

## 卫生健康事业发展70年巡礼

### • 肝炎病毒感染及相关肝病专题 •

# 乙型肝炎肝硬化患者肠道菌群失衡度与肝病严重程度的相关性

王艺璇<sup>1</sup>, 张珊<sup>2</sup>, 程丹颖<sup>2</sup>, 刘顺爱<sup>3</sup>, 孙静<sup>2</sup>, 成军<sup>1,2</sup>, 邢卉春<sup>1,2</sup> (1.北京大学地坛医院教学医院 肝病三科, 北京 100015; 2.首都医科大学附属北京地坛医院 肝病三科, 北京 100015; 3.首都医科大学附属北京地坛医院新发突发传染病北京市重点实验室, 北京 100015)

**摘要:** 目的 建立乙型肝炎肝硬化患者肠道菌群失衡度参数, 评价其与乙型肝炎肝硬化严重程度的相关性。方法 收集2017年11月至2019年1月首都医科大学附属北京地坛医院招募的健康志愿者、代偿期乙型肝炎肝硬化与失代偿期乙型肝炎肝硬化患者(各40例)的血液和粪便标本进行检验。根据细菌16S rDNA高通量测序及相关生物信息技术获得目标菌群相对丰度及差异, 选用MetaStat分析有统计学差异的肠球菌属、链球菌属及乳杆菌属作为分子, 参考肠型代表菌属, 选择拟杆菌属、普氏菌属及瘤胃球菌属作为分母, 建立乙型肝炎肝硬化肠道菌群失衡度比值(hepatitis B cirrhosis dysbiosis indicator, HBCDI)。使用Spearman相关性分析HBCDI与MELD评分、INR的相关性, 评价其与肝病严重程度的相关性。结果 以(肠球菌属+链球菌属+乳杆菌属)相对丰度/(瘤胃球菌属+普氏菌属+拟杆菌属)相对丰度为HBCDI, 健康对照组、代偿组和失代偿组HBCDI分别为0.017、0.033及0.357, 差异有统计学意义( $H=3.95$ ,  $P<0.001$ )。HBCDI诊断失代偿期乙型肝炎肝硬化的AUC为0.75, 与MELD评分、INR、TBil的相关系数分别为0.32 ( $P=0.05$ )、0.38 ( $P=0.017$ )和0.19 ( $P=0.048$ )。结论 HBCDI可反映乙型肝炎肝硬化患者肠道菌群失衡程度, HBCDI越大, 肝病越严重。

**关键词:** 菌群失衡; 肝炎, 乙型; 肝硬化, 代偿期; 肝硬化, 失代偿期

### Correlation between hepatitis B cirrhosis dysbiosis indicator and severity of hepatitis B cirrhosis

WANG Yi-xuan<sup>1</sup>, ZHANG Shan<sup>2</sup>, CHENG Dan-ying<sup>2</sup>, LIU Shun-ai<sup>3</sup>, SUN Jing<sup>2</sup>, CHENG Jun<sup>1,2</sup>, XING Hui-chun<sup>1,2</sup> (1.Department of Liver Diseases III, Peking University Ditan Teaching Hospital, Peking University Health Science Center, Beijing 100015, China; 2.Department of Liver Diseases III, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China; 3.Beijing Key Laboratory of Emerging Sudden Infectious Diseases, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China)

**Abstract: Objective** To build the hepatitis B cirrhosis dysbiosis indicator (HBCDI) and assess its correlation with the severity of hepatitis B cirrhosis. **Methods** Blood and fecal samples of healthy controls, patients with compensated cirrhotics, and patients with decompensated cirrhotics (40 cases per group) in Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University from November 2017 to January 2019 were collected. 16S rDNA IonS5TMXL sequencing and other bioinformatics were used to get relative abundance of target genres in order to identify if there was any difference. *Enterococcus*, *Streptococcus* and *Lactobacillus* were selected as numerator which showed significant differences in MetaStat analysis, and *Enterotypes Bacteroides*, *Prevotella*, and *Ruminococcus* were selected as denominator. Spearman analysis was used to analyze the correlation between HBCDI and MELD score, INR, and TBil to evaluate its correlation with the severity of liver cirrhosis. **Results** The computational formula of HBCDI was the ratio of the relative abundance of (*Enterococcus* + *Streptococcus* + *Lactobacillus*) and the relative abundance of (*Ruminococcus* + *Prevotella* +

