

DOI: 10.16781/j.0258-879x.2021.12.1388

· 论 著 ·

## 睑板腺囊肿患儿肠道菌群特征分析

崔元玥<sup>1</sup>, 宋 蕾<sup>1</sup>, 李 谐<sup>1</sup>, 邱 婷<sup>1</sup>, 靳 婧<sup>1</sup>, 赵珂珂<sup>1</sup>, 朱晓伟<sup>1</sup>, 姜 波<sup>2\*</sup>, 渠继芳<sup>1\*</sup>

1. 上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心眼科, 上海 200127

2. 安徽省第二人民医院眼科, 合肥 230041

**[摘要]** **目的** 初步分析睑板腺囊肿患儿肠道菌群的特征, 并探讨肠道微生物组成与儿童睑板腺囊肿的关系。**方法** 收集 21 例睑板腺囊肿患儿和 26 名健康儿童的粪便样本, 从粪便样本中提取出 DNA, 利用二代测序技术检测肠道菌群中的 16S rRNA 序列。通过测序结果分析睑板腺囊肿患儿和健康对照之间肠道微生物群组成。**结果** 通过  $\alpha$  多样性及  $\beta$  多样性分析认为, 健康对照组和睑板腺囊肿组肠道菌群多样性和相对丰度在组间及组内均无明显差异。通过线性判别分析效应大小 (LEfSe) 在两组的肠道菌群中筛选出 11 个差异物种。通过 ANOSIM 分析、 $t$  检验和 metastats 分析比较健康对照组和睑板腺囊肿组的肠道菌群,  $t$  检验结果发现 7 个差异物种, metastats 分析发现 40 个差异物种, 种水平上的 gut\_metagenome 和 human\_gut\_metagenome 为共有差异物种。通过 corrplot 分析显示 gut\_metagenome 与儿童睑板腺囊肿的个数、破溃及术后复发呈强相关性 ( $r=0.70$ 、 $0.76$ 、 $0.85$ ,  $P$ 均 $<0.01$ )。**结论** 睑板腺囊肿患儿和健康儿童的肠道菌群多样性及相对丰度无明显差异, 但某些菌种存在显著差异, gut\_metagenome 可能是一个独立于临床病理因素的、与睑板腺囊肿病情相关的微生物指标。

**[关键词]** 睑板腺囊肿; 胃肠道微生物组; 测序; 炎症; 儿童**[中图分类号]** R 777.13**[文献标志码]** A**[文章编号]** 0258-879X(2021)12-1388-07

### Characteristics of intestinal flora in children with chalazion

CUI Yuan-yue<sup>1</sup>, SONG Lei<sup>1</sup>, LI Xie<sup>1</sup>, QIU Ting<sup>1</sup>, JIN Jing<sup>1</sup>, ZHAO Ke-ke<sup>1</sup>, ZHU Xiao-wei<sup>1</sup>, JIANG Bo<sup>2\*</sup>, QU Ji-fang<sup>1\*</sup>

1. Department of Ophthalmology, Shanghai Children's Medical Center, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200127, China

2. Department of Ophthalmology, the Second People's Hospital of Anhui Province, Hefei 230041, Anhui, China

**[Abstract]** **Objective** To analyze the characteristics of intestinal flora in children with chalazion, and explore the relationship between the composition of intestinal flora and chalazion. **Methods** Fecal samples were collected from 21 children with chalazion and 26 healthy children. DNA was extracted from the fecal samples, and the 16S rRNA sequences were detected by the second generation sequencing technology. The results were used to compare the composition of the microbiome between children with chalazion and healthy controls. **Results** There was no significant difference in intestinal flora diversity or relative abundance between or in the 2 groups according to the alpha and beta diversity. Eleven differential species were screened out by the linear discriminant analysis effect size (LEfSe) analysis. ANOSIM analysis,  $t$  test and metastats analysis were used to compare the intestinal flora of the healthy control group and chalazion group. The results of  $t$  test showed 7 differential species, and metastats analysis results showed 40 differential species. Gut\_metagenome and human\_gut\_metagenome were common differential species at the species level. Finally, corrplot analysis showed that gut\_metagenome was strongly correlated with the number, ulceration and postoperative recurrence of chalazion in children ( $r=0.70$ ,  $0.76$ ,  $0.85$ , all  $P<0.01$ ). **Conclusion** There is no significant difference in intestinal diversity or relative abundance between children with chalazion and healthy children, but there are significant differences in some bacterial species. Gut\_metagenome may be a microbiological indicator which is independent of clinicopathologic factors, but is associated with chalazion disease.

