

DOI:10.13350/j.cjpb.230505

• 论著 •

# 儿童诺如病毒急性胃肠炎肠道菌群特征分析\*

林璧慧<sup>1,2</sup>, 戴迎春<sup>3</sup>, 朱翠娟<sup>2</sup>, 苏芷晴<sup>1</sup>, 张绪富<sup>1,2,\*</sup>

(1. 南方医科大学中医药学院, 广东广州 510515; 2. 南方医科大学第五附属医院; 3. 南方医科大学公共卫生学院流行病学系)

**【摘要】** 目的 分析比较诺如病毒急性胃肠炎患儿与健康儿童肠道菌群的物种分布和功能变化差异, 初步揭示肠道菌群在诺如病毒感染中的作用。方法 收集 2021 年 10 月至 2022 年 5 月在南方医科大学第五附属医院就诊的 10 例诺如病毒急性胃肠炎患儿粪便标本(诺如病毒急性胃肠炎组, NoV 组), 以 6 例健康儿童粪便标本为对照(健康对照组, HC 组), 通过宏基因组测序分析比较两组受试者肠道菌群物种的结构、丰度及功能差异, 展示与诺如病毒感染相关的的菌群物种及功能。结果 NoV 组肠道菌群在门水平上广古菌门丰度增高, 在菌纲水平上红螺杆菌纲丰度增高, 在属水平上梭状芽孢杆菌属丰度降低, 在种水平上单形拟杆菌丰度增高, 差异均具有统计学意义( $LDA\ Score > 2, P < 0.05$ )。与 HC 组比较, NoV 组大量与微生物代谢相关的的功能基因发生了显著改变, 包括 K25026、K12132、K00560、K07029、K01537 基因表达上调, 而 K03406、K02406、K03563 基因表达下调。NoV 组 6 种代谢通路丰度显著增高, 8 种代谢通路丰度显著降低( $LDA\ Score > 2, P < 0.05$ )。以上代谢通路的差异与相关功能基因的变化一致。结论 诺如病毒急性胃肠炎患儿, 肠道菌群在物种、功能的结构和丰度等与健康儿童相比均存在一定差异, 提示肠道菌群中特定差异的细菌种类及其功能基因在诺如病毒感染机制中可能起重要作用。

**【关键词】** 诺如病毒; 肠道菌群; 宏基因组测序; 儿童

**【中图分类号】** R373.2

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1673-5234(2023)05-0519-06

[*Journal of Pathogen Biology*. 2023 May;18(5):519-524.]

## Analysis on characteristics of gut microbiota of children with Norovirus acute gastroenteritis

LIN Bihui<sup>1,2</sup>, DAI Yingchun<sup>3</sup>, ZHU Cuijuan<sup>2</sup>, SU Zhiqing<sup>1</sup>, ZHANG Xufu<sup>1,2</sup> (1. School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 2. The Fifth Afiliated Hospital, Southern Medical University; 3. Department of Epidemiology, School of Public Health, Southern Medical University)\*\*\*

**【Abstract】** **Objective** To analyze and compare the differences in the species distribution and functional changes of gut microbiota between children with Norovirus acute gastroenteritis and healthy children, and preliminarily reveal the role of intestinal flora in Norovirus infection. **Methods** The stool samples of 10 children with Norovirus acute gastroenteritis (Norovirus acute gastroenteritis group, NoV group) who were hospitalized in our hospital from October 2021 to May 2022 were collected, and the stool samples of 6 healthy children were used as controls (Healthy control group, HC group). Metagenomic sequencing and analysis of gut microbiota were carried out to compare the differences in the distribution characteristics and relative abundance of species and functions between two groups, and display the species and functions of gut microbiota related to Norovirus infection. **Results** In the NoV group, the abundance of Euryarchaeota increased at the phylum level, the abundance of Coriobacteriia increased at the class level, the abundance of Clostridium decreased at the genus level, and the abundance of Bacteroides uniformis increased at the species level. The differences were statistically significant ( $LDA\ Score > 2, P < 0.05$ ). Compared with the HC group, a large number of functional genes related to microbial metabolism in the NoV group have undergone significant changes, including upregulation of the expression of K25026, K12132, K00560, K07029, and K01537 genes, while downregulation of the expression of K03406, K02406, and K03563 genes. In NoV group, the abundance of six metabolic pathways, including Glycolysis and Gluconeogenesis, increased significantly. And the abundance of eight metabolic pathways decreased significantly, such as Two Component System ( $LDA\ Score > 2, P < 0.05$ ). The above differences in metabolic pathways are consistent with changes in related functional genes. **Conclusion** In children with Norovirus acute gastroenteritis, there are certain differences in the distribution characteristics and relative abundance of gut microbiota compared to healthy children in terms of species and function, suggesting that specific bacterial species and functional genes in the gut microbiota may play