DOI: DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2019.03.002

基金项目: 北京市医院管理局扬帆计划(No.xmlx201837); “十三五”艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治(No.2018ZX10302206-003-006); 吴阶平医学基金会(No.LDWJPMF-103-17001); 首都卫生发展科研专项(No.2018-2-2173); 北京市管理中心消化内科学科协同发展中心项目(No.XXT26)

通讯作者: 邢卉春 Email: huichunxing@126.com

## • 肝炎病毒感染及相关肝病专题 •

*Bacteroides*). The HBCDI of objects in healthy group, compensated group and decompensated group were 0.017, 0.033 and 0.357, respectively, the difference was statistically significant ( $H = 3.95, P < 0.001$ ). The AUC of HBCDI to diagnose hepatitis B decompensated cirrhosis was 0.75 and its correlation coefficients with MELD score, INR, and total bilirubin were 0.32 ( $P = 0.05$ ), 0.38 ( $P = 0.017$ ) and 0.19 ( $P = 0.048$ ), respectively. **Conclusion** HBCDI is an important index reflecting the gut dysbiosis of hepatitis B cirrhosis. The bigger the HBCDI, the more serious the liver disease.

**Key words:** Dysbiosis; Hepatitis B; Liver cirrhosis, compensated; Liver cirrhosis, decompensated

乙型肝炎失代偿期肝硬化患者易发生各种感染或合并上消化道出血、肝性脑病及自发性腹膜炎等并发症,病情危重,预后不佳<sup>[1,2]</sup>。肝硬化患者因发生门脉高压,肠黏膜通透性增加,结肠菌群及其代谢物、内毒素等可通过肠黏膜屏障及肠壁淋巴系统,导致细菌移位、内毒素血症及自发性腹膜炎等,进一步促进肝硬化进展<sup>[3-5]</sup>。研究表明,乙型肝炎失代偿期肝硬化患者存在肠道菌群失调<sup>[6]</sup>,但如何定量评价其肠道菌群失调的程度是我们所关注的问题。既往有研究提出了微生态模型肝硬化失衡比值(cirrhosis dysbiosis ratio, CDR)<sup>[6]</sup>、肠道失衡指数(gut dysbiosis index, GDI)<sup>[7]</sup>及疾病概率指数(probability of disease, POD)<sup>[8]</sup>等,其中CDR虽然容易计算(仅使用6个菌科),但其研究的主体人群不是乙型肝炎肝硬化患者,尚不清楚其应用于乙型肝炎肝硬化群体效能如何;GDI和POD对于乙型肝炎肝硬化群体具有较高的诊断效能,但应用了较多的操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)(32个与57个),计算过于繁杂,不便于临床应用。在*Nature*发表的两篇大型研究<sup>[9,10]</sup>及韩国的双胞胎研究<sup>[11]</sup>采用来自多个研究的宏基因组大数据,显示人类肠道菌群特征(健康或疾病状态)可用肠型(人类肠道存在稳定的微生物群落模式,当微生物群落组成聚类成集群/组后,即为肠型,是一种非常有效的描述人体肠道微生物总体构成的方法)来表示,主要有3种肠型,即肠型F、肠型P、肠型B,分别以瘤胃球菌属、普氏菌属、拟杆菌属为代表。不同个体的肠道菌群特征有明显的肠型类别,表现为一种肠型为主或多种肠型重叠。这3种肠型的菌属相对丰度可有效描述该样本优势菌属的占比,并阐述该样本肠道微生物组群落的总体构成,而在现有的微生态模型中尚无根据肠型来构建的模型,因此,本研究拟基于菌属层面,根据肠型信息,建立新的评价乙型肝炎肝硬化患者肠道菌群失衡度的参数(hepatitis B

cirrhosis dysbiosis indicator, HBCDI),分析其与乙型肝炎肝硬化疾病严重程度的相关性,希望找到一个简单、有效的评估乙型肝炎肝硬化肠道微生态失衡程度的指标,为准确评价患者肠道菌群失衡状态及肝病的严重程度、指导患者的临床诊疗及针对性调整肠道菌群提供有用的工具。

