

DOI:10.13350/j.cjpb.251007

• 论著 •

基于宏基因组测序的间质性肺病患者下呼吸道微生物组特征及与疾病进展相关性分析^{*}

杨雪迎^{**}, 赵振波, 刘雨婷, 许振丹

(新乡市中心医院, 新乡医学院第四临床学院, 新乡市慢性呼吸道疾病慢病管理
重点实验室呼吸与危重症医学科, 河南新乡 453000)

【摘要】 目的 基于宏基因组测序技术,深入剖析间质性肺病(ILD)患者下呼吸道微生物组的特征,探究其与疾病进展之间的潜在关联性。**方法** 选取110例ILD患者作研究组,另纳入50例同期入院体检的健康志愿者作对照组,采集支气管肺泡灌洗液样本进行宏基因组测序,同时统计患者临床相关资料,应用多因素Logistic回归分析ILD患者下呼吸道微生物组特征及与疾病进展的相关性。**结果** 经分析发现,研究组中 *Gamma proteobacteria*、*Beta proteobacteria* 的相对丰度显著高于对照组;*Firmicutes*、*Bacteroidetes* 的相对丰度明显低于对照组;*Actinobacteria* 在ILD患者中与对照组差异不明显。研究组患者下呼吸道微生物菌群ace指数、Chao1指数、shannon指数、simpson指数均较对照组显著降低($P<0.05$);将110例患者分为轻度组38例、中度组45例和重度组27例,经多因素Logistic回归计算,结果显示,ace指数、Chao1指数、shannon指数、simpson指数、DLCO%、FVC%低表达,血清表面活性蛋白D(SP-D)、基质金属蛋白酶-7(MMP-7)、C-X-C趋化因子配体13(CXCL13)及Warrick评分、mMRC评分高表达是影响ILD患者疾病进展的危险因素($P<0.05$)。**结论** ILD患者下呼吸道菌群失衡与疾病进展显著相关,联合微生物及临床相关指标可为预后评估的有效指标。

【关键词】 宏基因组测序;间质性肺病;下呼吸道微生物组特征;疾病进展;相关性分析

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1673-5234(2025)10-1279-06

[Journal of Pathogen Biology. 2025 Oct.;20(10):1279-1284.]

To investigate the characteristics of the lower respiratory tract microbiome in patients with interstitial lung disease using metagenomic sequencing and to evaluate its correlation with disease progression

YANG Xue, ZHAO Zhenbo, LIU Yuting, XU Zhendan (Xinxiang Central Hospital, Fourth Clinical College of Xinxiang Medical University, Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Key Laboratory of Chronic Respiratory Disease Management, Xinxiang 453000, Henan, China) ^{***}

【Abstract】 Objective To investigate the characteristics of the lower respiratory tract microbiome in patients with interstitial lung disease (ILD) using metagenomic sequencing and to explore its potential association with disease progression. **Methods** A total of 110 patients with ILD were enrolled as the study group, and 50 healthy volunteers undergoing physical examinations during the same period served as the control group. Bronchoalveolar lavage fluid (BALF) samples were collected and subjected to metagenomic sequencing. Clinical data were also collected. Multivariate logistic regression analysis was used to examine the correlation between lower respiratory tract microbiome characteristics and disease progression. **Results** The relative abundance of *Gamma proteobacteria* and *Beta proteobacteria* was significantly higher in the study group compared to the control group. Conversely, the relative abundance of *Firmicutes* and *Bacteroidetes* was significantly lower in the study group. No significant difference was observed in the abundance of *Actinobacteria* between the two groups. The ACE index, Chao1 index, Shannon index, and Simpson index of the lower respiratory tract microbiota were significantly lower in the study group than in the control group ($P<0.05$). The 110 patients were stratified into mild (38 cases), moderate (45 cases), and severe (27 cases) groups. Multivariate logistic regression analysis identified low values of the ACE index, Chao1 index, Shannon index, Simpson index, DLCO%, and FVC%, as well as high levels of serum surfactant protein D (SP-D), matrix metalloproteinase-7 (MMP-7), C-X-C chemokine ligand 13 (CXCL13), the Warrick score, and the mMRC score, as risk factors associated with ILD progression ($P<0.05$). **Conclusion** Dysbiosis of the lower respiratory tract microbiome in ILD patients is significantly associated

^{*} **【基金项目】** 河南省医学科技攻关计划项目(No. LHGJ20210896)。

^{**} **【通信作者(简介)】** 杨雪迎(1989-),女,河南新乡人,硕士研究生,主治医师,研究方向:间质性肺病、慢阻肺、呼吸感染性疾病。
E-mail:16637353023@163.com

with disease progression. Combining microbial and clinical indicators may serve as effective indicators for prognostic evaluation.