**[Key words]** chalazion; gastro intestinal microbiome; sequencing; inflammation; child

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2021, 42(12): 1388-1394]

**[收稿日期]** 2021-08-05 **[接受日期]** 2021-10-26**[基金项目]** 上海市科学技术委员会科研计划项目(19401932200), 上海市卫生健康委员会科研项目(20194Y0268)。Supported by Science Research Project of Science and Technology Commission of Shanghai Municipality (19401932200) and Science Research Program of Shanghai Municipal Health Commission (20194Y0268)。**[作者简介]** 崔元玥, 硕士, 主治医师。E-mail: cuiyydoctor@163.com

\*通信作者( Corresponding authors ). Tel: 021-38626161-89120, E-mail: 13801722163@163.com; Tel: 0551-64286015, E-mail: 625505145@qq.com

皮脂腺的分泌物具有一定的杀菌作用,可阻止细菌生长;汗腺产生的 IgA、黏蛋白 1 及溶酶体等则具有一定的免疫防御功能。当这些腺体部位因分泌物增厚、干燥受到阻塞时,眼的防御能力会受损,从而形成睑板腺慢性炎性肉芽肿<sup>[1]</sup>。睑板腺囊肿又称霰粒肿,是一种常发于儿童的眼科疾病。睑板腺囊肿病程缓慢,患者一般并无明显症状,但可因肿块压迫眼球而引起异物感或暂时性散光。严重者会导致眼睑外翻,眼部畸形,若有继发性感染会演变为睑腺炎<sup>[2]</sup>。睑板腺囊肿在儿童中有着较高的发病率,其治疗通常包括手术和非手术方式<sup>[3]</sup>。而手术常需在全身麻醉下进行,对患儿及家长会造成许多困扰。

有观点认为,肠道微生物是个体的新器官,其代谢活性仅次于肝脏<sup>[4]</sup>。肠道菌群被看作“第二基因组”“被遗忘的器官”或外挂“基因硬盘”。随着高通量测序技术出现,人类开始了肠道微生物组的探索,目前已经发现肠道微生物组的集体基因组包含超过 300 万个独特基因<sup>[5]</sup>。人们对肠道微生物组的了解正在迅速深入,并在探索微生物组与健康 and 疾病之间的关系。在眼科疾病中也已开展相关研究,如 Ye 等<sup>[6]</sup>报道的白塞病和肠道微生物群的研究。那么肠道菌群是否也可能在睑板腺囊肿中起作用呢?本研究拟对该问题进行探讨。

## 1 对象和方法

1.1 研究对象 2019 年 1—12 月在上海儿童医学中心招募 21 例睑板腺囊肿患儿(研究组)和 26 名健康体检儿童(健康对照组)。研究组纳入标准:

(1) 患儿临床确诊为睑板腺囊肿;(2) 患儿过去 2 个月内未局部或系统使用过抗生素、糖皮质激素及免疫抑制剂;(3) 无胃肠道疾病及其他系统性疾病。本研究通过上海儿童医学中心伦理委员会审批(SCMCIRB-K2020005-1)。在研究开始时,所有患儿家属均已签署研究知情同意书。所有试验程序均按照赫尔辛基宣言执行。

1.2 粪便样本采集和 DNA 提取 收集受试者的新鲜粪便样本,并在 2 h 内用冰袋运送至上海儿童医学中心转化医学研究所实验室立即冷冻,保存在 $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱。取 200 mg 样品,按 Qiagen 粪便 DNA 快速提取试剂盒(德国 Qiagen 公司)说明书提取 DNA。采用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳法检测 DNA 的浓度和纯度。

1.3 16S rRNA 的 PCR 扩增及 MiSeq 测序 利用常用细菌引物 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCG-GTAA-3') 和 926R (5'-CCGTCAATTCMTTTGAG-TTT-3') 对 16S rRNA 进行 PCR 扩增。引物还包含用于两步扩增样本文库构建的 Illumina 5' 过剩适配器序列,遵循制造商关于过剩适配器序列的说明。在文库构建之前,使用 DNA 凝胶提取试剂盒(美国 Axygen 公司)进行纯化,并使用实时荧光定量 PCR 仪(FTC-3000,加拿大 Funglym Biotech 公司)进行实时 PCR 扩增。在 MiSeq 测序平台(美国 Illumina 公司)上使用基因测序试剂盒 v3(美国 Illumina 公司)对文库进行  $2\times 300$  bp 双端测序。

1.4 生物信息学分析 原始 fastQ 文件是基于条形码进行多路复用的。所有样本的双末端读取通过 Trimmomatic 0.35 软件运行,以使用参数 SLIDINGWINDOW: 50:20、MINLEN: 50 去除低质量的碱基序列。然后使用带有默认参数的 Flash 1.2.11 软件进一步合并修剪,基于筛选去除低质量重叠群。低质量重叠群过滤参数:最大 N 个数为 0,最小长度为 200,最大长度为 580,最大碱基数为 8。使用 mothur 1.33.3、UPARSE usearch 8.1.1756 (<http://drive5.com/uparse/>) 和 R 3.2.3 软件分析 16S rRNA 序列。使用 UPARSE 管道将以 97% 的一致性序列归类为一个运算分类单位(operational taxonomic unit, OTU)。根据 Silva 119 数据库将 OTU 代表序列进行分类分配,通过分类使置信度得分 $\geq 0.8$ 。OTU 分类法(从门到种)是基于美国国家生物技术信息中心确定的。 $\alpha$  多样性分析(Shannon 和 Chao1 指数)采用 mothur 1.33.3 软件计算并使用 R 4.1.0 软件绘制。对于  $\beta$  多样性的度量,加权和非加权 UniFrac (unweighted\_ UniFrac) 距离矩阵由母矩阵计算,并采用主坐标分析(principal co-ordinates analysis, PCoA) 和树矩阵 R 进行可视化。