\* **【基金项目】** 国家自然科学基金项目(No. 81773975)。

\*\* **【通讯作者】** 张绪富, E-mail: xzfzhang2002@126.com

**【作者简介】** 林璧慧(1995-), 女, 广东吴川人, 硕士研究生。主要从事病毒性胃肠炎的相关基础和中医药防治研究工作。  
E-mail: 286689728@qq.com

an important role in the mechanism of Norovirus infection.

**【Key words】** Norovirus; gut microbiota; metagenomic sequencing; children

诺如病毒(Norovirus, NoV)是全球范围内引起流行性、自限性急性非细菌性胃肠炎的主要病原体之一,感染病例占全世界急性胃肠炎病例总数的18%<sup>[1-2]</sup>,其引起的感染性腹泻被喻为“肠道流感”。我国是NoV流行的主要国家之一,每年均有NoV引起的流行病学事件,造成了严重的疾病和社会经济负担<sup>[3]</sup>。由于缺乏成熟的细胞培养体系和动物感染模型,目前NoV的感染机制尚未充分阐明,亦无特异有效的治疗药物和疫苗<sup>[4]</sup>。

肠道菌群在人体消化道内大量定植,其编码的基因数量巨大<sup>[5]</sup>,肠道微环境稳态对人类抵抗肠道病原菌引起的感染性疾病极其重要。儿童时期因肠道免疫功能不健全,且其肠道定植抗力相对不稳定,易受到各种因素影响,导致肠道微生态失衡。研究表明,大多数儿童感染性腹泻与肠道菌群紊乱密切相关<sup>[6-7]</sup>。目前关于肠道菌群在NoV感染中的作用及机制尚存在争论:有研究表明肠道菌群能促进NoV感染<sup>[8-10]</sup>,部分肠道共生菌如阴沟肠杆菌分泌表达的组织血型抗原(Histo-blood group antigens, HBGAs)可促进NoV的结合,在体外实验中能促进NoV对宿主B细胞的感染<sup>[8]</sup>。但亦有研究表明阴沟肠杆菌对悉生猪的NoV感染具有抑制作用<sup>[11]</sup>,益生菌在一定程度上能间接抑制NoV感染<sup>[12-13]</sup>。本研究以NoV急性胃肠炎儿童为对象,以健康儿童为正常对照,应用宏基因组测序技术分析比较NoV感染患儿肠道菌群的分布和变化特征,探索肠道菌群在NoV感染中的作用,为NoV的感染机制研究提供新的思路和线索。

## 材料与方法

### 1 研究对象

2021年10月至2022年5月南方医科大学第五附属医院收治的NoV急性胃肠炎患儿10例(NoV组),作为研究对象,另以6例健康儿童(HC组)作为健康对照。本研究经南方医科大学第五附属医院伦理委员会审批通过,所有纳入本研究者均签署知情同意书。

