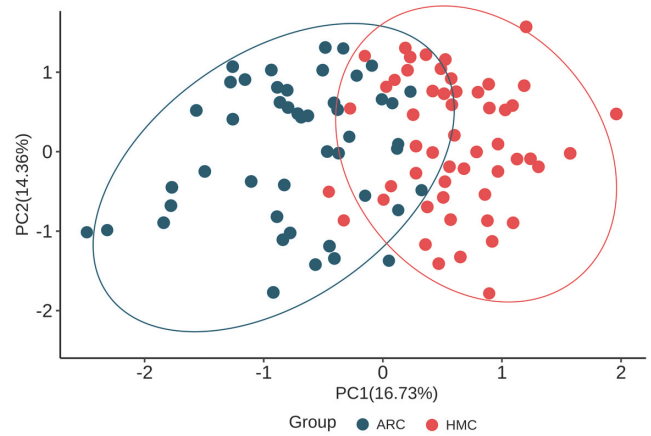


图 8 HMC 组和 ARC 组操作分类单元 (OTU) 的主成分分析 (PCA) 结果
Fig. 8 Results of Principal Component Analysis (PCA) of Operational Classification Units (OTUs) for HMC and ARC groups

7 置换多变量方差分析

为了评估 HMC 组和 ARC 组在多个维度上是否存在显著的生物群落组成差异, 本研究还进行了置换多变量方差分析 (PERMANOVA)。如表 4 所示, 基于模型 999 次随机排列, 组间差异的平方和为 0.35812, 解释了总变异的 14.60% ($R^2 = 0.14597$), 差异有统计学意义 ($P > 0.05$), 表明 HMC 组和 ARC 组之间在微生物组成上存在不同。

表 4 置换多变量方差分析 PERMANOVA 结果
Table 4 Permutation multivariate variance analysis (PERMANOVA) results

指标	自由度	差异平方和	R^2	F 量	P
组间差异	1	0.35812	0.14597	4.7855	0.001
剩余变异	28	2.09533	0.85403	-	-
总变异	29	2.45345	1	-	-

8 微生物组代谢功能预测

本研究对 HMC 组和 ARC 组中共同的微生物组

分进行了代谢功能预测,结果显示,两组患者泪液中的微生物组主要富集在短链脂肪酸、抗氧化剂、B族维生素、氨基酸代谢、多酚类物质代谢、脂肪酸代谢、胆碱代谢、维生素A代谢、甘氨酸和丙氨酸以及甲烷产生等功能(图9)。

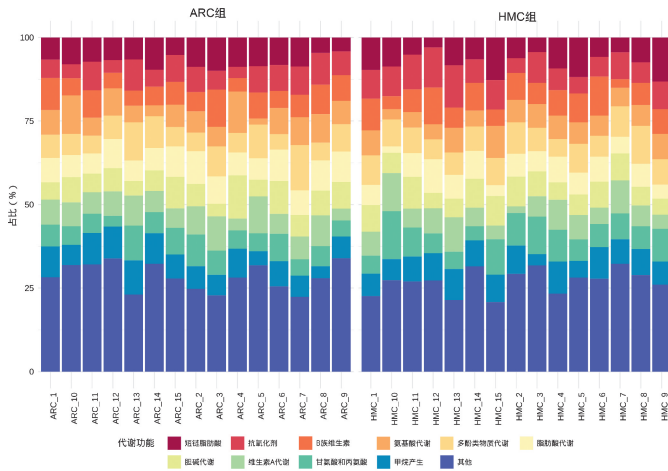


图9 HMC组和ARC组共同微生物组分的代谢功能预测
Fig. 9 Predicted metabolic functions of common microbial fractions of the HMC and ARC groups

讨论

本研究中通过高通量测序技术深入探索了高度近视性白内障(HMC)和年龄相关性白内障(ARC)患者泪液的微生物组成,并比较分析了两组之间是否存在显著差异。研究结果表明,尽管两组患者的泪液微生物组结构在一定程度上存在共性,但在某些属水平上也表现出特异性差异,这可能与不同类型的白内障病理过程有关,并可能为进一步的病因学研究及治疗策略提供有用信息。

在属水平微生物组差异分析中,棒状杆菌属在HMC组中的丰度显著升高,而葡萄球菌属在ARC组中的丰度相对较高。这一发现提示着不同类型的白内障的患者可能存在不同的眼部微生物环境,这可能与宿主眼部环境的差异性以及微生物与宿主之间相互作用的特异性有关。棒状杆菌属在HMC组中的升高可能与近视导致的眼球解剖结构改变有关,而葡萄球菌属的增多可能与老年人眼部生理变化及微环境改变有关。之前的研究已经表明,眼部微生物组的变化与多种眼部疾病的发生发展有关^[17-19]。因此,本研究的结果为进一步探索白内障发病机理中微生物因素的作用提供了新的线索。