1.5 统计学处理 应用 R 4.1.0 软件进行统计学分析。计量资料若服从正态分布以  $\bar{x}\pm s$  表示,两组间年龄、身高、BMI 及 Shannon、Chao1 指数分布的比较采用独立样本  $t$  检验。计数资料以例数和百分数表示,两组间性别的比较采用  $\chi^2$  检验。差异菌种与睑板腺囊肿患儿临床病理因素的相关性分析采用 corplot 分析。所有检验均为双侧检验,检验水准( $\alpha$ ) 为 0.05。

## 2 结果

### 2.1 两组受试者一般资料 共入选 47 例儿童,男

20 例、女 27 例,年龄为 3~15 (5.1±2.5) 岁。两组受试者的性别、年龄、身高、体重、BMI 差异均无统计学意义 (P 均>0.05)。见表 1。

表 1 两组受试者的一般情况

Tab 1 Basic characteristics of 2 groups

Index	Heathy control group N=26	Chalazion group N=21	Statistic	P value
Male, n (%)	11 (42.31)	9 (42.86)	$\chi^2=0.001$	0.970
Age/year, $\bar{x}\pm s$	5.4±2.9	4.3±2.3	$t=-2.792$	0.055
Height/m, $\bar{x}\pm s$	1.14±0.20	0.99±0.19	$t=-3.047$	0.054
Weight/kg, $\bar{x}\pm s$	20.1±6.8	19.3±6.3	$t=-2.817$	0.061
Body mass index/(kg·m <sup>-2</sup> ), $\bar{x}\pm s$	16.0±2.5	16.2±1.7	$t=0.557$	0.717

2.2 样本特征及分组 47 份样品共测出 2 096 454 条高质量的近全长 16S rRNA 序列,平均每份样品 44 605 条,其中睑板腺囊肿组共得到 893 952 条、健康对照组 1 202 502 条。47 份样品中共聚类为 411 OTU,其中睑板腺囊肿组 348 OUT、健康对照组 390 OTU,327 OTU 为两组共有。47 份样品所有的

物种分成 9 个门、117 个属、137 个种,两组的常见细菌门均是拟杆菌门 (Bacteroidetes)、厚壁菌门 (Firmicutes)、变形菌门 (Proteobacteria),这三种菌门分别占肠道菌群的 57.45%、35.80% 和 5.49%。稀疏曲线显示认为测序深度已基本覆盖样品中所有的物种,物种积累曲线显示认为抽样量足够充分(图 1)。

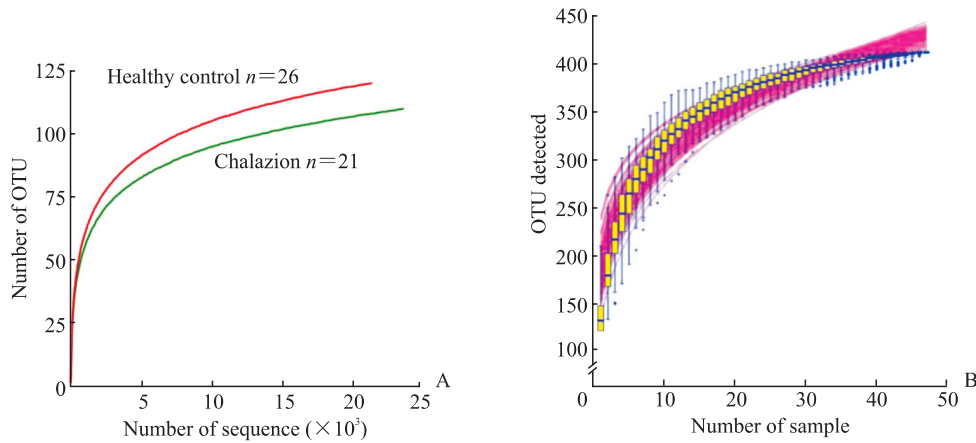


图 1 两组受试者肠道菌群的稀疏曲线 (A) 和物种积累曲线 (B)

Fig 1 Rarefaction curves (A) and species accumulation curves (B) of intestinal flora in 2 groups

OTU: Operational taxonomic unit.

2.3 α多样性分析 通过 mothur 软件计算所得的 Shannon 和 Chao1 指数分析 α多样性,Shannon 指数越大说明个体内的微生物群落多样性越高,Chao1 指数越大说明物种总数越多。见图 2,健

康对照组与睑板腺囊肿组间的 Shannon 指数分布 (2.81±1.15 vs 2.59±0.84)、Chao1 指数分布 (160.72±108.45 vs 144.29±45.67) 差异均无统计学意义 (P=0.48、0.28)。