## 1 资料与方法

1.1 研究对象 以2017年11月至2019年1月首都医科大学附属北京地坛医院收治的40例乙型肝炎肝硬化代偿期患者(代偿组)及40例乙型肝炎肝硬化失代偿期患者(失代偿组)为研究对象,另选取40例健康志愿者为健康对照组。入选标准:①代偿组 年龄18~65岁,既往有乙型肝炎病史,影像学提示有肝硬化或肝脏硬度值大于12 kPa, Child-Pugh评分<7分,且没有发生过腹水、消化道出血等并发症;②失代偿组:年龄18~65岁,既往有乙型肝炎病史,影像学提示有肝硬化或肝脏硬度值大于12 kPa;存在腹水或Child-Pugh评分≥7分;未合并其他感染或发生肝性脑病及自发性细菌性腹膜炎;③健康对照组 年龄18~65周岁,体格检查、血尿常规、肝功能、肾功能、乙型肝炎病毒血清学标志物、丙型肝炎病毒抗体、自身免疫性肝炎抗体及腹部超声检查结果均在正常范围内。代偿组和失代偿组排除标准:所有患者均排除酒精性肝病、自身免疫性肝病、脂肪性肝病、其他病毒性肝病等肝脏疾病;排除高血压、糖尿病、肥胖、代谢综合征及各种胃肠道疾病患者;排除入组前2周内系统使用过抗生素、微生态制剂及质子泵抑制剂患者;排除孕期及哺乳期妇女。本研究经首都医科大学附属北京地坛医院医学伦理委员会审批通过[京伦地字2017(063)号],患者均签署知情同意书。

## 1.2 研究方法

1.2.1 粪便菌群测序 受试对象的粪便标本即刻采集,冰盒运输,1 h内冻存于-80 °C冰箱

## 卫生健康事业发展70年巡礼

### • 肝炎病毒感染及相关肝病专题 •

备用。采用QIAamp DNA Stool Mini kit (德国Qiagen公司)提取样本粪菌DNA,用引物341F: 5'-CCTAYGGGRBGCASCAG-3', 806R: 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'及Phusion High-Fidelity PCR Master Mix体系(美国ThermoFisher公司)进行PCR扩增,冷链送至北京诺禾致源科技股份有限公司,采用Ion Plus Fragment Library Kit 48 rxns(美国Thermo Fisher公司)建库,于Ion S5TMXL进行16S rDNA V3~V4区高通量测序获得菌群特征信息。

1.2.2 菌属生物学分析 采用NOVOMAGIC平台分析高通量测序数据,对所有原始测序数据聚类,以97%的一致性将序列聚类成OTUs,与16S rDNA数据库进行比对,设置可信区间为0.8。使用MetaStat软件分别对菌属丰度数据进行非参数检验得到P值,以 $P < 0.05$ 为具有统计学差异。菌属相对丰度为单样本中某种菌属占该样本测序全部序列的百分比,用来代表菌属占总菌含量比值,某种菌属相对丰度变化可能会协同或抑制其他菌属增殖。采用Spearman检验进行菌属相对丰度与临床指标及菌属间的相关性分析。

1.2.3 HBCDI、CDR的计算  $HBCDI = (\text{肠球菌属} + \text{链球菌属} + \text{乳杆菌属}) \text{相对丰度} / (\text{瘤胃球菌属} + \text{普氏菌属} + \text{拟杆菌属}) \text{相对丰度}$ 。其中肠球菌属、链球菌属、乳杆菌属选自MetaStat分析中代偿组与失代偿组存在显著差异的高丰度菌属。瘤胃球菌属、普氏菌属、拟杆菌属为3种典型肠型代表菌属(是该样本微生物群落构成的主体)。 $CDR = (\text{毛螺菌科} + \text{瘤胃菌科} + \text{韦荣氏菌科} + \text{梭菌科XIV}) \text{相对丰度} / (\text{拟杆菌科} + \text{肠杆菌科}) \text{相对丰度}$ <sup>[6]</sup>,即特定有益原籍菌科相对丰度与非原籍有害菌科比值。分析HBCDI或CDR分别评估乙型肝炎肝硬化患者肠道失衡状态的价值。

1.2.4 临床指标的检测与分析 受试者血液标本在首都医科大学附属北京地坛医院检验科检测,包括血常规、肝功能[丙氨酸氨基转移酶(alanine transaminase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate transaminase, AST)、白蛋白(albumin, ALB)、总胆红素(total bilirubin, TBil)]、肌酐(creatinine, Cr)、乙型肝炎病毒血清学标志物及丙型肝炎病毒抗体等。腹部超声及肝脏弹性值测定在