【Keywords】 metagenomic sequencing; interstitial lung disease; microbiome signature; disease progression; correlation analysis

间质性肺病(interstitial lung disease, ILD)是一组以肺间质炎症和纤维化为主要病理特征的异质性疾病,其病因复杂,涵盖了特发性间质性肺炎、结节病、过敏性肺炎等多种亚型,以进行性呼吸困难、肺功能下降等为典型特征,部分患者可快速进展为呼吸衰竭,预后极差^[1]。随着微生物组学技术的发展,越来越多的证据表明,呼吸道微生物组的失衡可能通过调控局部免疫微环境、驱动慢性炎症或促进纤维化进程,在ILD的发生发展中发挥潜在作用^[2]。传统观点认为下呼吸道在健康状态下处于“无菌”状态,但随着高通量测序技术的发展,研究者发现下呼吸道中存在复杂的微生物群落,其组成和功能的改变可能与慢性炎症、免疫失衡及组织修复异常密切相关^[3]。相关临床研究显示^[4],在慢阻肺、囊性纤维化等呼吸系统疾病中,呼吸道微生物组的组成改变已被证实与疾病严重程度、急性加重风险及治疗反应密切相关。但ILD领域的微生物组研究仍处于起步阶段,现有研究多局限于小样本横断面分析,且主要依赖16S rRNA基因测序技术,难以全面解析微生物组在物种和功能层面的特征。此外,ILD患者下呼吸道微生物组如何随疾病进展动态演变,其特定菌群或功能通路是否与肺功能下降、影像学进展或治疗抵抗相关。

本研究拟采用宏基因组测序技术,对ILD患者下呼吸道样本进行微生物组全面分析,旨在阐明ILD患者下呼吸道微生物组的组成及功能特征,探索特定微生物标志物或功能模块与疾病表型、进展速度的关联,评估微生物-宿主互作网络在ILD病理机制中的潜在贡献。

材料与方法

1 一般资料

选取2023年6月-2024年6月110例ILD患者作研究组,另纳入50例同期入院体检的健康志愿者作对照组。其中研究组男性65例,女性45例,年龄50~82岁,平均(67.83±7.25)岁,身体质量指数(BMI)18~30 kg/m²,平均(23.76±1.94)kg/m²;亚型分布:特发性肺纤维化42例、非特异性间质性肺炎35例、结缔组织病相关ILD23例、过敏性肺炎10例;对照组男28例,女22例,年龄52~80岁,平均(66.45±6.89)岁,BMI18~32 kg/m²,平均(23.42±2.33)kg/m²。研究组所有患者均因进行性呼吸困难、Velcro 啰音等

症状入院。

本研究已经获得医院伦理委员会的审查和批准。

2 纳入与排除标准

2.1 纳入标准 研究组:①年龄45~80岁;②研究组患者经2022年ATS/ERS/JRS/ALAT指南中ILD诊断标准^[5],经高分辨率CT及肺功能检查确诊为ILD者;③能够完成支气管肺泡灌洗并获取足量BALF样本者;④存在进行性呼吸困难、干咳、Velcro 啰音等典型ILD症状者;⑤参与者签署知情同意书,能配合完成研究所需资料检查者。

对照组:①年龄45~80岁;②无慢性呼吸系统疾病史,肺功能及HRCT检查结果正常者;③近3个月内未出现咳嗽、咳痰、呼吸困难等症状者;④近3个月内未使用抗生素、免疫抑制剂或糖皮质激素者;⑤自愿参与并在相关协议书上签字者。

2.2 排除标准 ①存在活动性肺部感染、肺癌或其他系统恶性肿瘤者;②合并哮喘、肺栓塞等其他肺部疾病者;③近3个月内使用过抗生素、免疫调节剂或参与其他临床试验者;④BAL操作中发生严重出血或上呼吸道定植菌污染;⑤无法配合完成随访或临床数据采集者;⑥研究组患者入组前4周内出现ILD急性加重或预计生存期<6个月或需机械通气支持者;⑦既往接受过肺移植或抗纤维化治疗者。

3 方法

3.1 资料收集 由通过培训的研究人员,按照标准化流程调取并收集研究对象一般资料、实验室指标、肺功能相关指标等。

一般资料:年龄、性别、BMI、血压水平、疾病亚型、吸烟史、合并症(肺动脉高压、心血管疾病、糖尿病与肥胖)。

实验室指标:转化生长因子 β (Transforming Growth Factor Beta, TGF- β)、白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子 α (Tumor Necrosis Factor-alpha, TNF- α)、肺6(一种与肺泡上皮细胞损伤相关的糖蛋白)(Krebs von den Lungen-6, KL-6)、表面活性蛋白D(Surfactant Protein D, SP-D)、基质金属蛋白酶-7(Matrix Metalloproteinase-7, MMP-7)、C-X-C趋化因子配体13(C-X-C Motif Chemokine Ligand 13, CXCL13)、动脉血二氧化碳分压(Partial Pressure of Carbon Dioxide in Arterial Blood, PaCO₂)、动脉血氧分压(Partial Pressure of

Oxygen in Arterial Blood, PaO₂).