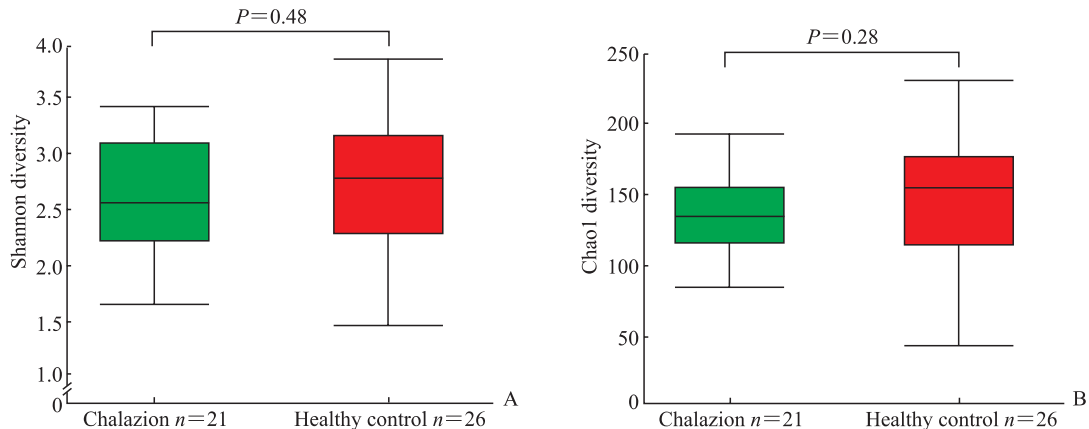


图 2 两组样品的 Shannon (A)、Chao1 (B) 指数箱式图

Fig 2 Shannon(A) and Chao1 (B) index box diagram of samples in 2 groups

2.4  $\beta$  多样性分析 基于非加权 UniFrac 距离的 PCoA 显示两组聚类效果均不佳, 表明健康对照组和睑板腺囊肿组样品彼此间的距离差异无统计学意

义 ( $P>0.05$ ), 两组样品微生物的种类及丰度均相似(图 3A), 多样性矩阵图反映的结果也类似(图 3B)。

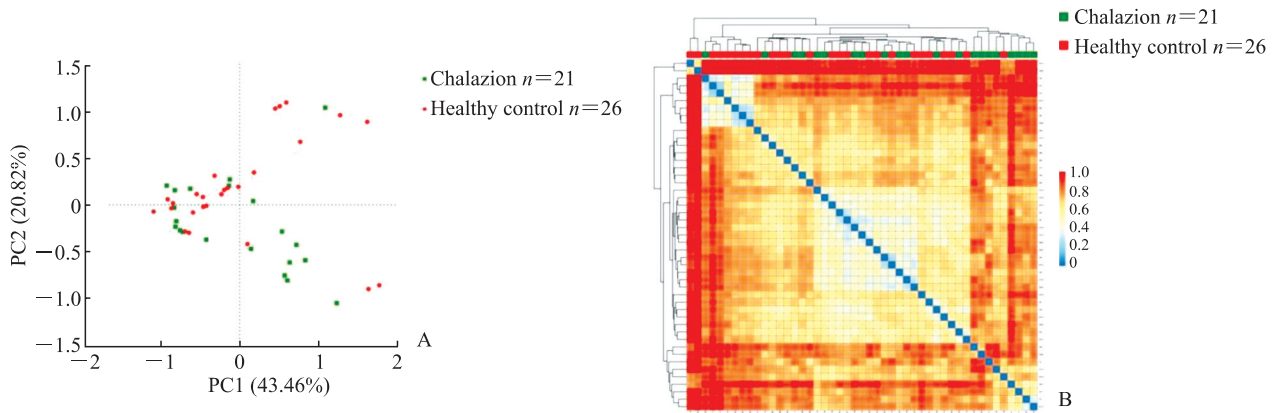


图 3 两组样品的 PCoA 图 (A) 和多样性矩阵图 (B)

Fig 3 PCoA diagram (A) and diversity matrix diagram (B) of samples in 2 groups

PCoA: Principal co-ordinates analysis; PC: Principal component.

2.5 两组肠道菌群不同分类水平的相对丰度分析 应用线性判别分析效应大小 (linear discriminant analysis effect size, LEfSe) 基于  $|\lg(\text{LDA 得分})| > 2$  [LDA 为线性判别分析 (linear discriminant analysis)] 筛选健康对照组和睑板腺囊肿组间的所有水平差异物种。共获得 11 个差异物种, 其中健康对照组有 3 个, 分别为属水平的巴恩斯氏菌 (*Barnesiella*)、种水平的多枝梭菌 (*Erysipelatoclostridium ramosum*)、种水平的 human\_gut\_metagenome; 睑板腺囊肿组有 8 个, 分别为目水平的双歧杆菌 (*Bifidobacteriales*)、属水平的双歧杆菌 (*Bifidobacterium*)、科水平的双歧杆菌 (*Bifidobacteriaceae*)、种水平的两歧双歧杆菌 (*Bifidobacterium bifidum*)、属水平的粪杆菌 (*Flavonifractor*)、种水平的长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*)、种水平的 gut\_metagenome、属水平的萨特氏菌 (*Sutterella*)。见图 4。在 LEfSe 分析基础上基于物种绝对丰度利用 R 4.1.0 软件进行 ANOSIM 分析, 在属水平上  $r = -0.013$ 、 $P = 0.615$ , 表示组间和组内没有明显差异(图 5A); 在种水平(图 5B)上  $r = 0.055$ 、 $P = 0.048$ , 表示组间和组内存在差异。采用  $t$  检验和 metastas 分析健康对照组和睑板腺囊肿组的所有水平差异物种,  $t$  检验结果显示门、纲、目、科水平均未见差异物种, 属水平有 3 种差异物种 (*Barnesiella*、*Faecalitalea*、*Terrisporobacter*) (图 5C), 而种水平则有 4 种差异物种 (*Bacteroides fragilis*、gut\_