首都医科大学附属北京地坛医院超声科完成。

1.3 统计学处理 使用SPSS 22.0软件进行统计分析,患者年龄和Cr为正态分布的计量资料,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,组内两两比较采用LSD-t检验;INR为非正态分布计量资料,以 $M(p25, p75)$ 表示,组间比较采用Mann-Whitney检验。ALT、AST、ALB、TBil及AFP为非正态分布计量资料,以 $M(p25, p75)$ 表示,采用Kruskal Wallis检验,组内比较采用All pairwise法。患者性别分布以例数和百分数表示,采用 $\chi^2$ 检验。HBCDI及CDR评价不同肝病状态下微生态失衡的效能采用受试者工作曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)分析,计算曲线下面积(area under the curve, AUC)、特异度、敏感度、阳性预测值及阴性预测值。采用Spearman检验分析HBCDI与终末期肝病模型(model for end stage liver disease, MELD)评分、INR与TBil的相关性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 一般资料 与健康组相比,代偿组和失代偿组患者ALT、AST显著升高,ALB显著降低(均 $P < 0.05$ ),与健康组和代偿组相比,失代偿组患者TBil、INR显著升高(均 $P < 0.05$ )。3组间Cr水平差异无统计学意义( $F = 1.9, P = 0.15$ )。健康组年龄显著低于代偿组及失代偿组( $t = -11.7、-15.0$ ,均 $P < 0.001$ ),代偿组与失代偿组间年龄无统计学差异( $t = -3.3, P = 0.083$ )。与健康组相比,代偿组AFP显著升高,但仍在正常范围内,见表1。

2.2 各组菌属相对丰度变化及相关性分析 与代偿组相比,失代偿组肠球菌属、链球菌属和乳杆菌属相对丰度显著升高(均 $P < 0.05$ ),见表2。将菌属与临床指标进行相关性分析,发现肠球菌属和乳杆菌属相对丰度与TBil呈显著正相关,链球菌属和乳杆菌属相对丰度与ALB呈显著负相关,拟杆菌属相对丰度与PLT呈显著正相关,普氏菌属相对丰度与AST、PTA呈显著正相关,瘤胃球菌属相对丰度与ALB呈显著正相关、与MELD评分呈显著负相关(均 $P < 0.05$ ),见表3、图1。将菌属间进行相关性分析,发现乳杆菌属与链球菌属相对丰度呈显著正相关( $r = 0.22, P = 0.019$ );拟杆菌属与肠球菌属相对丰度呈显著负相关( $r = -0.21, P = 0.025$ )。

• 肝炎病毒感染及相关肝病专题 •

2.3 乙型肝炎肝硬化患者肠道菌群失衡度与肝病严重程度的相关性 健康组、代偿组、失代偿组 HBCDI 分别为 0.017、0.033、0.357，差异有统计学意义 ( $H = 17.63, P < 0.001$ )，失代偿组与健康组、代偿组差异有统计学意义 (统计量值为 -20.73,  $P = 0.023$ ；统计量值为 -32.23,  $P < 0.001$ )。健康组、代偿组、失代偿组 CDR 分别为 2.43、1.86、1.70，差异无统计学意义 ( $H = 3.95, P = 0.139$ )。分别采用 ROC 并计算 AUC。HBCDI 的 AUC 为 0.75 ( $P < 0.001, 95\% CI: 0.642 \sim 0.857$ )，敏感性为 0.8，特异度为 0.625，阳性预测值 0.68、阴性预测值 0.76；CDR 的 AUC 为 0.57 ( $P = 0.312, 95\% CI: 0.439 \sim 0.693$ )，敏感性为 0.65，特异度为

0.55，阳性预测值 0.59、阴性预测值 0.61，见图 2。HBCDI 与 MELD 评分、INR 及 TBil 显著相关 ( $r = 0.32, P = 0.050$ ； $r = 0.38, P < 0.001$ ； $r = 0.19, P = 0.048$ )。CDR 与 MELD 评分、INR 及 TBil 均无显著相关性 ( $r$  值分别为 0.126、0.125、0.047,  $P$  值分别为 0.44、0.27、0.61)。