肺功能相关指标: 1s 用力呼气容积 (Forced Expiratory Volume in 1 second, FEV₁)、用力肺活量 (Forced Vital Capacity, FVC)、最大呼气峰流速 (Peak Expiratory Flow, PEF)、一氧化碳弥散量百分比 (Diffusing Capacity of the Lung for Carbon Monoxide, DLCO%)、Warrick 评分、mMRC 呼吸困难评分。

3.2 宏基因组测序 所有患者入院后均应用支气管肺泡灌洗液, 采集样本后立即置于无菌冻存管中, 液氮速冻后转移至 -80 °C 超低温冰箱保存, 避免反复冻融, 使用 QIAamp DNA Microbiome Kit 提取总 DNA, 优先裂解宿主细胞后特异性富集微生物 DNA。通过 Qubit 4.0 荧光定量仪测定 DNA 浓度, Agilent 2100 Bioanalyzer 评估 DNA 完整性, 采用 Illumina TruSeq Nano DNA Library Prep Kit 构建 350 bp 插入片段文库, 包括 DNA 片段化、末端修复、接头连接及 PCR 扩增, 扩增条件: 95 °C 预变性 3 min, 循环 8~10 次: 95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s; 72 °C 终延伸 5 min。文库浓度通过 Qubit 测定, 片段分布通过 Agilent 2100 Bioanalyzer 验证 (目标峰值为 350 ± 50 bp), 使用 Illumina NovaSeq 6000 平台进行双端测序, 每样本目标数据量为 10 Gb raw reads, 设置阴性对照及阳性对照以排除污染并评估技术误差。利用 Fastp v0.23.2 去除低质量读段 (Q < 20)、接头序列及长度 < 50 bp 的 reads, 通过 Bowtie2 v2.4.5 比对人类参考基因组, 剔除宿主来源序列, 采用 Kraken2 v2.1.2 结合 Bracken v2.7 进行物种分类 (数据库: NCBI RefSeq, 含细菌、真菌、病毒及古菌), 阈值设置为置信度 > 0.8。使用 HUMAnN3 v3.6 与 UniRef90 数据库注释代谢通路, 计算通路丰度, 计算患者下呼吸道微生物组特征。

4 疾病严重程度

根据国际指南及临床实践, 结合肺功能、影像学、症状及血氧指标, 将研究组患者分为轻度、中度、重度三类。

轻度 ILD (38 例): FVC% 预计值: ≥ 70%、DLCO% 预计值: ≥ 55%; Warrick 评分: ≤ 5 分 (局灶性磨玻璃影或网格影, 累及肺叶 < 25%); mMRC 呼吸困难评分: 0-1 级 (仅在剧烈活动时出现呼吸困难); 静息 PaO₂: ≥ 95%, 6 min 步行试验 (6MWD) 中 PaO₂ 下降: ≤ 4%。

中度 ILD (45 例): FVC% 预计值: 50%~69%、DLCO% 预计值: 35%~54%; Warrick 评分: 6~15 分 (多肺叶受累, 磨玻璃影、网格影伴部分蜂窝样改变, 累及肺叶 25%~50%); mMRC 呼吸困难评分: 2 级 (平

地快步行走或爬缓坡时呼吸困难); 静息 PaO₂: 90%~94%, 6MWD 中 PaO₂ 下降: 5%~8%。

重度 ILD (27 例): FVC% 预计值: < 50%、DLCO% 预计值: < 35%; Warrick 评分: ≥ 16 分 (广泛蜂窝肺、牵拉性支气管扩张, 累及肺叶 > 50%); mMRC 呼吸困难评分: ≥ 3 级 (平地行走 100 m 或数分钟后需停下休息); 静息 PaO₂: < 90%, 6MWD 中 PaO₂ 下降: ≥ 9% 或需吸氧维持。

5 统计学分析

采用 SPSS 26.0 统计学软件进行数据分析。连续变量用 K-S 作正态分布检验, 符合正态分布的计量资料用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较采用独立样本 *t* 检验; 计数资料以 *n*(%) 表示, 采用 χ^2 检验; 多因素多分类 Logistic 回归分析 ILD 患者下呼吸道微生物组特征及与疾病进展的关联性。P < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 研究组与对照组下呼吸道微生物组在门水平上的相对丰度对比

