

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671—9638. 20256565

· 论 著 ·

老年重症肺炎患者的肠道菌群特征研究

YU Steven^{1,2}, 周 昊^{1,2}, 蒋 娟^{1,2}, 胡新月^{1,2}, 李 窈^{1,2}, 李园园^{1,2}

[1. 中南大学湘雅医院呼吸与危重症医学科 湘雅医院呼吸中心, 湖南 长沙 410008; 2. 国家老年疾病临床医学研究中心 (湘雅医院), 湖南 长沙 410008]

[摘要] **目的** 总结与分析老年重症肺炎患者的主要临床特点、肠道菌群特征及组成变化, 并进一步探究老年重症肺炎患者肠道特征与重症肺炎病原学之间的潜在相关性。**方法** 选取长沙市某三级教学医院呼吸危重症监护病房中重症肺炎患者为研究对象, ≥ 65 岁为老年重症肺炎组, < 65 岁为非老年重症肺炎组。通过临床特征及下呼吸道分泌物病原学检测, 将老年重症肺炎组进一步分为肺部细菌感染组与肺部真菌感染组, 肺部细菌感染组根据革兰染色结果细分为革兰阳性菌组与革兰阴性菌组。收集其临床资料, 并采集其入院后 24 h 内的粪便标本进行 16S rRNA 测序检测, 比较两组患者肠道菌群特征差异, 分析老年重症肺炎组患者临床特征与两组差异菌群丰度的相关性。随后, 分析感染不同类型病原体的老年重症肺炎组患者的肠道菌群特征。**结果** 肠道菌群分析结果提示, 老年重症肺炎组与非老年重症肺炎组患者肠道微生物 α 和 β 多样性指数差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$); 线性判别分析 (LEFSe) 结果发现, 与非老年重症肺炎组患者相比, 老年重症肺炎组患者肠道菌群中机会性致病菌假单胞菌目、莫拉氏菌科以及不动杆菌属的相对丰度增高 (均 $P < 0.05$); 两组患者部分肠道差异菌群与老年重症肺炎组患者临床指标具有相关性 (均 $P < 0.05$)。 β 多样性分析 (主坐标分析) 结合 Anosim 分析发现, 老年重症肺炎组患者中, 真菌感染组与细菌感染组患者肠道菌群群落结构差异有统计学意义 ($R = 0.149, P = 0.02$); 相比于真菌感染组, 细菌感染组患者中疣微菌目、柯林斯菌属以及阿克曼菌属等益生菌及机会致病菌克雷伯菌属的丰度明显减少 (均 $P < 0.05$)。**结论** 与非老年重症肺炎患者相比, 老年重症肺炎患者肠道菌群处于失调状态, 肠道内致病菌丰度增加。两组患者肠道差异菌群与老年重症肺炎患者的部分感染指标以及器官功能相关指标具有相关性。老年重症细菌性肺炎患者与老年重症真菌性肺炎患者相比, 肠道群落结构存在显著差异, 且肠道益生菌丰度显著减少。

[关键词] 重症肺炎; 老年患者; 肠道菌群; 16S rRNA

[中图分类号] R181.3⁺2 R563.1

Characteristics of gut microbiota in elderly patients with severe pneumonia

YU Steven^{1,2}, ZHOU Hao^{1,2}, JIANG Juan^{1,2}, HU Xinyue^{1,2}, LI Tiao^{1,2}, LI Yuanyuan^{1,2}

(1. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Xiangya Center for Respiratory Medicine, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China; 2. National Clinical Research Center for Geriatric Disorders [Xiangya Hospital], Changsha 410008, China)

[Abstract] **Objective** To summarize and analyze the main clinical characteristics, feature and composition changes of gut microbiota in elderly patients with severe pneumonia, and to further explore the potential correlation between the gut characteristics and the etiology of severe pneumonia in elderly patients. **Methods** Patients with severe pneumonia admitted to the respiratory intensive care unit of a tertiary teaching hospital in Changsha were selected as the research subjects. Patients aged ≥ 65 years were assigned to the elderly severe pneumonia group, while those aged < 65 years were assigned to the non-elderly severe pneumonia group. Based on clinical characteristics and pathogen

[收稿日期] 2024-09-30

[基金项目] 医学科技人才培养计划—高通量测序技术在感染性疾病中的临床应用研究专项 (MTP2022A002); 呼吸与危重症医学科—国家临床重点专科建设项目 (Z047-02); 2023 年度国家老年疾病临床医学研究中心临床研究基金 (2023L.NJ08); 湖南省卫健委高层次人才培养计划 (2100499)

[作者简介] YU Steven (1998-), 男, 美国人, 硕士研究生, 主要从事呼吸系统疾病研究。

[通信作者] 李园园 E-mail: leeround@csu.edu.cn

detection of lower respiratory secretion, the elderly severe pneumonia group was further divided into a pulmonary bacterial infection group and a pulmonary fungal infection group. The pulmonary bacterial infection group was subdivided into Gram-positive bacteria group and Gram-negative bacteria group based on Gram-staining results. Clinical data of patients were collected, and fecal specimens within 24 hours after admission were obtained for 16S rRNA sequencing. Differences in gut microbiota characteristics between two groups of patients were compared, and the correlation between clinical characteristics of patients in the elderly severe pneumonia group and the abundance of differential microbiota was analyzed. Subsequently, the gut microbiota characteristics of elderly patients in severe pneumonia group infected by different pathogens were analyzed. **Results** Gut microbiota analysis showed no significant statistical differences in α - and β -diversity indices between patients in the elderly and non-elderly severe pneumonia groups (both $P > 0.05$). Linear discriminant analysis effect size (LEFSe) analysis indicated that, compared with patients in the non-elderly severe pneumonia group, the relative abundance of opportunistic pathogens, including *Pseudomonadales*, *Moraxellaceae*, and *Acinetobacter*, was significantly higher in patients in the elderly severe pneumonia group (all $P < 0.05$). Some differential gut microbiota in two groups of patients were correlated with clinical indicators in patients in the elderly severe pneumonia group (all $P < 0.05$). β -diversity analysis (principal coordinate analysis) combined with Anosim analysis revealed that in patients in elderly severe pneumonia group, there was significant differences in gut colony structures between patients in the bacterial and fungal infection groups ($R = 0.149$, $P = 0.02$). Compared with the fungal infection group, patients in bacterial infection group showed a significantly reduced abundance of probiotics, including *Verrucomicrobiales* and *Collinsella*, and opportunistic pathogens such as *Akkermansia* (all $P < 0.05$). **Conclusion** Elderly patients with severe pneumonia have a dysregulated gut microbiota with significantly increased abundance of pathogenic bacteria compared with non-elderly patients. Differential gut microbiota of two groups of patients are correlated with some infection-related and organ function indicators in elderly patients with severe pneumonia. Compared with elderly patients with severe fungal pneumonia, those with severe bacterial pneumonia have significant differences in gut colony structures and a notably reduction in probiotics abundance.