metagenome、human\_gut\_metagenome、*Alistipes* sp. N15.MGS-157)(图 5D); metastats 检验结果显示, 在门水平发现 1 个差异物种 (*Tenericutes*)、纲水平发现 1 个差异物种 (*Mollicutes*), 目水平发现 2 个差异物种 (*Micrococcales*、*Rickettsiales*), 科水平发现 4 个差异物种 (*Leptotrichiaceae*、*Cellulomonadaceae*、*Staphylococcaceae*、*Paenibacillaceae*), 属水平发现 13 个差异物种, 种水平发现 23 个差异物种, 见表 2。综合以上结果, 最后筛选出的差异菌种为 gut\_metagenome 和 human\_gut\_metagenome, 可能有进一步研究价值。

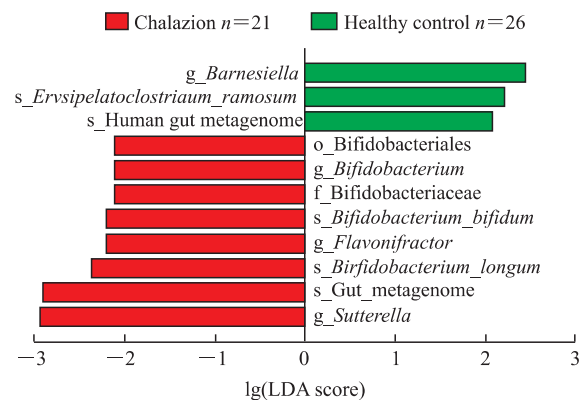


图 4 两组间物种差异的 LEfSe 分析

Fig 4 LEfSe analysis of species differences between 2 groups

LEfSe: Linear discriminant analysis effect size; LDA: Linear discriminant analysis; g: Genus; s: Species; o: Order; f: Family.

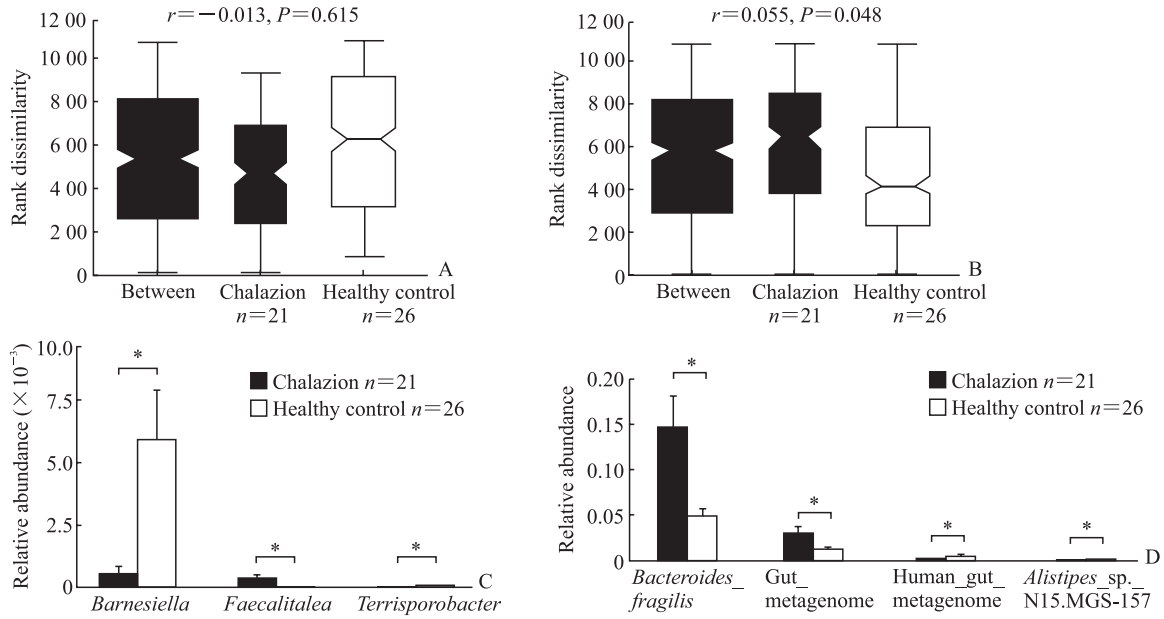


图5 两组间差异物种的ANOSIM分析(A、B)和t检验(C、D)结果

Fig 5 ANOSIM analysis (A, B) and t-test (C, D) of differential species between 2 groups

A, C: Genus; B, D: Species. \*P<0.05.  $\bar{x} \pm s$ .