经分析发现, 研究组中 γ -变形菌纲 (*Gamma*proteobacteria)、 β -变形菌纲 (*Beta*proteobacteria) 的相对丰度显著高于对照组; 厚壁菌门 (*Firmicutes*)、拟杆菌门 (*Bacteroidetes*) 的相对丰度明显低于对照组; 放线菌门 (*Actinobacteria*) 在 ILD 患者中与对照组差异不明显。见图 1。

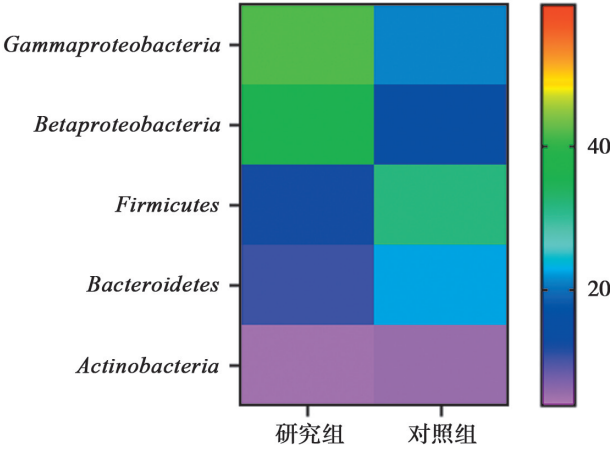


图 1 研究组与对照组肠道菌群特征的相对丰度的热图
Fig. 1 Heatmap of relative abundance of lower respiratory tract microbiome features in the study group and control group

2 对照组与研究组受试者下呼吸道微生物菌群多样性比较

研究组患者下呼吸道微生物菌群 ace 指数、Chao1 指数、shannon 指数、simpson 指数分别为 (325.46 ± 58.24)、(318.69 ± 63.47)、(3.25 ± 0.87)、(0.85 ± 0.12), 对照组分别为 (412.61 ± 71.45)、(397.65 ±

67.41)、(4.52±1.12)、(0.93±0.09)。研究组患者下呼吸道微生物菌群各指数均较对照组显著降低($t=8.158$ 、 7.153 、 7.800 、 4.204 ，均 $P<0.05$)。

3 不同严重程度患者一般资料比较

重度组患者年龄分别高于中度组和轻度组，中度组患者年龄高于轻度组($P<0.05$)；三组间性别、BMI、血压水平、疾病亚型、合并症占比、吸烟史比较，差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 不同严重程度患者一般资料比较[n(%)/($\bar{x}\pm s$)]
Table 1 Comparison of demographic characteristics among patients with different disease severity levels

组别	轻度组 (n=38)	中度组 (n=45)	重度组 (n=27)	χ^2/F 值	P值
年龄(岁)	58.23±9.33	63.51±10.12	67.82±8.79	8.223	<0.05
性别(n)	男	20(52.63)	26(57.78)	1.283	0.526
	女	18(47.37)	19(42.22)		
BMI(kg/m ²)	24.13±3.51	23.83±3.20	22.46±4.14	1.905	0.154
血压(mmHg)	SBP	128.74±12.16	130.25±14.14	0.663	0.518
	DBP	78.83±8.16	81.46±8.34	2.082	0.130
疾病亚型 (n)	特发性肺纤维化	11(28.95)	20(44.44)	2.095	0.718
	非特异性间质性肺炎	12(31.58)	15(33.33)		
	结缔组织病相关ILD	10(26.32)	8(17.78)		
	过敏性肺炎	5(13.16)	2(4.44)		
合并症(n)	肺动脉高压	5(13.16)	11(24.44)	5.014	0.082
	心血管疾病	8(21.05)	13(28.89)	1.300	0.522
	糖尿病与肥胖	9(23.68)	10(22.22)	0.128	0.938
吸烟史(n)	是	15(39.47)	20(44.44)	3.738	0.154
	否	23(60.53)	25(55.56)		

4 不同严重程度患者实验室指标水平比较

重度组患者血清 TGF-β、IL-6、TNF-α、KL-6、SP-D、MMP-7、CXCL13、PaCO₂ 水平分别高于轻度组和中度组，PaO₂ 分别低于轻度组和中度组($P<0.05$)；中度组患者血清 TGF-β、IL-6、TNF-α、KL-6、SP-D、MMP-7、CXCL13、PaCO₂ 水平均高于轻度组，PaO₂ 低于轻度组($P<0.05$)。见表2。

表2 不同严重程度患者实验室指标水平比较($\bar{x}\pm s$)
Table 2 Comparison of laboratory parameter levels among patients with different disease severity levels