[**Key words**] severe pneumonia; elderly patient; gut microbiota; 16S rRNA

重症肺炎是呼吸危重症监护病房(respiratory intensive care unit, RICU)最常见的疾病之一,其患者相较于非重症的肺炎患者更容易出现脓毒症、多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)等危及生命的并发症。据统计,住院治疗的肺炎患者中有 25% 进展为重症肺炎,需要入住重症监护病房(intensive care unit, ICU),入住后病死率为 30%~50%^[1]。

肠道是人体内微生物最密集的器官,肠道菌群也是被研究最广泛的微生物群^[2]。研究^[3]显示,肠道与呼吸道微生态之间存在“肠-肺轴”交互作用:一方面,肠道菌群产生多种可溶性微生物组分与代谢产物以调控肺部炎症;另一方面,肠道与肺部中的免疫细胞与免疫因子还可通过淋巴管进行交换,肠道中的免疫细胞可通过循环系统迁移到肺部。因此,肠道菌群和肺部疾病的发生发展存在密不可分的联系^[4],维持“肠-肺轴”的稳定可能有利于减轻肺部炎症的发生发展。近年来新型冠状病毒感染疫情暴发与病毒不断传播后,重症肺炎患者的数量不断攀升,研究者开始重视重症肺炎发生发展中伴随

的严重肠道菌群失调。重症肺炎患者的肠道菌群多样性显著降低,肠道微生态紊乱似乎与不良预后相关^[5]。采取有效措施降低肠道机会性致病菌的数量被认为可能是降低呼吸道病毒感染重症发病率和病死率的关键。由此可见,探索肠道菌群在重症肺炎患者中的作用已成为当前呼吸道感染领域研究的热点。

相较于非老年人群,老年人群的肠道菌群本身具有菌群多样性下降、优势菌种变迁、益生菌数量减少以及兼性厌氧菌增多等特点^[6],这与随年龄增长而出现的饮食习惯改变、胃肠功能减退、免疫系统衰老及伴随疾病等因素息息相关^[7-8]。并且,老年人作为肺炎的易感人群,由于机体各系统的老化,其肺部纤毛摆动功能减退、肺泡巨噬细胞防御功能下降,相较于非老年人更容易发展为重症肺炎^[9]。

因此,本研究拟开展一项前瞻性、观察性研究,收集临床资料,系统总结并分析老年重症肺炎患者的临床特征;从物种的角度研究肠道菌群与老年重症肺炎的关联特征,寻找与老年重症肺炎特异关联菌群;探寻肠道菌群与老年重症肺炎临床特征的相

关性;最后,探究老年重症肺炎患者肺部不同病原体感染时肠道菌群的特征及差异。

1 对象与方法

1.1 研究对象 前瞻性选取 2022 年 12 月 1 日—2024 年 2 月 1 日某院 RICU 救治的老年与非老年重症肺炎患者作为研究对象。纳入标准:(1)符合重症肺炎诊断;(2)实际年龄 ≥ 18 岁;(3)同意留取适量粪便标本进行 16S rRNA 测序;(4)24 h 内可提供粪便标本;(5)患者住院时间 ≥ 48 h;(6)签署知情同意书。排除标准:(1)处于妊娠期或者哺乳期的患者;(2)近 3 个月内曾服用益生菌;(3)确诊肠道慢性疾病。本研究经中南大学湘雅医院伦理委员会的批准(伦理号:202211736)。

1.2 相关定义 重症社区获得性肺炎诊断参考 2016 年中华医学会呼吸病学分会《中国成人社区获得性肺炎诊断和治疗指南》中重症肺炎诊断标准,肺炎患者满足以下 1 项主要标准或者 ≥ 3 项次要标准可诊断为重症肺炎。主要标准:(1)需要气管插管行机械通气治疗;(2)脓毒症休克经积极液体复苏后仍需要血管活性药物治疗。次要标准:(1)呼吸频率 ≥ 30 次/分;(2) $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 250$ mmHg;(3)多肺叶浸润;(4)意识障碍和(或)定向障碍;(5)血尿素 ≥ 7.14 mmol/L(≥ 20 mg/dL);(6)收缩压 < 90 mmHg,需要积极的液体复苏。

1.3 临床资料收集 对该医院 RICU 内符合重症肺炎诊断标准的患者进行详细问诊,收集患者入院 24 h 以内的病史及实验室检查、检验与影像学检查等资料。获得研究参与者的相关数据包括:(1)性别、年龄、职业、民族等;(2)既往史及诊疗史;(3)临床症状及体征,包括生命体征、临床表现和重要阳性体征;(4)器官功能评价,包括急性生理与慢性健康评价(APACHE II)评分;(5)实验室指标,包括白细胞计数(white blood cell, WBC)、中性粒细胞计数(NEU)、清蛋白、球蛋白、血肌酐、血尿素、降钙素原(procalcitonin, PCT)、C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH);(6)影像学表现;(7)病原学相关信息,包括检测时间、检测标本、检测手段及不同检测手段的病原学检测结果等。

1.4 肠道菌群特征分析 采用十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)或十六烷基三甲基

溴化铵(cetyl trimethyl ammonium bromide, CTAB)方法提取标本 DNA,随后进行电泳检测以确认其纯度和浓度。采用 16S V4 区特异性引物进行 PCR 扩增,并采用 Illumina 公司的 TruSeq DNA PCR-Free Library Preparation Kit 试剂盒进行文库构建。构建完成后,使用 Qubit 定量和对文库进行检测,确认文库合格后,使用 NovaSeq 6000 测序仪进行测序。为确保数据的有效性,对原始数据进行拼接及过滤。随后,对数据进行分类操作单元(operational taxonomic unit, OTU)的聚类,并对每个 OTU 的代表序列进行物种注释,评估标本中的物种丰富度及多样性。对肠道菌群进行 α 多样性和 β 多样性分析,以评估不同标本的菌群组成和结构差异。 α 多样性反映单个标本内部的物种丰富度和均匀度,采用 Chao1 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数进行评估。 β 多样性反映不同标本间菌群结构的差异,采用 Bray-Curtis 距离矩阵计算,并通过主坐标分析可视化,组间差异采用 Anosim 检验进行统计评估,以 R 值和 P 值衡量组间菌群结构的差异程度。同时进行多序列比对和系统发生树的构建,揭示不同标本和分组之间的群落结构差异,通过降维图或标本聚类数将差异可视化,采用线性判别分析(linear discriminant analysis effect size, LEfSe)寻找不同组的优势菌群。最后,采用 Spearman 法分析组间肠道差异菌群丰度与临床指标的相关性。此部分由诺禾致源生物科技有限公司完成。