表2 两组受试者肠道菌群属水平及种水平差异物种 (metastats 分析)

Tab 2 Differential species of intestinal flora on genus level and species level between 2 groups (metastats analysis)

Species	Healthy control n=26	Chalazion n=21	P value
Genus leve			
<i>Barnesiella</i>	0.005 884±0.001 971	0.000 487±0.000 335	0.006
<i>Cetobacterium</i>	0.000 021±0.000 021	0	0.000
<i>Dysgonomonas</i>	0	0.002 633±0.002 422	0.001
<i>Epulopiscium</i>	0.000 001±0.000 001	0.000 462±0.000 424	0.040
<i>Faecalitalea</i>	0.000 016±0.000 009	0.000 332±0.000 141	0.008
<i>Kluyvera</i>	0.000 057±0.000 053	0	0.049
<i>Oceanivirga</i>	0.000 018±0.000 017	0	0.000
<i>Paenibacillus</i>	0.000 008±0.000 008	0	0.020
<i>Parvimonas</i>	0.000 019±0.000 015	0.000 003±0.000 002	<0.001
<i>Proteus</i>	0	0.000 110±0.000 110	0.001
<i>Staphylococcus</i>	0.000 013±0.000 006	0.000 001±0.000 001	0.003
<i>Terrisporobacter</i>	0.000 041±0.000 016	0.000 007±0.000 003	0.030
<i>Tropheryma</i>	0.000 010±0.000 010	0	0.002
Species leve			
<i>Bacteroides_fragilis</i>	0.049 127±0.007 501	0.145 305±0.035 899	0.010
Gut_metagenome	0.012 115±0.002 063	0.029 828±0.006 771	0.016
<i>Dysgonomonas_mossii</i>	0	0.002 619±0.002 422	0.025
Human_gut_metagenome	0.004 775±0.000 826	0.002 048±0.000 472	0.007
<i>Alistipes_indistinctus</i>	0.000 400±0.000 134	0.000 111±0.000 065	0.050
Uncultured_prokaryote	0.000 598±0.000 278	0.000 055±0.000 027	0.011
<i>Rubus_hybrid_cultivar</i>	0.000 004±0.000 003	0.000 054±0.000 037	0.042
Uncultured_rumen_bacterium	0.001 652±0.000 950	0.000 016±0.000 008	0.022
<i>Alloprevotella_tannerae</i>	0.000 001±0.000 001	0.000 014±0.000 014	<0.001
<i>Lachnospirillum_phytofermentans</i>	0	0.000 012±0.000 009	<0.001
<i>Alistipes_sp._N15.MGS-157</i>	0.000 293±0.000 132	0.000 006±0.000 006	0.014
Uncultured_Bacillales_bacterium	0.000 015±0.000 009	0.000 004±0.000 002	0.011
Uncultured_microorganism	0.000 012±0.000 009	0.000 002±0.000 002	0.005
<i>Prevotella_disiens</i>	0.000 011±0.000 006	0.000 002±0.000 002	0.016
<i>Peptoniphilus_lacrimalis</i>	0.000 010±0.000 006	0.000 002±0.000 002	0.048
[ <i>Bacteroides</i> ]-coagulans	0.000 021±0.000 012	0.000 001±0.000 001	<0.001
Metagenome	0.000 025±0.000 018	0	<0.001
<i>Tropheryma_whipplei</i>	0.000 010±0.000 010	0	0.002
<i>Prevotella_buccae</i>	0.000 010±0.000 010	0	0.002
Bacterium_YE57	0.000 007±0.000 007	0	0.010
<i>Paenibacillus_sp._H3029</i>	0.000 008±0.000 008	0	0.020
Butyrate-producing_bacterium_L2-50	0.000 196±0.000 131	0	0.042
<i>Kluyvera_georgiana</i>	0.000 057±0.000 053	0	0.049

2.6 差异物种筛选 采用 corrplot 方法分析探讨 gut\_metagenome 和 human\_gut\_metagenome 与睑板腺囊肿患儿临床病理因素的相关性, 结果显示 gut\_metagenome 与睑板腺囊肿个数、破溃及术后复发呈强相关性 ( $r=0.70$ 、 $0.76$ 、 $0.85$ ,  $P$  均  $<0.01$ ; 表 3)。

表 3 不同菌株与睑板腺囊肿患儿临床病理特征的相关性分析

Tab 3 Correlation analysis between different strains and clinicopathological characteristics in children with chalazion

Parameter	Gut_metagenome		Human_gut_metagenome	
	$r$	$P$ value	$r$	$P$ value
Gender	0.34	0.05	-0.04	0.14
Age	0.08	0.38	0.50	$<0.01$
Height	0.10	0.55	0.52	$<0.01$
Weight	-0.02	0.22	0.49	$<0.01$
BMI	-0.38	0.01	-0.20	0.06
Chalazion				
History	0.08	0.44	-0.10	0.71
Number	0.70	$<0.01$	-0.04	0.19
Side	0.48	$<0.01$	-0.11	0.06
Location	0.34	0.02	-0.36	0.01
In or out	0.38	0.04	-0.09	0.09
Ulceration	0.76	$<0.01$	-0.02	0.79
Duration	0.43	0.01	-0.10	0.42
Drugs	-0.21	0.03	-0.37	0.13
Pathology	0.14	0.94	0.04	0.40
Relapse	0.85	$<0.01$	-0.01	0.41

BMI: Body mass index.