组别	轻度组 (n=38)	中度组 (n=45)	重度组 (n=27)	F值	P值
TGF-β(pg/mL)	13.51±3.22	18.69±4.12*	23.33±4.71* [#]	48.708	<0.05
IL-6(pg/mL)	8.34±2.11	14.68±3.44*	22.85±4.43* [#]	148.819	<0.05
TNF-α(pg/mL)	6.52±1.66	9.23±2.31*	13.17±2.49* [#]	75.005	<0.05
KL-6(U/mL)	1126.50±190.45	1530.77±313.36*	2246.51±445.55* [#]	98.356	<0.05
SP-D(ng/mL)	85.65±15.51	132.49±25.87*	187.46±31.88* [#]	135.592	<0.05
MMP-7(ng/mL)	4.25±1.13	6.79±1.46*	9.36±2.16* [#]	85.000	<0.05
CXCL13(pg/mL)	15.49±4.12	24.66±5.22*	33.93±7.65* [#]	86.722	<0.05
PaO ₂ (mmHg)	73.16±8.17	67.83±7.83*	62.08±8.24* [#]	14.063	<0.05
PaCO ₂ (mmHg)	46.37±6.22	50.22±5.71*	54.41±6.14* [#]	14.289	<0.05

注：与轻度组比较，* $P<0.05$ ；与中度组比较，[#] $P<0.05$ 。

5 不同严重程度患者肺功能相关指标水平比较

重度组患者 FEV₁、FVC%、PEF、DLCO % 均分

别低于轻度组和中度组，Warrick 评分、mMRC 评分分别高于轻度组和中度组($P<0.05$)；中度组患者 FEV₁、FVC%、PEF、DLCO % 均低于轻度组，Warrick 评分、mMRC 评分均高与轻度组($P<0.05$)；三组间 FEV₁/FVC 水平比较均无统计学意义($P>0.05$)。见表3。

表3 不同严重程度患者肺功能相关指标水平比较($\bar{x}\pm s$)
Table 3 Comparison of pulmonary function parameter levels among patients with different disease severity levels

组别	轻度组 (n=38)	中度组 (n=45)	重度组 (n=27)	F值	P值
FEV ₁ (L)	2.65±0.42	2.10±0.38*	1.62±0.31* [#]	59.635	<0.05
FVC%	85.31±6.71	68.52±7.22*	52.58±8.14* [#]	161.760	<0.05
PEF(L/s)	6.84±1.24	5.38±1.13*	4.26±0.97* [#]	42.430	<0.05
FEV ₁ /FVC(%)	88.53±4.31	89.21±4.96*	90.59±4.81* [#]	1.530	0.221
DLCO %	72.43±9.53	54.89±8.36*	38.31±7.52* [#]	126.394	<0.05
Warrick 评分	12.52±3.66	24.39±5.17*	35.66±6.80* [#]	159.862	<0.05
mMRC 评分	1.28±0.37	2.13±0.61*	3.06±0.72* [#]	77.129	<0.05

注：与轻度组比较，* $P<0.05$ ；与中度组比较，[#] $P<0.05$ 。

6 不同严重程度患者下呼吸道微生物菌群多样性比较

重度组患者下呼吸道微生物菌群 ace 指数、Chao1 指数、shannon 指数、simpson 指数均低于轻度组和中度组($P<0.05$)；中度组患者下呼吸道微生物菌群 ace 指数、Chao1 指数、shannon 指数、simpson 指数低于轻度组($P<0.05$)。见表4。

表4 不同严重程度患者下呼吸道微生物菌群多样性比较($\bar{x}\pm s$)
Table 4 Comparison of lower respiratory tract microbial alpha diversity indices among patients with different disease severity levels

组别	轻度组 (n=38)	中度组 (n=45)	重度组 (n=27)	F值	P值
ace 指数	348.61±60.13	302.44±55.31*	265.81±48.73* [#]	18.135	<0.05
Chao1 指数	341.65±54.37	283.26±48.79*	243.58±33.49* [#]	35.208	<0.05
shannon 指数	3.62±0.82	3.08±0.78*	2.46±0.61* [#]	18.609	<0.05
simpson 指数	0.88±0.10	0.82±0.11*	0.75±0.13* [#]	10.674	<0.05

注：与轻度组比较，* $P<0.05$ ；与中度组比较，[#] $P<0.05$ 。

7 多分类 Logistic 回归分析影响 ILD 患者疾病进展的危险因素

将 ILD 患者疾病进展作为因变量(Y)，将有统计意义的自变量作为自变量(X)进行多因素 Logistic 回归赋值，进行 Logistic 回归计算，结果显示，ace 指数、Chao1 指数、shannon 指数、simpson 指数、DLCO %、FVC% 低表达，血清 SP-D、MMP-7、CXCL13 及 Warrick 评分、mMRC 评分高表达是影响 ILD 患者疾病进展的危险因素($P<0.05$)。见表5。