1.5 分组信息 根据患者年龄分为老年重症肺炎组(≥ 65 岁)与非老年重症肺炎组(< 65 岁);并综合老年重症肺炎组临床特点及合格下呼吸道分泌物病原学检测结果将老年重症肺炎组分为老年重症肺炎细菌感染组(细菌感染组)与老年重症肺炎真菌感染组(真菌感染组);最后,将细菌感染组根据病原体的革兰染色结果分为革兰阳性菌感染组与革兰阴性菌感染组。

1.6 统计方法 数据应用 SPSS 25.0 软件进行统计分析,本研究连续型变量分布采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)、中位数(四分位数)[$M(P_{25}, P_{75})$]进行描述,计数资料采用例数和百分比[例(%)]进行描述。连续型变量若满足正态性则使用 t 检验,不满足则使用 Wilcoxon 秩和检验。对于离散型变量的组间差异检验,采用卡方检验或 Fisher 确切概率法。以 $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 重症肺炎患者临床特征分析

2.1.1 人口统计学特征及临床特征与转归 2022 年 12 月 1 日—2024 年 2 月 1 日共 85 例 RICU 重症肺炎患者符合纳入标准,排除 21 例患者(12 例临床资料不完整,9 例粪便标本考虑污染),最终共纳入 64 例。将年龄 ≥ 65 岁的重症肺炎患者纳入老年重症肺炎组($n=41$),年龄 <65 岁的纳入非老年重症肺炎组($n=23$)。老年重症肺炎组、非老年重症肺炎组患者中位年龄分别为 73、53 岁,均以男性为主。在基础疾病方面,老年重症肺炎组患者合并冠心病的比例高于非老年重症肺炎组($P=0.001$)。老年重症肺炎组患者基线体温较非老年重症肺炎组患者

低($P=0.021$)。临床转归方面,老年重症肺炎组患者并发脓毒症的比例较非老年重症肺炎组患者高($P=0.043$)。见表 1。

2.1.2 病原学 41 例老年重症肺炎患者的肺部主要致病病原体详见表 2。

2.2 老年重症肺炎组与非老年重症肺炎组患者肠道菌群分析

2.2.1 肠道菌群多样性分析 老年重症肺炎组与非老年重症肺炎组患者的 α 多样性指数差异均无统计学意义(均 $P>0.05$),见图 1。同时, β 多样性分析(主坐标分析图)显示,老年重症肺炎组与非老年重症肺炎组患者的标本在主坐标轴上的分布接近,未表现出明显的分离趋势,同时结合 Anosim 分析结果($R=-0.00117, P=0.452$),表明两组患者肠道菌群群落结构差异无统计学意义,见图 2。

表 1 老年重症肺炎组与非老年重症肺炎组患者基线临床特征

Table 1 Baseline clinical characteristics of patients in elderly and non-elderly severe pneumonia groups

变量	老年重症肺炎组($n=41$)	非老年重症肺炎组($n=23$)	$Z/\chi^2/t$	P
基本信息				
年龄[$M(P_{25}, P_{75})$, 岁]	73.0(69.0, 80.0)	53.0(49.0, 59.0)	6.597	<0.001
男性[例(%)]	32(78.05)	15(65.22)	1.244	0.265
吸烟史[例(%)]	17(41.46)	12(52.17)	0.682	0.409
基础疾病[例(%)]				
肺结核	2(4.88)	1(4.35)	—	0.923
慢性阻塞性肺疾病	9(21.95)	3(13.04)	—	0.381
间质性肺疾病	3(7.32)	0(0)	—	0.184
哮喘	0(0)	1(4.35)	—	0.178
慢性支气管炎	5(12.20)	0(0)	—	0.081
支气管扩张	2(4.88)	0(0)	—	0.282
糖尿病	14(34.15)	6(26.09)	0.446	0.505
高血压	21(51.22)	11(47.83)	0.068	0.795
冠心病	20(48.78)	2(8.70)	—	0.001
慢性肾病	2(4.88)	3(13.04)	—	0.243
生命体征指标				
体温($\bar{x} \pm s, ^\circ\text{C}$)	36.9 ± 0.6	37.4 ± 1.1	-2.367	0.021
HR[$M(P_{25}, P_{75})$, 次/分]	87(79, 100)	93(86, 107)	-1.336	0.188
RR($\bar{x} \pm s$, 次/分)	22.3 ± 4.7	21.7 ± 3.3	0.584	0.561
SBP[$M(P_{25}, P_{75})$, mmHg]	132.0(120.0, 152.0)	128.0(116.0, 148.0)	0.007	0.994
DBP($\bar{x} \pm s$, mmHg)	64.5 ± 10.2	70.7 ± 17.0	-1.839	0.071
SpO ₂ ($\bar{x} \pm s$)	95.5 ± 2.7	95.9 ± 3.6	0.017	0.986
氧合指数($\bar{x} \pm s$, mmHg)	192.4 ± 16.7	192.4 ± 18.9	1.870	0.796
APACHE II 评分[$M(P_{25}, P_{75})$]	15(6, 20)	13(8, 17)	1.614	0.116

续表 1 (Table 1, Continued)