NoV急性胃肠炎诊断标准参照诺如病毒感染暴发调查和预防控制技术指南(2015版)<sup>[14]</sup>。入组标准:①年龄为1~14岁;②24 h内出现排便 $\geq 3$ 次且有性状改变(呈稀水样便),和/或24 h内出现呕吐 $\geq 2$ 次者,伴或不伴发热、腹痛、脱水等症状,或临床诊断为诺如病毒感染性腹泻;③除符合临床诊断病例条件之外,粪便标本经诺如病毒核酸检测阳性;④入组前48 h内

未接受抗生素治疗;⑤无胃肠道其他合并疾病;⑥无严重肝、肾功能不全等合并疾病;⑦患儿以及家属的临床依从性良好。入组健康儿童身体状况良好,无特殊疾病,性别、年龄与NoV组相匹配。

### 2 方法

**2.1 粪便标本采集** NoV组患儿及HC组儿童在入组当天使用一次性无菌采样杯留取粪便标本, -80 °C冰箱留存待测。

**2.2 粪便标本二代宏基因组测序及分析** 使用FINDROP粪便DNA小量提取试剂盒(DZ309-02(50T)),按照试剂盒说明书提取微生物总DNA,对提取出的DNA样品进行质量检测,其总量及纯度等须符合要求。

检测合格的DNA样品加入fragmentation buffer,采用超声破碎仪进行随机打断,得到短片段DNA,构建文库并进行文库质检,对于质检合格的文库采用Illumina HiSeq 2500高通量测序平台进行PE150测序,测序得到的原始图像数据文件经碱基识别分析转化为原始测序序列(Raw Reads)。获得样品宏基因组测序原始数据后,采用软件Trimmomatic对数据进行质量控制<sup>[15]</sup>,用MEGAHIT对质控后的高质量序列Clean Reads进行de novo拼接及混合组装<sup>[16]</sup>,筛选拼接长度在500 bp以上的序列片段Scaffigs。

采用Prodigal<sup>[17]</sup>预测开放阅读框(ORF),将各样品和混合组装的ORFs预测结果采用Mmseqs<sup>[18]</sup>软件进行基因聚类及去冗余,得到非冗余基因集。将非冗余基因集的Unigenes序列与NCBI-NR数据库比对进行物种注释,获得Unigenes的物种注释信息,并结合基因丰度表,获得各个分类层级的物种组成和丰度信息<sup>[19]</sup>。同时,利用预测出的基因蛋白序列与KEGG数据库比对获得功能注释信息<sup>[20-22]</sup>。基于物种和功能丰度信息进行组间的物种/功能组成及差异分析、样本比较分析等,展示组间具有显著差异的物种/功能。

**2.3 统计学处理** 采用SPSS 26.0、GraphPad Prism 9.4、R studio软件进行统计学分析。正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 $t$ 检验、方差分析或LEFSe差异判别分析;计数资料的两组间比较采用Fisher确切概率法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结果

### 1 一般情况

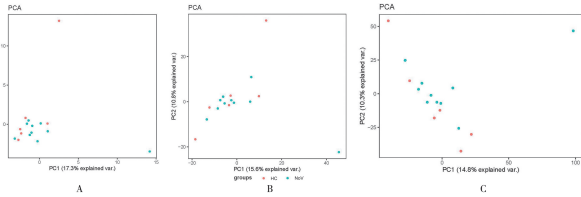
NoV组男性5例,女性5例,平均年龄(3.80 ±

2.35)岁。HC组男性3例,女性3例,平均年龄(5.00±3.90)岁。两组性别及年龄差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。

## 2 两组儿童肠道菌群的物种分析比较

两组16例受试者的粪便标本共鉴定出1417种菌属和6453个物种,其中共有菌属1196个,共有物种5460个。基于NCBI-NR数据库的物种注释,分别在门、纲、目、科、属、种的不同分类学水平上统计物种的相对丰度。

**2.1 肠道菌群的物种多样性** 对肠道微生物物种进行PCA(Principal Component Analysis)主成分分析,研究对象在图中横纵轴上的距离越近,表示其组成结构越相似。由图1可见,两组的菌群结构有所不同,在门、属、种3个分类水平上,HC组菌群分布较分散,而NoV组菌群分布较集中,两组在主成分1(PC1)和主成分(PC2)方向上有所不同,但并未完全分开,表明两组菌群的组成结构具有一定的相似性。