讨论

ILD 的发病机制复杂，涉及遗传、免疫异常、环境暴露及纤维化信号通路的交互作用^[6]。既往临床研究

表 5 多分类 Logistic 回归分析影响 ILD 患者疾病进展的危险因素
Table 5 Multinomial logistic regression analysis of risk factors associated with disease progression in ILD patients

变量	回归系数	标准误	Wald χ^2 值	OR 值	95% CI		P 值
					下限	上限	
常数项	-6.358	0.987	41.496	—	—	—	<0.05
ace 指数	2.104	0.875	5.782	8.199	1.247	15.151	<0.05
Chao1 指数	1.033	0.379	7.429	2.809	1.352	4.267	<0.05
shannon 指数	1.641	0.613	7.166	5.160	1.411	8.910	<0.05
simpson 指数	1.338	0.426	9.865	3.811	1.37	6.253	<0.05
Warrick 评分	1.191	0.577	4.261	3.290	1.222	5.359	<0.05
mMRC 评分	1.098	0.391	7.886	2.998	1.153	4.843	<0.05
SP-D	0.981	0.388	6.393	2.667	1.159	4.175	<0.05
MMP-7	1.224	0.466	6.899	3.401	1.26	5.542	<0.05
CXCL13	1.106	0.471	5.514	3.022	1.567	4.477	<0.05
FVC%	0.986	0.349	7.982	2.680	2.654	2.707	<0.05
DLCO %	1.022	0.471	4.708	2.779	2.685	2.872	<0.05

多聚焦于遗传、免疫及纤维化通路,而本研究通过宏基因组测序技术,首次系统揭示了 ILD 患者下呼吸道微生物组特征及其与疾病进展的多维度关联,为理解 ILD 的生态-免疫互作机制提供了新视角^[7]。本研究纳入 110 例 ILD 患者和 50 例健康志愿者,比较分析两组患者下呼吸道微生物组特征,结果显示,研究组中 *Gamma proteobacteria*、*Beta proteobacteria* 的相对丰富度显著高于对照组;*Firmicutes*、*Bacteroidetes* 的相对丰度明显低于对照组;*Actinobacteria* 在 ILD 患者中与对照组差异不明显,提示变形菌门可能在 ILD 进展中发挥关键作用;研究组患者下呼吸道微生物菌群 ace 指数、Chao1 指数、shannon 指数、simpson 指数均较对照组显著降低,说明了 ILD 会导致丰度降低,而丰度降低可能破坏菌群稳态,当患者处于该病理状态下,下呼吸道微生物群落结构趋于单一化。

研究中将 110 例 ILD 患者分为轻度、中度、重度,结果显示,重度组 ACE、Chao1 指数显著低于轻/中度组,表明 ILD 患者下呼吸道的微生物物种数量随疾病进展逐渐减少。ILD 晚期肺部缺氧、促炎因子水平升高,可能抑制共生菌生长,同时促进机会性病原体增殖^[8];肺组织纤维化区域扩大导致局部代谢产物堆积,可能进一步限制微生物的多样性^[9]。重度组 Shannon 指数和 Simpson 指数显著低于轻/中度组,提示菌群结构趋于单一化,变形菌门等优势菌占据主导地位,群落多样性丧失削弱微生物组的稳定性,导致病原体易感性增加,形成“炎症-菌群失衡-纤维化”恶性循环^[10]。进一步经 Logistic 回归分析结果显示,ace 指数、Chao1 指数、shannon 指数、simpson 指数低表达是影响 ILD 患者疾病进展的危险因素,说明了微生物组多样性降低不仅是 ILD 的特征性表现,更是直接驱动疾病恶化的关键因素。Hong 等^[11] 研究表示,菌群结构单一化,可导致促炎代谢产物积累,抑制抗炎物质生