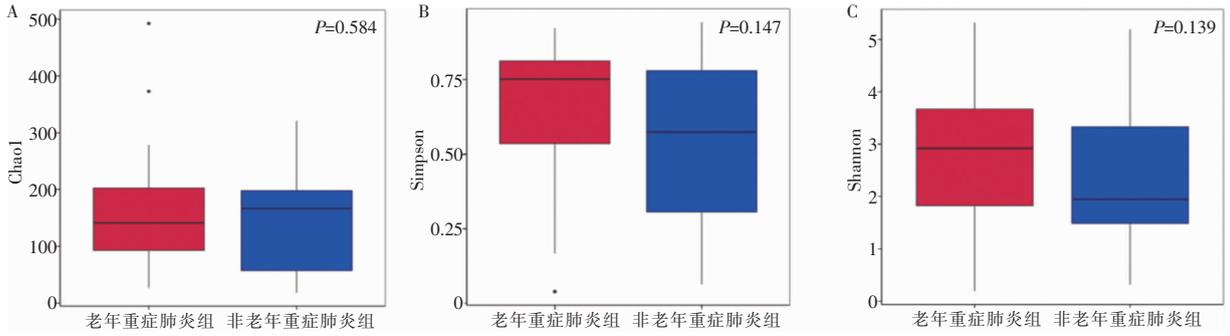
变量	老年重症肺炎组 (n = 41)	非老年重症肺炎组 (n = 23)	t/Z/ χ^2	P
实验室指标				
WBC($\bar{x} \pm s, \times 10^9/L$)	11.4 \pm 6.7	10.1 \pm 6.1	0.736	0.464
NEU($\bar{x} \pm s, \times 10^9/L$)	9.9 \pm 6.6	8.4 \pm 5.5	0.873	0.386
淋巴细胞计数($\bar{x} \pm s, \times 10^9/L$)	0.7 \pm 0.5	1.0 \pm 0.7	-1.579	0.119
血红蛋白[M(P_{25}, P_{75}), g/L]	100.0(88.5, 117.0)	98.0(85.0, 108.0)	0.728	0.467
血小板($\bar{x} \pm s, \times 10^9/L$)	173.2 \pm 88.7	213.7 \pm 155.0	-1.336	0.186
CRP($\bar{x} \pm s, mg/L$)	125.7 \pm 117.3	106.4 \pm 94.1	0.484	0.504
PCT($\bar{x} \pm s, ng/mL$)	4.20 \pm 9.63	1.59 \pm 3.19	1.196	0.234
LDH($\bar{x} \pm s, U/L$)	344.6 \pm 307.8	323.7 \pm 256.1	0.275	0.785
清蛋白($\bar{x} \pm s, mg/L$)	30.3 \pm 5.6	30.8 \pm 4.7	-0.388	0.699
球蛋白[M(P_{25}, P_{75}), mg/L]	25.8(21.2, 30.1)	28.0(22.6, 28.6)	-1.061	0.293
总胆红素($\bar{x} \pm s, \mu mol/L$)	46.7 \pm 126.2	117.7 \pm 217.3	-1.659	0.102
血肌酐($\bar{x} \pm s, \mu mol/L$)	119.6 \pm 131.8	94.8 \pm 118.4	0.750	0.456
血尿素($\bar{x} \pm s, mmol/L$)	29.9 \pm 48.3	48.5 \pm 93.2	-1.055	0.296
G 试验阳性[例(%)]	3(7.32)	4(17.39)	-	0.215
临床转归				
并发脓毒症[例(%)]	7(17.07)	0(0)	-	0.043
并发 MODS[例(%)]	3(7.32)	0(0)	-	0.547
28 天病死率[例(%)]	5(12.20)	2(8.70)	-	0.867
入住 ICU 时间($\bar{x} \pm s, d$)	10.4 \pm 5.4	9.0 \pm 4.6	1.047	0.273
总住院时间($\bar{x} \pm s, d$)	11.9 \pm 6.5	10.5 \pm 7.1	0.800	0.431

注:HR 表示心率;RR 表示呼吸频率;SBP 表示收缩压;DBP 表示舒张压;SpO₂ 表示经皮血氧饱和度;MODS 表示多器官功能障碍综合征;- 表示数据不存在。

表 2 41 例老年重症肺炎患者肺部感染病原体情况

Table 2 Pulmonary infection pathogens in 41 elderly severe pneumonia patients

病原体	例数	比率(%)	病原体	例数	比率(%)
细菌			真菌		
革兰阴性菌	19	46.34	烟曲霉	11	26.83
革兰阴性菌	11	26.83	烟曲霉	5	12.19
鲍曼不动杆菌	4	9.75	白念珠菌	3	7.32
洋葱伯克霍尔德菌	3	7.32	耶氏肺孢子菌	2	4.88
肺炎克雷伯菌	2	4.88	隐球菌	1	2.44
流感嗜血杆菌	1	2.44	其他类型		
嗜麦芽窄食单胞菌	1	2.44	新型冠状病毒	11	26.83
革兰阳性菌	8	19.51	新型冠状病毒	6	14.63
肺炎链球菌	3	7.32	甲型流行性感冒病毒	4	9.76
粪肠球菌	2	4.88	鹦鹉热衣原体	1	2.44
金黄色葡萄球菌	2	4.88			
纹带棒状杆菌	1	2.44			



注:A为Chao1指数,B为Simpson指数,C为Shannon指数。

图1 老年重症肺炎组与非老年重症肺炎组患者肠道菌群α多样性指数分析

Figure 1 Gut microbiota α-diversity indices of patients in elderly and non-elderly severe pneumonia groups

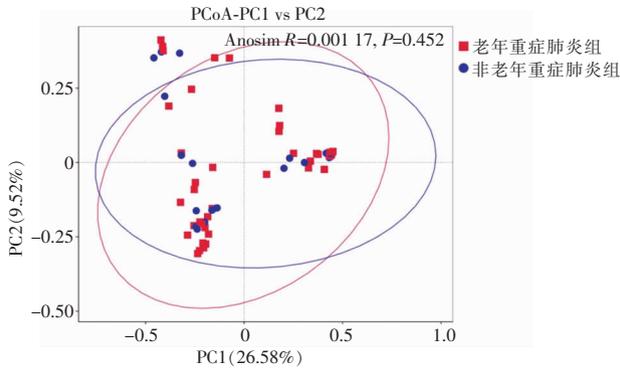
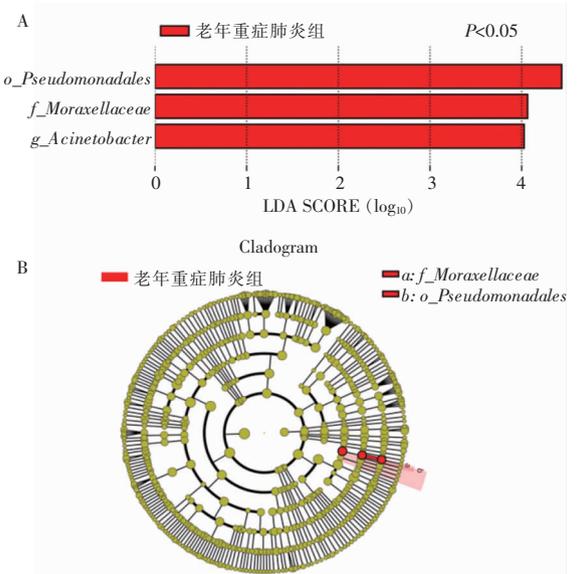