3 讨论

失代偿期肝硬化患者存在肠道菌群失调，定量评价肠道菌群失衡程度有助于分析菌群失衡与肝病的相关性，并为肝病微生态治疗措施的制定提供依据。既往研究中，Bajaj 等<sup>[6]</sup>提出的 CDR 在其研究的健康组、代偿组、肝硬化组中分别为 2.04、0.89、0.66 (CDR 越低，患者肠道菌群失衡程度越重)，而

表 1 健康组、代偿组及失代偿组基线特征

组别	例数	年龄 ( $\bar{x} \pm s$ , 岁)	性别 (男/女, 例)	ALT [M (p25, p75), U/L]	AST [M (p25, p75), U/L]	ALB [M (p25, p75), g/L]
健康对照组	40	31.8 ± 5.7	15/25	12.7 (10.7, 25.2)	18.9 (15.8, 21.2)	47.3 (44.8, 49.4)
代偿组	40	43.3 ± 10	22/18	24.7 (18.1, 45.1)	26.8 (18.9, 40.1)	44.6 (42.8, 47.4)
失代偿组	40	42.7 ± 8.9	22/18	23.9 (17.9, 36.8)	31.7 (27.9, 47.1)	37.3 (31.3, 40.9)
统计量值	-	$F = 34.3$	$\chi^2 = 3.2$	$H = 18.2$	$H = 30.9$	$H = 54.9$
P 值	-	< 0.001	0.198	< 0.001	< 0.001	< 0.001

组别	TBil [M (p25, p75), $\mu\text{mol/L}$ ]	Cr ( $\bar{x} \pm s$ , $\mu\text{mol/L}$ )	AFP [M (p25, p75), ng/ml]	INR [M (p25, p75)]	MELD 评分 ( $\bar{x} \pm s$ , 分)	饮食
健康对照组	11.5 (9.1, 14.7)	61.1 ± 13.9	2.2 (1.5, 2.9)	-	-	混合
代偿组	12.8 (9.8, 15.5)	67.1 ± 13.1	4.2 (2.1, 6.6)	1.07 (1.13, 1.14)	-	混合
失代偿组	21.7 (13.9, 31.4)	66.2 ± 16.7	3.5 (1.9, 5.0)	1.22 (1.15, 1.39)	8 ± 4	混合
统计量值	$H = 26.4$	$F = 1.9$	$H = 12.9$	$z = -5.1$	-	-
P 值	< 0.001	0.150	0.002	< 0.001	-	-

注：代偿组与健康对照组相比，年龄  $t = -11.7, P < 0.001$ ；ALT 统计值 = -26.9,  $P < 0.001$ ；AST 统计值 = -33.2,  $P < 0.001$ ；ALB 统计值 = 19.7,  $P = 0.012$ ；TBil 统计值 = -6.7,  $P = 0.39$ ；AFP 统计值 = -24.2,  $P = 0.001$

失代偿组与健康对照组相比，年龄  $t = -15.0, P < 0.001$ ；ALT 统计值 = -30.2,  $P = 0.002$ ；AST 统计值 = -40.7,  $P < 0.001$ ；ALB 统计值 = 56.8,  $P < 0.001$ ；TBil 统计值 = -37.5,  $P < 0.001$ ；AFP 统计值 = -14.1,  $P = 0.064$

失代偿组与代偿组相比，年龄  $t = -3.3, P = 0.083$ ；ALT 统计值 = 3.3,  $P = 0.66$ ；AST 统计值 = -7.4,  $P = 0.34$ ；ALB 统计值 = 37.1,  $P < 0.001$ ；TBil 统计值 = -30.8,  $P < 0.001$ ；AFP 统计值 = 10.1,  $P = 0.191$

表 2 健康组、代偿组、失代偿组菌属平均相对丰度变化 ( $\times 10^5$ )

菌属	健康组 ( $n = 40$ )	代偿组 ( $n = 40$ )	失代偿组 ( $n = 40$ )	$P$ 值	$P_1$ 值	$P_2$ 值	$P_3$ 值
肠球菌属	20	10	380	0.001	0.857	0.272	0.017
链球菌属	330	430	2240	0.009	0.115	0.134	0.002
乳杆菌属	50	110	1200	0.001	0.948	0.001	0.001
拟杆菌属	27900	33000	29000	0.520	0.326	0.870	0.326
普氏菌属	150	700	660	0.001	< 0.001	0.094	0.096
瘤胃球菌属	760	500	1100	0.380	0.229	0.862	0.240
毛螺菌属	3300	2000	1300	0.011	0.510	0.008	0.320