成,进而影响疾病进展。

本研究结果还显示,重度组血清 IL-6、TNF- α 较中度组及轻度组升高,提示 ILD 进展伴随全身性炎症反应加剧,IL-6 和 TNF- α 通过激活 NF- κ B 通路,促进肺泡巨噬细胞释放趋化因子,募集中性粒细胞和淋巴细胞,放大肺组织损伤^[12-13]。重度组血清 TGF- β 、MMP-7 较中度组及轻度组升高,TGF- β 是纤维化的核心驱动因子,促进成纤维细胞分化为肌成纤维细胞,导致胶原过度沉积^[14-15];MMP-7 通过降解基底膜成分,破坏肺泡结构完整性,同时激活 TGF- β 信号,形成“纤维化正反馈”^[16-17]。重度组血清 KL-6、SP-D 较中度组及轻度组升高,KL-6 和 SP-D 由受损的肺泡 II 型上皮细胞分泌,其水平升高直接反映肺泡-毛细血管屏障破坏,与 DLCO%下降密切相关^[18-19]。重度组血清 CXCL13 较中度组及轻度组升高,CXCL13 是淋巴滤泡形成的趋化因子,高表达提示 B 细胞异常募集,可能导致自身抗体产生或局部免疫复合物沉积,加重 ILD 免疫病理损伤^[20]。重度组 PaO₂ 较中度组及轻度组低,PaCO₂ 较中度组及轻度组高,反映 ILD 晚期肺实质纤维化区域扩大,气体交换面积减少,而长期慢性缺氧可导致代偿性过度通气,但晚期患者可能因呼吸肌疲劳或气道阻塞出现 CO₂ 潴留矛盾现象^[16]。重度组患者 FEV₁、FVC%、PEF、DLCO%均分别低于轻度组和中度组,表明 ILD 患者的限制性通气功能障碍随疾病进展加重,FVC%及 PEF 逐步受限,与肺间质纤维化导致的肺弹性下降和胸廓顺应性降低直接相关。重度组患者 Warrick 评分、mMRC 评分高于轻度组和中度组,提示影像学评分可作为结构性损伤的客观标志,指导疾病分期,且日常活动严重受限的患者,需优先干预,经多分类 Logistic 回归分析结果显示,DLCO%、FVC%低表达,血清 SP-D、MMP-7、CXCL13 及 Warrick 评分、mMRC 评分高表达是影响 ILD 患者疾病进展的危险因素,进一步说明了 ILD 患者疾病进展受肺功能损伤、生物标志物异常、影像学及症状恶化等多因素影响,临床可针对关键节点开发联合干预策略,以打破恶性循环,改善患者预后,为 ILD 的精准医学实践提供了理论框架,但其临床转化仍需通过机制探索与干预性研究进一步验证。

综上所述,ILD 患者下呼吸道微生物组失衡与疾病进展存在显著关联,其作用可通过促炎、促纤维化及免疫调节通路实现。整合微生物组与临床多维指标有望优化 ILD 的预后评估体系,并为靶向微生态的干预策略奠定理论基础。

【参考文献】

[1] Wijsenbeek M, Suzuki A, Maher TM. Interstitial lung diseases [J]. Lancet, 2022, 400(10354): 769-786.

- [2] 李梦涛,王迁. 结缔组织病相关间质性肺病:从发病机制研究到“双达标”治疗策略[J]. 天津医药, 2024, 52(7):673-678.
- [3] 魏雅倩,岳红梅,谢莹莹,等. 微生物群与特发性肺纤维化的潜在关联[J]. 国际呼吸杂志, 2022, 42(18):1415-1420.
- [4] Dong Y, He L, Zhu Z, et al. The mechanism of gut-lung axis in pulmonary fibrosis[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2024, 14: 1258246.
- [5] Raghu G, Remy-Jardin M, Richeldi L, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis (an Update) and progressive pulmonary fibrosis in adults: An official ats/ers/jrs/alat clinical practice guideline[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2022, 205(9):e18-e47.
- [6] Man MA, Ungur RA, Motoc NS, et al. Lung microbiota in idiopathic pulmonary fibrosis, hypersensitivity pneumonitis, and unclassified interstitial lung diseases: A preliminary pilot study [J]. Diagnostics (Basel), 2023, 13(19):3157.
- [7] 濮阳娟,张宇峰,马苗,等. 宏基因组二代测序在间质性肺病伴感染患者中的应用[J]. 国际呼吸杂志, 2022, 42(8):575-582.
- [8] 郑艺,张榕. 固有免疫细胞在特发性炎性肌病相关间质性肺病发病机制中的作用[J]. 中华风湿病学杂志, 2024, 28(5):346-350.
- [9] 刘海叶,骆珊,贾智玲,等. 玉屏风颗粒对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠肺泡灌洗液代谢组学及肠道菌群的影响[J]. 中医杂志, 2023, 64(20):2116-2124.
- [10] Zhan S, Li S, Cao Y, et al. Value of bronchoalveolar lavage fluid metagenomic next-generation sequencing in acute exacerbation of fibrosing interstitial lung disease: an individualized treatment protocol based on microbiological evidence[J]. BMC Pulm Med, 2024, 24(1):400.
- [11] Hong R, Lin S, Zhang S, et al. Pathogen spectrum and microbiome in lower respiratory tract of patients with different pulmonary diseases based on metagenomic next-generation sequencing[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2024, 14:1320831.
- [12] 崔莹,金宇,刘晓玲,等. IL-6, TNF- α , D-D, NT-BNP 在重症肺炎心肌损害患者中的检测及临床意义分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2023, 30(4):589-593.
- [13] 徐沙,李云芬,刘荣均,等. 艾叶提取物对肺炎支原体感染小鼠模型血清 IL-6, IL-10 和 TNF- α 水平的影响[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(18):2495-2498.
- [14] Kamiya M, Carter H, Espindola MS, et al. Immune mechanisms in fibrotic interstitial lung disease[J]. Cell, 2024, 187(14):3506-3530.
- [15] Kuwana M, Bando M, Kawahito Y, et al. Identification and management of connective tissue disease-associated interstitial lung disease: evidence-based Japanese consensus statements[J]. Expert Rev Respir Med, 2023, 17(1):71-80.
- [16] 顾盼瑾,张立红,胡锡池,等. 黄芪多糖联合替加环素对白细胞减少性鲍曼不动杆菌感染肺炎大鼠的疗效及机制研究[J]. 陕西医学杂志, 2023, 52(10):1319-1325.
- [17] 欧慧萍,吴趋芸,袁多,等. 桃红四物汤通过 JAK2/STAT3 信号通路对肺纤维化模型大鼠凋亡及 EMT 的影响[J]. 中国药理学通报, 2023, 39(8):1577-1583.
- [18] Mutsaers SE, Miles T, Prele CM, et al. Emerging role of immune cells as drivers of pulmonary fibrosis[J]. Pharmacol Ther, 2023, 252:108562.
- [19] Chugh K, Jatwani S. Transbronchial biopsy vs. bronchoalveolar lavage in interstitial lung disease [J]. Curr Opin Pulm Med, 2022, 28(1):3-8.
- [20] Chang SE, Jia G, Gao X, et al. Pursuing clinical predictors and biomarkers for progression in ILD: Analysis of the pulmonary fibrosis foundation (PFF) registry[J]. Lung, 2024, 202(3):269-273.