图2 老年重症肺炎组与非老年重症肺炎组主坐标分析

Figure 2 Principal coordinates analysis of gut microbiota in elderly and non-elderly severe pneumonia groups



注:图A为LDA值分布柱状图(log₁₀),展示组间差异具有统计学意义的生物标志物(biomarker),即两组间差异显著的菌群;柱长表示菌群对组间差异的影响力。图B为物种分支图,展示组间差异具有统计学意义的物种在分类学上的分布及进化关系,差异物种以高亮标记。

图3 老年重症肺炎组与非老年重症肺炎组患者肠道菌群LEfSe分析

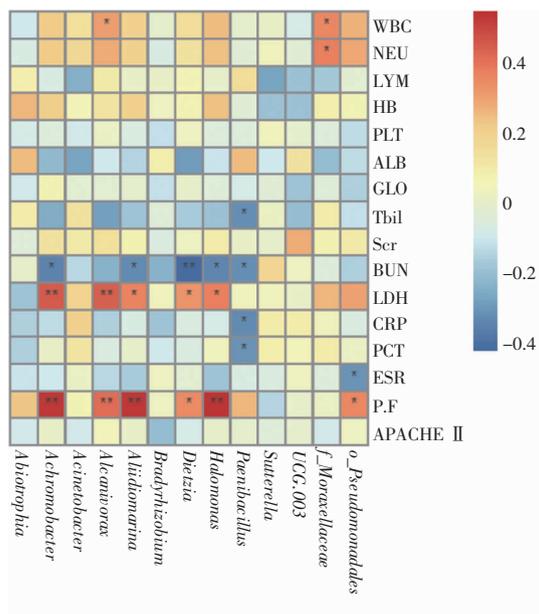
Figure 3 LEfSe analysis of gut microbiota in elderly and non-elderly severe pneumonia groups

2.2.2 肠道菌群相对丰度差异分析 本研究采用MetagenomeSeq的方法研究两组间差异有统计学意义的物种,发现在属水平,13个差异有统计学意义的物种分别为乏养菌属(*Abiotrophia*)、食烷菌属(*Alcanivorax*)、别样海源菌属(*Aliidiomarina*)、慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)、迪茨氏菌属(*Dietzia*)、嗜盐单胞菌属(*Halomonas*)、*Lachnospiraceae*_NK4A136_group、类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)、卟琳单胞菌(*Porphyromonas*)、月单胞菌属(*Selenomonas*)、萨特氏菌属(*Sutterella*)、UCG-003、魏斯氏菌属(*Weissella*)(均 $P < 0.05$)。

LEfSe分析结果显示,两组间共筛选出3个相对丰度差异有统计学意义的菌群(均 $P < 0.05$),其中,老年重症肺炎组的优势菌群为假单胞菌目(*o_Pseudomonadales*)、莫拉氏菌科(*f_Moraxellaceae*)及不动杆菌属(*g_Acinetobacter*),皆为机会性致病菌,见图3。

2.2.3 相关性分析 对两组患者部分肠道差异菌群丰度与临床指标进行相关性分析发现,假单胞菌

目(机会性致病菌)与血沉呈负相关($r = -0.318, P < 0.05$)与氧合指数正相关($r = 0.361, P < 0.05$);莫拉氏菌科(机会性致病菌)与白细胞水平及中性粒细胞水平呈正相关(r 值分别为0.355、0.376,均 $P < 0.05$)。类芽孢杆菌属与总胆红素、血尿素、CRP及PCT水平呈负相关(r 值分别为-0.321、-0.320、-0.331、-0.317,均 $P < 0.05$)。同时,其他部分差异菌群与患者部分临床指标也存在相关性,见图4。



注:横轴为老年重症肺炎组与非老年重症肺炎组患者差异菌群,纵轴为临床指标。淋巴细胞计数(lymphocyte count, LYM),血红蛋白(hemoglobin, HB),血小板计数(platelet count, PLT),清蛋白(albumin, ALB),球蛋白(globulin, GLO),总胆红素(total bilirubin, Tbil),血肌酐(serum creatinine, Scr),血尿素(blood urea nitrogen, BUN),血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR),氧合指数(PaO_2/FiO_2 ratio, P.F)。*表示 $P < 0.05$, **表示 $P < 0.01$ 。

图 4 两组差异菌群与老年重症肺炎患者临床指标相关性分析

Figure 4 Correlation between differential gut microbiota and clinical indicators in elderly severe pneumonia patients

2.3 不同病原体感染的老年重症肺炎患者肠道菌群差异分析

2.3.1 肠道菌群多样性分析 为验证不同病原体感染的老年重症肺炎患者肠道菌群差异,排除混合感染、其他病原体感染后,分析细菌感染组及真菌感染组老年重症肺炎患者的肠道菌群分析,发现细菌感染组 α 多样性中 Chao1 指数 ($P = 0.077$)、Shannon 指数 ($P = 0.232$) 与 Simpson 指数 ($P = 0.145$) 均较真菌感染组降低,但差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

主坐标分析结果显示,两组患者标本整体呈分

类聚集,少数标本存在重叠现象,结合 Anosim 差异分析结果 ($R = 0.149, P = 0.02$),证明两组间物种群落结构存在差异。见图 5。

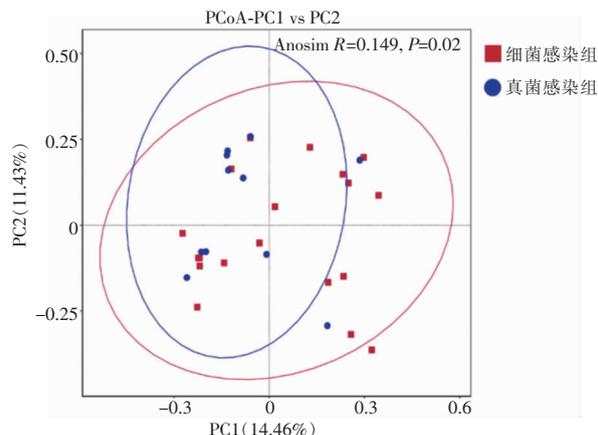


图 5 细菌感染组与真菌感染组主坐标分析

Figure 5 Principal coordinates analysis of gut microbiota in bacterial and fungal infection groups