在进行Beta多样性分析时,本研究使用了非度量多维尺度分析(NMDS)和主成分分析(PCA)两种方法。NMDS是基于距离矩阵将多维度数据降维到较低维度的非线性方法,它能够揭示样本间的相异性^[20-21]。本研究的NMDS的Stress值为0.2313,虽

然略高于0.2的理想阈值,但仍在可接受范围之内,表明所用模型的整体拟合程度是合理的。尽管最优解的稳定性存在限制,但这一分析还是为我们提供了两组患者泪液微生物组成差异的有力证据。PCA分析则揭示了数据集主要变异的方向,其结果显示HMC组和ARC组在微生物组成上存在一定程度的分离趋势,这进一步验证了NMDS分析的结果。

置换多变量方差分析(PERMANOVA)是一种基于距离矩阵的多变量统计分析方法,用于测试组间微生物群落组成的差异^[22]。在本研究中,PERMANOVA分析显示HMC组和ARC组在微生物组成上有显著差异,这表明不同类型的白内障可能影响泪液中的微生物群落结构。这些群落结构的差异可能与宿主眼部微环境的差异、病理状态的不同以及微生物与宿主之间的相互作用有关。

此外,本研究中发现的微生物组成差异与其他研究中的报告有一定的一致性,但也有其独特性。例如,先前有研究表明葡萄球菌属在健康人群的眼部是常见的微生物之一^[23-24],而本研究中,葡萄球菌属在ARC组中的丰度更高,这可能与年龄增长和眼部生理变化有关。与此同时,还发现棒状杆菌属在HMC组中的相对丰度提高,这可能与高度近视患者的特定眼部结构及其微生态环境改变有关,具体机制仍需进一步研究。研究表明,尽管两组白内障患者的泪液微生物多样性高且没有显著差异,但微生物组成的微妙变化可能与白内障的发展有关。

本研究结果提供了微生物组在不同类型白内障中变化的初步证据,这可能为未来的白内障机制研究提供新的方向。例如,棒状杆菌属中的某些菌种可能在HMC的发病过程中起到了促进作用,而葡萄球菌属的变化则可能在ARC的发展中起到了关键作用,对于理解白内障的病理生理学至关重要,也可能成为未来治疗策略的潜在靶点^[25-26]。

本研究存在着一些局限性。首先,本研究没有设置健康对照组。没有正常人群的泪液微生物组数据作为对比,限制了对HMC和ARC患者泪液微生物组成异常的判断。健康对照组的数据对于区分疾病相关的微生物组变化与正常泪液微生物组的自然变异尤为重要。未来的研究应当包括健康人群的泪液样本,以帮助界定泪液微生物组的正常范围,从而更准确地识别与白内障相关的微生物组成变化。其次,在解释本研究的发现时,还需考虑到泪液样本中微生物DNA的来源。泪液可能受到皮肤微生物群落的影响,也可能反映了眼球自身的微生物状态。因此,未来的研究需要更精细地区分这些来源,并考虑个体之间的生活习惯、环境因素和免疫状态等可能的影响因素。

综上所述,本研究的发现突出了微生物组学在眼科研究中的应用潜力,并为白内障的微生物组学研究提供了新的线索,未来的研究需要在更大的样本量上进行验证,并结合功能性研究来更深入地理解微生物组与白内障之间的关系,也应探讨如何利用这些发现来改进白内障的预防、诊断和治疗方法。

【参考文献】

[1] 周天球,张俊芳. 感染性眼内炎临床特征及危险因素分析[J]. 中国病原生物学杂志,2022,17(9):1053-1056,1060.
[2] Liu YC, Wilkins M, Kim T, et al. Cataracts[J]. Lancet, 2017, 390:600-612.
[3] Gali HE, Sella R, Afshari NA. Cataract grading systems: a review of past and present[J]. Curr Opin Ophthalmol, 2019, 30:13-18.
[4] Xu X, Li J, Guan Y, et al. GLA-Net: A global-local attention network for automatic cataract classification [J]. J Biomed Inform, 2021, 124:103939.
[5] Borroni D, Paytavi-Gallart A, Sanseverino W, et al. Microbiome and ocular surface disease: Exploring the microbiota niche to characterize new eye community state types [J]. Investigat Ophthalmol Visual Sci, 2023, 64(8):202.
[6] Haarman AEG, Enthoven CA, Tideman JW, et al. The complications of myopia: A review and meta-analysis[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2020, 61:49.
[7] Delbeke H, Casteels I, Joossens M. DNA extraction protocol impacts ocular surface microbiome profile[J]. Front Microbiol, 2023, 14:1128917.
[8] Schlegel I, De Gouyon Matignon de Pontourade CMF, Lincke JB, et al. The human ocular surface microbiome and its associations with the tear proteome in dry eye disease[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(18):14091.
[9] Mueller UG, Linksvayer TA. Microbiome breeding: conceptual and practical issues[J]. Trends Microbiol, 2022, 30:997-1011.
[10] Davenport ER, Sanders JG, Song SJ, et al. The human microbiome in evolution[J]. BMC Biol, 2017, 15:127.
[11] Michels N, Zouiouich S, Vanderbauwhede B, et al. Human microbiome and metabolic health: An overview of systematic reviews[J]. Obes Rev, 2022, 23:e13409.
[12] Aragona P, Baudouin C, Benitez Del Castillo JM, et al. The