【收稿日期】 2025-05-20 【修回日期】 2025-08-10

(上接 1278 页)

- [11] Huang JB, Chen NC, Chen CL, et al. Serum levels of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 associated with the severity and outcome of acute ischemic stroke[J]. J Clin Med, 2020, 10(1):61-73.
- [12] Chang W, Peng F, Meng SS, et al. Diagnostic value of serum soluble triggering expressed receptor on myeloid cells 1 (sTREM-1) in suspected sepsis: a meta-analysis [J]. BMC Immunol, 2020, 21(1):2-14.
- [13] de Jesus MCS, Barbosa JHR, Menezes RAO, et al. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1) and other inflammatory mediators in malaria by *Plasmodium vivax* during enteroparasites coinfection[J]. PLoS One, 2022, 17(6): 270007-270016.
- [14] Fang C, Mao Y, Jiang M, et al. Serum sTREM-1 and CXCL-16 levels in children with *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia and their diagnostic value [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 2021(1):7179796-7179804.
- [15] Wang Z, Chang B, Zhang Y, et al. Clinical value of serum sTREM-1 and HBP levels in combination with traditional inflammatory markers in diagnosing hospital-acquired pneumonia in elderly[J]. BMC Infect Dis, 2022, 22(1):773-786.
- [16] 陈瑜,陶石,胡敏,等. 血清 Flt3L 和 Gas6 水平对非霍奇金淋巴瘤患者利妥昔单抗化疗后肺部感染预测价值分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(4):652-655, 659.
- [17] Cui TX, Brady AE, Zhang YJ, et al. Early-life hyperoxia-induced Flt3L drives neonatal lung dendritic cell expansion and proinflammatory responses[J]. Front Immunol, 2023, 14(1): 1116675-1116684.
- [18] Yuan X, Qin X, Wang D, et al. Mesenchymal stem cell therapy induces FLT3L and CD1c⁺ dendritic cells in systemic lupus erythematosus patients[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 2498-2509.
- [19] Beshara R, Sencio V, Soulard D, et al. Alteration of Flt3-Ligand-dependent de novo generation of conventional dendritic cells during influenza infection contributes to respiratory bacterial superinfection [J]. PLoS Pathog, 2021, 14(10): 1007360-1007372.
- [20] 张志韧,杨东辉,刘珂,等. 骨折患者术后感染影响因素及血清 Flt3L 和 Gas6 诊断效果 [J]. 中华医院感染学杂志, 2022, 32(12):1803-1807.
- [21] 王艳,焦波,文精灵,等. 高危产妇剖宫产后产褥期感染的危险因素及预测模型构建[J]. 中华医院感染学杂志, 2023, 33(2): 266-269.

【收稿日期】 2025-06-03 【修回日期】 2025-08-10