2.3.2 肠道菌群 LEFSe 分析 LEFSe 分析结果显示,细菌感染组患者肠道疣微菌门(*p_Verrucomicrobiota*)、疣微菌纲(*c_Verrucomicrobiae*)、疣微菌目(*o_Verrucomicrobiales*)、红蝽菌科(*f_Coriobacteriaceae*)、阿克曼菌科(*f_Akkermansiaceae*)、克雷伯菌属(*g_Klebsiella*)、柯林斯菌属(*g_Collinsella*)以及阿克曼菌属(*g_Akkermansia*)的相对丰度较真菌感染组减少,芽孢杆菌纲(*c_Bacilli*)的丰度增加,差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$),见图 6。细菌感染组患者肠道丰度减少的菌群中,疣微菌、红蝽菌及阿克曼菌皆为肠道益生菌。

2.3.3 革兰阳性菌组与革兰阴性菌组患者肠道菌群 LEFSe 分析 将纳入的 19 例细菌性肺炎患者按其病原体革兰染色结果分为革兰阳性菌组 ($n = 8$) 与革兰阴性菌组 ($n = 11$)。两组患者肠道菌群 LEFSe 分析显示,与革兰阳性菌组比较,革兰阴性菌组的益生菌如双歧杆菌属(*g_Bifidobacterium*)丰度减少,拟杆菌纲(*c_Bacteroidia*)丰度增多(均 $P < 0.05$)。见图 7。

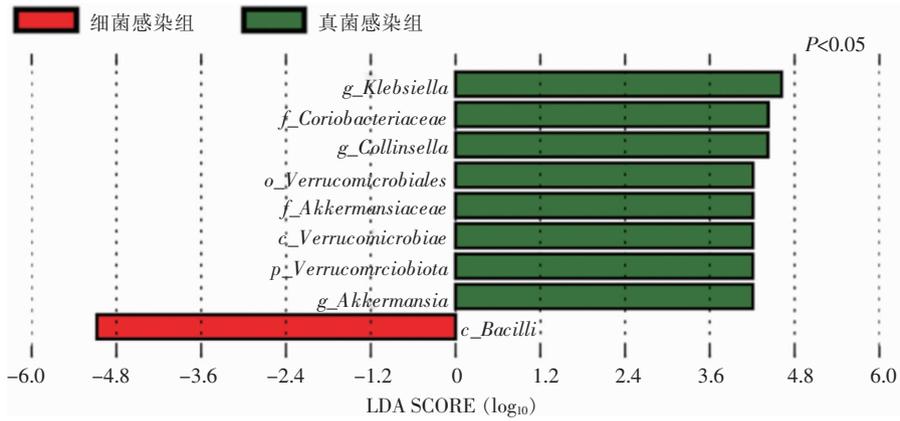


图 6 肺部细菌感染组与真菌感染组患者肠道菌群 LefSe 分析

Figure 6 LefSe analysis of gut microbiota in pulmonary bacterial and fungal infection groups

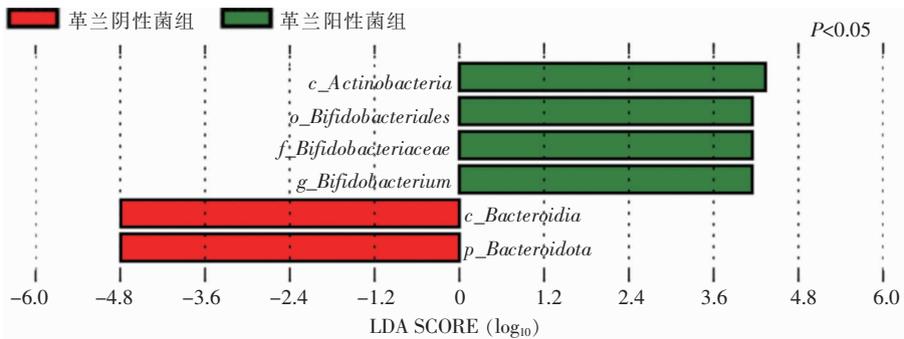


图 7 革兰阳性组与革兰阴性组患者肠道菌群 LefSe 分析

Figure 7 LefSe analysis of gut microbiota in Gram-positive and Gram-negative bacterial infection groups

3 讨论

对两组患者 α 多样性指数中的 Chao1、Simpson 与 Shannon 指数进行比较发现,老年重症肺炎组均较非老年重症肺炎组略微升高,但差异无统计学意义,提示老年重症肺炎组患者肠道菌群丰富度可能更高,这与既往研究^[10-11]报道的老年人肠道菌群 α 多样性指数存在升高趋势的结果相符合。但由于纳入患者中非老年重症肺炎组患者中位年龄约 53 岁,且部分非老年重症肺炎组患者年龄接近老年人年龄的界定值 65 岁,可能是导致两组患者肠道菌群的 α 多样性指数差异不具统计学意义的原因。

进一步对老年重症肺炎组和非老年重症肺炎组患者的肠道菌群相对丰度进行 LefSe 分析发现,老年重症肺炎组丰度增加,且差异最大的优势菌群为假单胞菌目。假单胞菌是一种机会性致病菌,临床上最常见为铜绿假单胞菌^[12],是免疫抑制人群及结构性肺病患者的易感病原菌^[13]。另有研究^[14-15]证

实,在支气管扩张症患者中,由于假单胞菌感染所导致的肠道菌群失调与其较差的临床预后相关联。除了假单胞菌目外,LefSe 分析结果还发现莫拉氏菌科与不动杆菌属亦是老年重症肺炎患者的优势菌群。莫拉氏菌科包含各种机会性致病菌,如医院获得性肺炎与社区获得性肺炎的常见致病菌鲍曼不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*) 和卡他莫拉菌 (*Moraxella catarrhalis*)^[16-18]。既往研究^[19]发现,在人类免疫缺陷病毒(HIV)阳性患者中,莫拉氏菌科丰度增加会伴随肠道菌群的有益代谢产物(如短链脂肪酸中的丁酸和戊酸)减少。另一项研究^[20]发现,不同地区钠的摄入量可影响肠道中莫拉氏菌科的丰度。因湖南是饮食习惯高钠摄入地区,该饮食习惯可能是影响莫拉氏菌科丰度的因素之一。此外,不动杆菌属可与其他肠道微生物共生并大量定植与储存在肠道中,过多的不动杆菌属可能导致除肠道感染外的次级感染,如血流感染或肺部感染^[21]。因此,老年患者的临床治疗难度大、预后差,可能与肠道不动杆菌属的定植与感染相关。另外有研究^[22]