ocular microbiome and microbiota and their effects on ocular surface pathophysiology and disorders[J]. Surv Ophthalmol, 2021, 66:907-925.
[13] 高南南,王崇,余一然,等. Chinese I 型弓形虫眼病小鼠 NK 细胞亚群的初步分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17(12): 1420-1424.
[14] Priluck A, Ramulu P, Dosto N, et al. Validation of 16S rRNA gene sequencing of the periocular microbiome and lack of alteration by topical eyedrops[J]. Transl Vis Sci Technol, 2023, 12(2):32.
[15] Chowdhary A, Van Gelder RN, Sundararajan M. Methodologic considerations for studying the ocular surface microbiome[J]. Ophthalmol Sci, 2023, 3(4):100408.
[17] 杨俭伟,张宏彬,史俊虎,等. 河北地区外眼感染疑似患者病原菌体外生物膜形成和耐药药模式分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2021, 16(2):218-223.
[19] Ozkan J, Majzoub ME, Coroneo M, et al. Ocular microbiome changes in dry eye disease and meibomian gland dysfunction [J]. Exp Eye Res, 2023, 235:109615.
[21] Armstrong G, Rahman G, Martino C, et al. Applications and comparison of dimensionality reduction methods for microbiome data[J]. Front Bioinform, 2022, 2:821861.
[22] Chiang MC, Chern E. Ocular surface microbiota: Ophthalmic infectious disease and probiotics[J]. Front Microbiol, 2022, 13:952473.
[23] Chun GK, Menon RK. The Microbiome of peri-implantitis: a systematic review of next-generation sequencing studies[J]. Antibiotics (Basel), 2023, 12(11):1610.
[24] Tong SY, Davis JS, Eichenberger E, et al. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management [J]. Clin Microbiol Rev, 2015, 28:603-661.
[25] Zysset-Burri DC, Morandi S, Herzog EL, et al. The role of the gut microbiome in eye diseases[J]. Prog Retin Eye Res, 2023, 92:101117.
[26] Giannaccare G, Comis S, Jannuzzi V, et al. Effect of liposomal-lactoferrin-based eye drops on the conjunctival microflora of patients undergoing cataract surgery[J]. Ophthalmol Ther, 2023, 12(2):1315-1326.

【收稿日期】 2023-11-22 【修回日期】 2024-02-15

(上接 416 页)

[12] Khalid K, Hussain T, Jamil Z, et al. Vaccinomics-aided development of a next-generation chimeric vaccine against an emerging threat; *Mycoplasma genitalium* [J]. Vaccines (Basel), 2022, 10(10):1720.
[13] 苏晓红. 生殖支原体感染的诊疗进展[J]. 皮肤科学通报, 2021, 38(1):58-64.
[14] Machalek DA, Tao Y, Shilling H, et al. Prevalence of mutations associated with resistance to macrolides and fluoroquinolones in *Mycoplasma genitalium*: a systematic review and meta-analysis[J]. Lancet Infect Dis, 2020, 20(11):1302-1314.
[15] Jahangiri F, Jalallou N, Ebrahimi M. Analysis of Apical Membrane Antigen (AMA)-1 characteristics using bioinformatics tools in order to vaccine design against *Plasmodium vivax*[J]. Infect Genet Evol, 2019, 71:224-231.
[16] 李佳霓,李娟娟,马香,等. 维氏气单胞菌 TolC 蛋白的生物信息

学分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2023, 18(5):502-507.
[17] 陆宝燕,王宁,赵鹏鹏,等. 细粒棘球绦虫 TSP3 基因的生物信息学分析及原核表达[J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17(11): 1297-1302.
[18] Lyn D, Gill DS, Scroggs RA, et al. The nucleoproteins of human parainfluenza virus type 1 and Sendai virus share amino acid sequences and antigenic and structural determinants[J]. J Gen Virol, 1991, 72 (Pt 4):983-987.
[19] 王晓强,王文涛,刘畅,等. 结核分枝杆菌 fadA2 蛋白的生物信息学分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2023, 18(10):1141-1146.
[20] Yueyue W, Feichen X, Yixuan X, et al. Pathogenicity and virulence of *Mycoplasma genitalium*: Unraveling Ariadne's Thread[J]. Virulence, 2022, 13(11):1161-1183.

【收稿日期】 2023-11-23 【修回日期】 2024-02-26