### 3 讨论

人类肠道系统大约有 1 000 多种细菌, 粪便中微生物的密度为 (1 013~1 014) /g<sup>[7]</sup>。肠道菌群在调节机体免疫平衡和维持肠道正常生理功能、免疫系统中具有重要作用, 关于肠道菌群与人体疾病的相关研究不断涌现, 肠道微生物备受关注。在儿童中, 关于肠道菌群的研究众多, 如儿童免疫、发育、肥胖及过敏等均已被证实和肠道菌群失调相关<sup>[8]</sup>。睑板腺慢性炎症是造成儿童睑板腺囊肿的原因, 肠道菌群被认为参与炎症过程, 但目前关于睑板腺囊肿儿童肠道菌群的结构特征尚未见报道。本研究希望验证健康儿童与睑板腺囊肿患儿的肠道菌群差异, 以期探寻肠道菌群改变在睑板腺囊肿发生、发展中的可能作用。

本研究共得到了 2 096 454 条序列, 聚类成 411 OTU, 分成 9 个门、117 个属、137 个种, 两组常见的细菌门均是拟杆菌门、厚壁菌门、变形

菌门, 两组拟杆菌门和厚壁菌门之和占肠道菌群的 90% 以上, 拟杆菌门的含量更高, 与其他研究结果<sup>[9]</sup>一致。以往研究认为, 当身体遭受严重感染、严重创伤和其他攻击时肠道菌群平衡会被破坏, 益生菌双歧杆菌的繁殖受到限制, 病原体大肠杆菌大量繁殖并转移到血液循环中, 引起菌血症并促发全身性炎症<sup>[10]</sup>。既往在结直肠癌、炎症性肠病、肝硬化等疾病的研究中证实, 肠道菌群的物种多样性在健康状态下明显高于疾病状态<sup>[11]</sup>。本研究中  $\alpha$  多样性分析和  $\beta$  多样性分析结果提示健康对照组和睑板腺囊肿组的菌群组成较为相似, 这提示与儿童睑板腺囊肿疾病状态相关的可能是特定的物种变化而非整体的菌群组成。

本研究通过从门、纲、目、科、属逐层分析发现, 睑板腺囊肿组与健康对照组物种分布存在部分差异; 进一步通过 LEfSe 分析和物种绝对丰度分析分别筛选到 11 个和 44 个差异物种, 在这些差异物种中 gut\_metagenome 和 human\_gut\_metagenome 为上述分析所得的种水平共有差异物种。与健康对照组相比, 睑板腺囊肿组儿童的 gut\_metagenome 菌种含量增加, 而 human\_gut\_metagenome 菌种含量下降。gut\_metagenome 和 human\_gut\_metagenome 对应的菌属分别是萨特氏菌属 (*Sutterella*) 和蓝绿藻菌属 (*Lachnoclostridium*)。萨特氏菌属与自闭症、唐氏综合征和炎症性肠病等多种人类疾病相关, 其成员广泛存在于人类胃肠道中, 具有促炎和免疫调节作用, 对与微生物群失调和变形杆菌增加有关的上皮稳态破坏无明显相关性<sup>[12]</sup>。蓝绿藻菌属与自闭症、宫颈癌和食物过敏等多种人类疾病相关<sup>[13]</sup>, 且在小肠肿瘤、桥本甲状腺炎等多种疾病中蓝绿藻菌属均呈下降趋势<sup>[14]</sup>。本研究中 gut\_metagenome 和 human\_gut\_metagenome 的变化趋势与以往研究结果一致。本研究进一步采用 corrplot 方法探讨 gut\_metagenome 和 human\_gut\_metagenome 与睑板腺囊肿患儿临床病理因素的相关性, 结果显示 gut\_metagenome 与睑板腺囊肿的个数、破溃及术后复发呈强相关性。这提示萨特氏菌属的 gut\_metagenome 菌种可能在儿童睑板腺囊肿的发生、发展中起到一定作用。

“肠-眼”轴的存在证明肠道菌群的变化和眼部疾病的发生与发展紧密相关。目前, 越来越多的研究将肠道与眼睛联系到了一起, 来自啮齿动物的

研究表明肠道菌群失调可能在许多眼科疾病的发生和恶化中发挥作用,包括糖尿病性视网膜病变、老年性黄斑变性、脉络膜新生血管、葡萄膜炎和青光眼等<sup>[15-16]</sup>。许多研究显示,儿童睑板腺囊肿的危险因素主要包括便秘、偏食、胃炎、肠易激综合征、睑板腺功能障碍及家族史<sup>[17-18]</sup>。本研究中,睑板腺囊肿患儿肠道中萨特氏菌属的 gut\_metagenome 菌种含量增加,而蓝绿藻菌属的 human\_gut\_metagenome 菌种含量下降,进一步提示儿童睑板腺囊肿的发病可能与饮食或胃肠道功能有关,睑板腺囊肿发病可能是由于饮食或肠道功能导致肠道内菌群结构发生变化,从而导致相关代谢产物经血液循环输送到眼部影响眼部功能,相关机制有待进一步研究。