发现在脓毒症相关脑病患者的肠道菌群中可见不动杆菌属丰度升高,本研究也发现老年重症肺炎组患者并发脓毒症的比例明显升高,同样有可能是肠道中不动杆菌属参与了脓毒症的发生发展过程。综上所述,本研究发现老年重症肺炎患者肠道内致病菌丰度较非老年患者明显升高,导致两组肠道优势菌群差异的可能原因是老年人肠道内共生菌的丰度下降,肠道菌群紊乱与失调,一定程度增强了致病菌在老年人肠道中的定植能力^[23]。同时,年龄增长对食道、胃和结肠的运动性也有影响,老年人更易出现营养不良、吞咽困难、便秘及大便失禁等胃肠道症状。此外,由于年龄增长导致的肌间神经丛神经细胞数量的减少和小肠绒毛退化导致的肠道表面积减少可能会导致肠道对营养吸收的减弱与局部免疫环境损伤^[24]。Man 等^[25]发现机体衰老可导致肠道中产生过量的促炎细胞因子,可能是针对肠道致病菌的保护性免疫反应下降的原因。

两组差异菌群与老年重症肺炎组患者临床特征相关性分析显示,机会致病菌莫拉氏菌科与 WBC 及 NEU 呈正相关,提示其可能参与机体的感染过程。而类芽孢杆菌属与 CRP、PCT、血尿素及总胆红素呈负相关,可能为靶器官功能改变提供有益的作用。Yeoh 等^[26]发现在新型冠状病毒肺炎患者中,肠道菌群组成与 CRP 等炎症指标相关,其可能通过调控宿主免疫反应间接影响新型冠状病毒肺炎患者的严重程度。由此可见,肠道莫拉氏菌科与类芽孢杆菌属的丰度可能成为提示重症肺炎疾病严重程度或器官功能指数的新型生物标志物。

进一步分析老年重症肺炎患者中细菌感染患者和真菌感染患者肠道菌群差异,结果显示细菌感染组较真菌感染组疣微菌门、疣微菌纲、疣微菌目、红螯菌科、阿克曼菌科、柯林斯菌属以及阿克曼菌属等益生菌的丰度明显降低。益生菌可通过对难以消化的纤维进行发酵而产生短链脂肪酸,随后通过调控吞噬作用、趋化因子和细胞生长及凋亡的中心信号通路等方式来塑造肠道上皮屏障的组成和功能,进而调节机体的免疫应答能力^[27]。既往一项对包括细菌性感染在内的呼吸道感染患者的研究^[28]发现,疣微菌的丰度在呼吸道感染患者粪便中明显下降。疣微菌门中的阿克曼菌属已被证实为人体有益共生菌,其与抗炎作用以及调节宿主的新陈代谢和免疫反应密不可分,故有望成为如结肠炎、代谢综合征、免疫性疾病和癌症等菌群相关疾病的治疗靶点^[29-30]。另有研究^[31]发现,肠道中柯林斯菌属产生的熊去氧

胆酸可能通过抑制细胞因子风暴综合征以间接预防新型冠状病毒感染(COVID-19),并改善 COVID-19 引起的急性呼吸窘迫综合征,但另一项研究^[32]发现其丰度升高也可能与肠道感染的风险增加相关。综上所述,与真菌感染组相比,与宿主免疫及新陈代谢调节相关的肠道共生菌和可产生短链脂肪酸的肠道益生菌的相对丰度在细菌感染组患者中降低。结合前一部分结果提示老年重症肺炎患者肠道稳态失衡,在细菌性肺炎患者中尤为显著,并以肠道益生菌减少为主要特点。

最后,革兰阴性菌组与革兰阳性菌组相比,肠道益生菌双歧杆菌属丰度明显下降,拟杆菌属丰度明显升高。双歧杆菌可在胃肠道健康及不同疾病中产生积极影响,被广泛纳入临床使用的益生菌制剂中^[33]。Siempos 等^[34]发现,益生菌的使用可降低呼吸机相关肺炎的发病率。另有动物试验证实,给予脓毒症小鼠口服双歧杆菌治疗能明显改善其感染和脓毒症后的肺损伤,且治疗组小鼠肺部中性粒细胞浸润明显低于对照组^[35]。本研究首次发现革兰阴性菌感染所致的重症肺炎患者较革兰阳性菌感染所致的重症肺炎患者肠道菌群双歧杆菌属丰度明显下降,提示在对革兰阴性菌重症肺炎患者的临床治疗中应更加重视加入包含双歧杆菌在内的肠道益生菌制剂以维持肠道健康及稳态。以上研究结果可为今后在探讨重症肺炎患者如何精准补充肠道益生菌的治疗中提供一定思路和依据。

本研究仍然存在部分不足之处。首先,研究的样本量相对较小,这可能导致部分结果尽管提示存在趋势,但未具有统计学意义。其次,研究对象均为 1 所医院 RICU 内重症肺炎患者,部分患者为其他医院转院患者,已接受短期抗菌药物治疗,可能入院前肠道菌群组成及功能已受影响,从而导致研究结果产生偏倚。此外,非老年重症肺炎组中的部分患者年龄接近老年重症肺炎组的界定年龄(65 岁),这可能削弱了两组间菌群多样性差异的显著性。第三,本研究采用了 16S rRNA 测序方法,尽管这是目前研究肠道菌群的常用方法之一,但其相较于宏基因组测序在深度上存在局限,宏基因组测序可提供更深层次的功能信息。未来开展老年重症肺炎患者肠道菌群研究应侧重更大规模的多中心、多地区及包括不同层级医院的前瞻性研究,同时尽可能纳入初诊的重症肺炎患者以消除偏倚,以及在非老年重症肺炎组中纳入更多年龄较轻的患者。采用宏基因组测序方式,更深入全面地探索肠道菌群与肺部菌