注： $P_1$  为健康组与代偿组相比， $P_2$  为健康组和失代偿组相比， $P_3$  为代偿组和失代偿组相比

卫生健康事业发展70年巡礼

• 肝炎病毒感染及相关肝病专题 •

表 3 不同菌属与临床指标的相关性 [r 值 (P 值)]

菌属	ALT	AST	ALB	Tbil	Dbil	PLT	PTA	INR	Cr	MELD
瘤胃球菌属	-0.05 (0.584)	-0.114 (0.213)	0.300 (0.007)	0.044 (0.636)	0.061 (0.509)	0.035 (0.757)	-0.214 (0.184)	-0.122 (0.455)	-0.141 (0.387)	-0.340 (0.030)
普氏菌属	0.069 (0.452)	0.206 (0.024)	-0.087 (0.346)	0.102 (0.269)	0.104 (0.260)	0.125 (0.269)	0.24 (0.030)	0.113 (0.487)	-0.002 (0.993)	0.236 (0.142)
拟杆菌属	-0.057 (0.537)	-0.073 (0.430)	0.036 (0.697)	-0.152 (0.097)	-0.172 (0.060)	0.230 (0.040)	-0.157 (0.333)	-0.279 (0.081)	-0.077 (0.638)	-0.226 (0.161)
乳杆菌属	-0.086 (0.349)	0.024 (0.799)	-0.264 (0.004)	0.180 (0.049)	0.198 (0.030)	-0.281 (0.011)	0.333 (0.036)	0.259 (0.107)	-0.037 (0.818)	0.058 (0.723)
链球菌属	0.012 (0.895)	0.045 (0.624)	-0.250 (0.028)	-0.042 (0.646)	-0.034 (0.715)	-0.177 (0.116)	0.073 (0.656)	0.094 (0.564)	-0.022 (0.895)	0.061 (0.707)
肠球菌属	0.017 (0.851)	0.098 (0.287)	-0.157 (0.088)	0.193 (0.035)	0.216 (0.018)	-0.383 ( $<0.001$ )	0.193 (0.233)	0.248 (0.122)	0.046 (0.778)	0.239 (0.138)

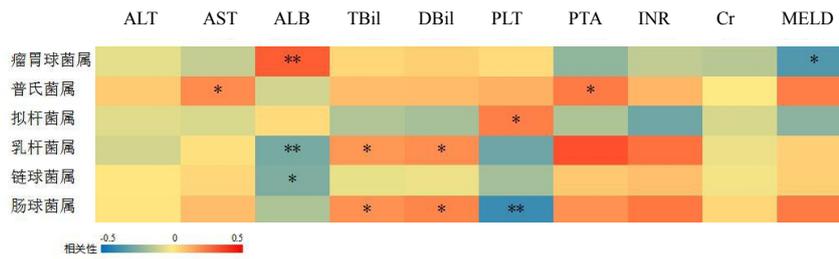


图 1 菌属与临床指标相关性热图

注: \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$

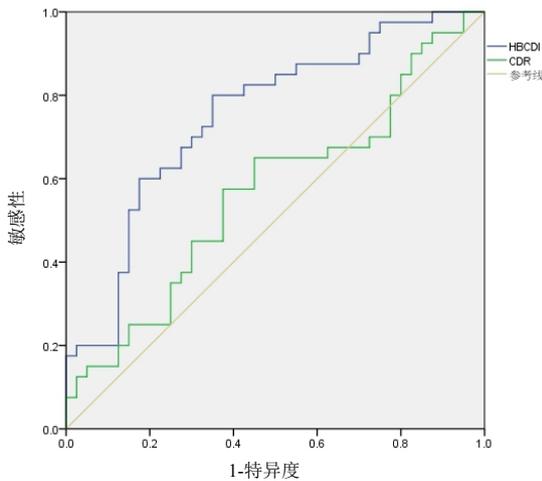


图 2 HBCDI 及 CDR 诊断乙型肝炎失代偿期肝硬化的 ROC 曲线

本研究中健康组、代偿组、失代偿组的CDR分别为2.43、1.86及1.70，各组间无统计学差异，提示CDR在本研究的人群中评价肠道菌群失衡的效能不佳。进一步分析发现，在Bajaj研究中，主体人群为混杂病因引起的肝硬化（包括多种病因如酒精性肝病、丙型