本研究不足之处是为单中心、小样本研究。但根据既往及本次研究结果可认为,差异菌种 gut\_metagenome 和 human\_gut\_metagenome 可能在儿童睑板腺囊肿发生、发展中发挥作用,尤其是菌种 gut\_metagenome 与儿童睑板腺囊肿的个数、破溃及术后复发呈强相关性。这提示 gut\_metagenome 可能是一个独立于临床病理因素的、与睑板腺囊肿病情相关的微生物指标,但其具体作用和机制有待进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] BUTOVICH I A. Lipidomics of human Meibomian gland secretions: chemistry, biophysics, and physiological role of Meibomian lipids[J]. Prog Lipid Res, 2011, 50: 278-301.
- [2] OZER P A, GURKAN A, KURTUL B E, KABATAS E U, BEKEN S. Comparative clinical outcomes of pediatric patients presenting with eyelid nodules of idiopathic facial aseptic granuloma, hordeola, and chalazia[J]. J Pediatr Ophthalmol Strabismus, 2016, 53: 206-211.
- [3] ILHAN C, OZGUL YILMAZOGLU M, YILMAZBAS P. The effects of chalazion surgery on intraocular pressure and corneal topography[J]. Int Ophthalmol, 2019, 39: 1055-1059.
- [4] O'HARA A M, SHANAHAN F. The gut flora as a forgotten organ[J]. EMBO Rep, 2006, 7: 688-693.
- [5] QIN J, LI R, RAES J, ARUMUGAM M, BURGDORF K S, MANICHANH C, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing[J]. Nature, 2010, 464: 59-65.
- [6] YE Z, ZHANG N, WU C, ZHANG X, WANG Q, HUANG X, et al. A metagenomic study of the gut microbiome in Behcet's disease[J/OL]. Microbiome, 2018, 6: 135. DOI: 10.1186/s40168-018-0520-6.
- [7] LEY R E, TURNBAUGH P J, KLEIN S, GORDON J I. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity[J]. Nature, 2006, 444: 1022-1023.
- [8] ZHUANG L, CHEN H, ZHANG S, ZHUANG J, LI Q, FENG Z. Intestinal microbiota in early life and its implications on childhood health[J]. Genomics Proteomics Bioinformatics, 2019, 17: 13-25.
- [9] GU S, CHEN Y, ZHANG X, LU H, LV T, SHEN P, et al. Identification of key taxa that favor intestinal colonization of *Clostridium difficile* in an adult Chinese population[J]. Microbes Infect, 2016, 18: 30-38.
- [10] SAMUELSON D R, CHARLES T P, DE LA RUA N M, TAYLOR C M, BLANCHARD E E, LUO M, et al. Analysis of the intestinal microbial community and inferred functional capacities during the host response to *Pneumocystis pneumonia*[J]. Exp Lung Res, 2016, 42: 425-439.
- [11] KAU A L, AHERN P P, GRIFFIN N W, GOODMAN A L, GORDON J I. Human nutrition, the gut microbiome and the immune system[J]. Nature, 2011, 474: 327-336.
- [12] HIIPALA K, KAINULAINEN V, KALLIOMÄKI M, ARKKILA P, SATOKARI R. Mucosal prevalence and interactions with the epithelium indicate commensalism of *Sutterella* spp[J/OL]. Front Microbiol, 2016, 7: 1706. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01706.
- [13] WANG Z, WANG Q, ZHAO J, GONG L, ZHANG Y, WANG X, et al. Altered diversity and composition of the gut microbiome in patients with cervical cancer[J/OL]. AMB Express, 2019, 9: 40. DOI: 10.1186/s13568-019-0763-z.
- [14] YOUSSEF O, LAHTI L, KOKKOLA A, KARLA T, TIKKANEN M, EHSAN H, et al. Stool microbiota composition differs in patients with stomach, colon, and rectal neoplasms[J]. Dig Dis Sci, 2018, 63: 2950-2958.
- [15] FERNANDES R, VIANA S D, NUNES S, REIS F. Diabetic gut microbiota dysbiosis as an inflammaging and immunosenescence condition that fosters progression of retinopathy and nephropathy[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2019, 1865: 1876-1897.
- [16] SHIVAJI S. Connect between gut microbiome and diseases of the human eye[J]. J Biosci, 2019, 44: 1-5.
- [17] 林萍,刘彦芳,武志清.儿童多发性睑板腺囊肿的相关危险因素分析[J].国际眼科杂志,2018,18:751-753.
- [18] CHEN L, CHEN X, XIANG Q, ZHENG Y, PI L, LIU Q, et al. Prevalence of low serum vitamin A levels in young children with chalazia in southwest China[J/OL]. Am J Ophthalmol, 2014, 157: 1103-1108.e2. DOI:10.1016/j.ajo.2014.02.020.