群的关联,进一步佐证“肠-肺轴”的存在和意义,同时利用基础与动物试验等方式探寻可能机制。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] Alvarez-Lerma F, Torres A. Severe community-acquired pneumonia[J]. *Curr Opin Crit Care*, 2004, 10(5): 369-374.
- [2] Grice EA, Segre JA. The human microbiome: our second genome[J]. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2012, 13: 151-170.
- [3] Chakradhar S. A curious connection: teasing apart the link between gut microbes and lung disease[J]. *Nat Med*, 2017, 23(4): 402-404.
- [4] Budden KF, Gellatly SL, Wood DLA, et al. Emerging pathogenic links between microbiota and the gut-lung axis[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2017, 15(1): 55-63.
- [5] Zhang F, Lau RI, Liu Q, et al. Gut microbiota in COVID-19: key microbial changes, potential mechanisms and clinical applications[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2023, 20(5): 323-337.
- [6] Salazar N, Valdés-Varela L, González S, et al. Nutrition and the gut microbiome in the elderly[J]. *Gut Microbes*, 2017, 8(2): 82-97.
- [7] Ragonnaud E, Biragyn A. Gut microbiota as the key controllers of “healthy” aging of elderly people[J]. *Immun Ageing*, 2021, 18(1): 2.
- [8] Coman V, Vodnar DC. Gut microbiota and old age: modulating factors and interventions for healthy longevity[J]. *Exp Gerontol*, 2020, 141: 111095.
- [9] Chong CP, Street PR. Pneumonia in the elderly: a review of the epidemiology, pathogenesis, microbiology, and clinical features[J]. *South Med J*, 2008, 101(11): 1141-1145.
- [10] Wilmanski T, Diener C, Rappaport N, et al. Gut microbiome pattern reflects healthy ageing and predicts survival in humans[J]. *Nat Metab*, 2021, 3(2): 274-286.
- [11] Kong FL, Deng FL, Li Y, et al. Identification of gut microbiome signatures associated with longevity provides a promising modulation target for healthy aging[J]. *Gut Microbes*, 2019, 10(2): 210-215.
- [12] Distrutti E, Monaldi L, Ricci P, et al. Gut microbiota role in irritable bowel syndrome: new therapeutic strategies [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(7): 2219-2241.
- [13] Oliver A, Cantón R, Campo P, et al. High frequency of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infection[J]. *Science*, 2000, 288(5469): 1251-1254.
- [14] Narayana JK, Aliberti S, Mac Aogáin M, et al. Microbial dysregulation of the gut-lung axis in bronchiectasis[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2023, 207(7): 908-920.
- [15] Fichtenbaum CJ, Woeltje KF, Powderly WG. Serious *Pseudomonas aeruginosa* infections in patients infected with human immunodeficiency virus: a case-control study[J]. *Clin Infect Dis*, 1994, 19(3): 417-422.
- [16] Teixeira LM, Merquior VLC. The family moraxellaceae[M]// Rosenberg E, DeLong EF, Lory S, et al. *The Prokaryotes: Gammaproteobacteria*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2014: 443-476.
- [17] Mancilla-Rojano J, Ochoa SA, Reyes-Grajeda JP, et al. Molecular epidemiology of *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* complex isolated from children at the hospital infantil de México Federico Gómez[J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 576673.
- [18] Nemeš A, Musilek M, Šedo O, et al. *Acinetobacter bereziniae* sp. nov. and *Acinetobacter guillouiae* sp. nov., to accommodate *Acinetobacter* genomic species 10 and 11, respectively[J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2010, 60(Pt 4): 896-903.
- [19] Qing Y, Xie HY, Su C, et al. Gut microbiome, short-chain fatty acids, and mucosa injury in young adults with human immunodeficiency virus infection[J]. *Dig Dis Sci*, 2019, 64(7): 1830-1843.
- [20] Wang YQ, Wang HJ, Howard AG, et al. Associations of sodium and potassium consumption with the gut microbiota and host metabolites in a population-based study in Chinese adults [J]. *Am J Clin Nutr*, 2020, 112(6): 1599-1612.
- [21] Glover JS, Browning BD, Ticer TD, et al. *Acinetobacter calcoaceticus* is well adapted to withstand intestinal stressors and modulate the gut epithelium[J]. *Front Physiol*, 2022, 13: 880024.
- [22] Wang H, Wang Q, Chen JJ, et al. Association among the gut microbiome, the serum metabolomic profile and RNA m6A methylation in sepsis-associated encephalopathy [J]. *Front Genet*, 2022, 13: 859727.
- [23] Kim S, Covington A, Pamer EG. The intestinal microbiota: Antibiotics, colonization resistance, and enteric pathogens[J]. *Immunol Rev*, 2017, 279(1): 90-105.
- [24] Soenen S, Rayner CK, Jones KL, et al. The ageing gastrointestinal tract[J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2016, 19(1): 12-18.
- [25] Man AL, Bertelli E, Rentini S, et al. Age-associated modifications of intestinal permeability and innate immunity in human small intestine[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2015, 129(7): 515-527.
- [26] Yeoh YK, Zuo T, Lui GCY, et al. Gut microbiota composition reflects disease severity and dysfunctional immune responses in patients with COVID-19[J]. *Gut*, 2021, 70(4): 698-706.
- [27] Ney LM, Wipplinger M, Grossmann M, et al. Short chain fatty acids: key regulators of the local and systemic immune response in inflammatory diseases and infections[J]. *Open Biol*, 2023, 13(3): 230014.
- [28] Woodall CA, Hammond A, Cleary D, et al. Oral and gut microbial biomarkers of susceptibility to respiratory tract infec-

- tion in adults; a feasibility study[J]. *Heliyon*, 2023, 9(8): e18610.
- [29] Cani PD, Depommier C, Derrien M, et al. *Akkermansia muciniphila*: paradigm for next-generation beneficial microorganisms[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2022, 19(10): 625 – 637.
- [30] Zhang T, Li QQ, Cheng L, et al. *Akkermansia muciniphila* is a promising probiotic[J]. *Microb Biotechnol*, 2019, 12(6): 1109 – 1125.
- [31] Hirayama M, Nishiwaki H, Hamaguchi T, et al. Intestinal collinsella may mitigate infection and exacerbation of COVID-19 by producing ursodeoxycholate[J]. *PLoS One*, 2021, 16(11): e0260451.
- [32] Lyu BB, Ma JH, Bai YY, et al. Casual effects of gut microbiota on risk of infections; a two-sample Mendelian randomization study[J]. *Front Microbiol*, 2023, 14: 1284723.
- [33] Tojo R, Suárez A, Clemente MG, et al. Intestinal microbiota in health and disease: role of bifidobacteria in gut homeostasis[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(41): 15163 – 15176.
- [34] Siempos II, Ntaidou TK, Falagas ME. Impact of the administration of probiotics on the incidence of ventilator-associated pneumonia: a Meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Crit Care Med*, 2010, 38(3): 954 – 962.
- [35] Khailova L, Petrie B, Baird CH, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Bifidobacterium longum* attenuate lung injury and inflammatory response in experimental sepsis[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e97861.

(本文编辑:翟若南)

本文引用格式: YU Steven, 周昊, 蒋娟, 等. 老年重症肺炎患者的肠道菌群特征研究[J]. 中国感染控制杂志, 2025, 24(3): 361 – 371. DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20256565.

Cite this article as: YU Steven, ZHOU Hao, JIANG Juan, et al. Characteristics of gut microbiota in elderly patients with severe pneumonia[J]. *Chin J Infect Control*, 2025, 24(3): 361 – 371. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20256565.