肝炎肝硬化），乙型肝炎肝硬化患者并非其主体人群，且未排除并发症的可能。已有研究证实不同病因如酒精、病毒感染或并发症如肝性脑病、使用抗生素等均会对肠道菌群产生重大影响<sup>[12-15]</sup>。本研究参考相关文献数据<sup>[9-11]</sup>，根据肠型信息选出6个菌属（肠球菌属、链球菌属、乳杆菌属、瘤胃球菌属、普氏菌属、拟杆菌属），分别分析了这6个菌属与肝功能等临床指标的相关性。在构建HBCDI时，分子选用MetaStat分析中差异有统计学意义的有害菌属，包括肠球菌属、链球菌属及虽为有益菌属但与链球菌属显著正相关的乳杆菌属；分母选用了3种主要肠型特征的最优菌属——瘤胃球菌属、普氏菌属和拟杆菌属，代表人群肠道微生物群落的主体构成。该参数反映的是个体肠道菌群与人群主体菌群的偏离度，数值越大，菌群失调程度越重。本研究显示，HBCDI在乙型肝炎肝硬化代偿期与失代偿期患者间存在显著差异（AUC为0.75），且随病情加重，HBCDI升高，进一步分析发现HBCDI与MELD评分、INR、TBil呈显著正相关，可在一定程度上反映肝病的严重程度。HBCDI与肝硬化严重程度明显相

**• 肝炎病毒感染及相关肝病专题 •**

关, 不仅可反映乙型肝炎肝硬化代偿期及失代偿期患者的肠道菌群特征, 也可在一定程度上反映肝病的严重程度, 且HBCDI越大, 乙型肝炎肝硬化患者肠道菌群失衡越严重, 也预示着肝硬化病情进展。HBCDI评价乙型肝炎肝硬化群体的效能优于CDR。值得注意的是本研究发现作为公认有益菌的乳杆菌属<sup>[16-19]</sup>在肝硬化患者中丰度显著增加, 与链球菌属丰度变化呈正相关。在文献报道<sup>[20-24]</sup>的其他各种类型的肝硬化群体的研究中也发现类似现象, 可见乳酸杆菌属丰度增加是与疾病进展相伴随的。在肝硬化进展中乳酸杆菌属是作为一种代偿性机制参与疾病的过程还是另有其他效应还有待进一步研究。本研究中健康组年龄虽显著低于代偿组及失代偿组, 依据Bian等<sup>[25]</sup>研究结果, 30~100岁健康人群肠道菌群结构相似、差异很小, 故本研究认为年龄作为次要因素, 对实验结果影响较小。

本研究所建立的HBCDI简单易行, 可评估乙型肝炎肝硬化患者肠道菌群失衡状态, 评估肝硬化进展风险, 有助于更好地理解乙型肝炎肝硬化进展中的肠肝互动, 评价乙型肝炎肝硬化患者肠道菌群失衡风险, 为后续探索乙型肝炎肝硬化肠道微生态治疗的时机、合理合度使用微生态制剂提供依据。

**参考文献**

- [1] 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015年版)[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2015, 7(3): 1-18.
- [2] Bajaj JS, O'Leary JG, Tandon P, et al. Nosocomial infections are frequent and negatively impact outcomes in hospitalized patients with cirrhosis[J]. *Am J Gastroenterol*, 2019, 114(7): 1091-1100.
- [3] Baffy G. Potential mechanisms linking gut microbiota and portal hypertension[J]. *Liver International*, 2019, 39(4): 598-609.
- [4] Shah A, Shanahan E, Macdonald G, et al. Systematic review and meta-analysis: prevalence of small intestinal bacterial overgrowth in chronic liver disease[J]. *Semin Liver Dis*, 2017, 37(4): 388-400.
- [5] Macnaughtan J, Jalan R. Clinical and pathophysiological consequences of alterations in the microbiome in cirrhosis[J]. *Am J Gastroenterol*, 2015, 110(10): 1399-1410.
- [6] Bajaj JS, Heuman DM, Hylemon PB, et al. Altered profile of human gut microbiome is associated with cirrhosis and its complications[J]. *J Hepatol*, 2014, 60(5): 940-947.
- [7] Jing W, Yang W, Xu Z, et al. Gut microbial dysbiosis is associated with altered hepatic functions and serum metabolites in chronic hepatitis B patients[J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 2222.
- [8] Ren Z, Li A, Jiang J, et al. Gut microbiome analysis as a tool towards targeted non-invasive biomarkers for early hepatocellular carcinoma[J]. *Gut*, 2019, 68(6): 1014-1023.
- [9] Costea PI, Hildebrand F, Arumugam M, et al. Enterotypes in the landscape of gut microbial community composition[J]. *Nat Microbiol*, 2018, 3(1): 8-16.
- [10] Arumugam M, Raes J, Palletoer E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome[J]. *Nature*, 2011, 473(7346): 174-180.
- [11] Lim MY, Rho M, Song YM, et al. Stability of gut enterotypes in Korean monozygotic twins and their association with biomarkers and diet[J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 7348.
- [12] Bajaj JS, Acharya C, Fagan A, et al. Proton pump inhibitor initiation and withdrawal affects gut microbiota and readmission risk in cirrhosis[J]. *Am J Gastroenterology*, 2018, 113(8): 1177-1186.
- [13] Bajaj JS, Kakiyama G, Savidge T, et al. Antibiotic-associated disruption of microbiota composition and function in cirrhosis is restored by fecal transplant[J]. *Hepatology*, 2018, 68(4): 1549-1558.
- [14] Oikonomou T, Papatheodoridis GV, Samarkos M, et al. Clinical impact of microbiome in patients with decompensated cirrhosis[J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(34): 3813-3820.
- [15] Sung MC, Chen KF, Lin YF, et al. Predicting clinical outcomes of cirrhosis patients with hepatic encephalopathy from the fecal microbiome[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2019, 8(2): 301-318.e2.
- [16] Liévin-Le Moal V, Servin AL. Anti-infective activities of lactobacillus strains in the human intestinal microbiota: from probiotics to gastrointestinal anti-infectious biotherapeutic agents[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2014, 27(2): 167-199.
- [17] Tian X, Yu Z, Feng P, et al. Lactobacillus plantarum TW1-1 alleviates diethylhexylphthalate-induced testicular damage in mice by modulating gut microbiota and decreasing inflammation[J]. *Brain Behav Immun*, 2019, 9: 221.
- [18] Nie Y, Hu J, Hou Q, et al. Lactobacillus frumenti improves antioxidant capacity via nitric oxide synthase 1 in intestinal epithelial cells[J]. *FASEB J*, 2019, doi:10.1096/fj.201900253 RR.
- [19] Perruzza L, Strati F, Gargari G, et al. Enrichment of intestinal lactobacillus by enhanced secretory IgA coating alters glucose homeostasis in P2rx7<sup>-/-</sup> mice[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 9315.
- [20] Qin N, Yang F, Li A, et al. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis[J]. *Nature*, 2014, 513(7516): 59-64.
- [21] Heidrich B, Vital M, Plumeier I, et al. Intestinal microbiota in patients with chronic hepatitis C with and without cirrhosis compared with healthy controls[J]. *Liver Int*, 2018, 38(1): 50-58.
- [22] Tuomisto S, Pessi T, Collin P, et al. Changes in gut bacterial populations and their translocation into liver and ascites in alcoholic liver cirrhosis[J]. *BMC Gastroenterology*, 2014, 14(1): 40-48.
- [23] Chen Y, Ji F, Guo J, et al. Dysbiosis of small intestinal microbiota in liver cirrhosis and its association with etiology[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 34055.
- [24] Da Silva HE, Teterina A, Comelli EM, et al. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with dysbiosis independent of body mass index and insulin resistance[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 1466.
- [25] Bian G, Gloor GB, Gong A, et al. The gut microbiota of healthy aged chinese is similar to that of the healthy young[J]. *mSphere*, 2017, 2(5): 327-339.

收稿日期: 2019-07-30

王艺璇, 张珊, 程丹颖, 等. 乙型肝炎肝硬化患者肠道菌群失衡度与肝病严重程度的相关性[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2019, 11(3): 8-13.