注:A、B、C图分别为基于门、属、种水平的两组研究对象肠道菌群的PCA分析图。散点颜色代表不同分组(蓝色代表NoV组,红色代表HC组),每个点代表一个样本,点与点的空间距离表示物种组成结构的差异程度。主成分1(PC1)和主成分(PC2)是造成样品间差异的第一和第二大特征值,百分比表示两个主成分对样品差异的方差贡献率。

图1 NoV组及HC组儿童肠道菌群的PCA主成分分析

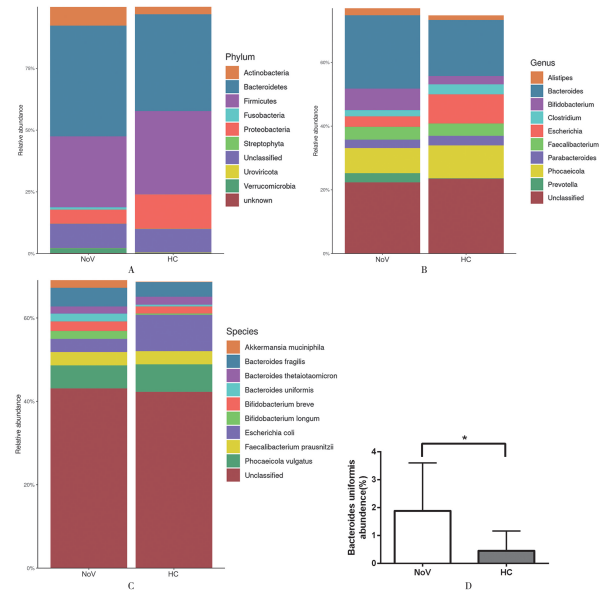
Notes: A, B and C figures are PCA plots at the phylum, genus and species level of two groups. The points represent 10 NoV children (blue) and 6 healthy controls (red). The spatial distance between points indicates the degree of difference in species composition structure. Principal component 1 (PC1) and principal component (PC2) are the first and second largest eigenvalues that cause the difference between samples, and the percentage represents the variance contribution rate of the two principal components to the difference between samples.

Fig. 1 PCA plots of gut microbiome of NoV group and HC group children

为了比较组间在物种多样性方面的差异,对根据物种丰度计算得到的Bray、Jaccard距离矩阵分别进行分析。置换多因素方差分析(Adonis)显示,在菌群的不同分类水平上,两组间物种的多样性均无显著差异(均 $P>0.05$ ),无法将其有效区分。

**2.2 肠道菌群的物种数目及相对丰度** 选取相对丰度居前10标本的相对丰度数据绘制出物种丰度柱形图,直观展示两组肠道主要菌群的丰度组成及比例的变化情况。以门、属、种水平分类的物种相对丰度柱形图见图2A, 2B, 2C。在门水平,拟杆菌门(Bacteroidetes)、厚壁菌门(Firmicutes)、变形杆菌门

(Proteobacteria)、放线杆菌门(Actinobacteria)是两组肠道菌群中的4个主要门类。对于丰度最高的拟杆菌门,相对丰度NoV组为(44.82±16.24)%,HC组为(39.25±16.70)%;厚壁菌门相对丰度NoV组为(28.77±10.65)%,HC组为(33.64±13.58)%;变形杆菌门和放线杆菌门相对丰度NoV组分别为(5.69±7.17)%、(7.59±8.39)%,HC组分别为(13.98±16.41)%、(3.01±5.46)%。虽然每个菌门在两组中的相对丰度存在不同,但相对丰度居前10的主要菌门在两组中的分布差异均无统计学意义(均 $P>0.05$ )。门水平上只有广古菌门在NoV组(0.0098±0.0076)%中显著高于HC组(0.0022±0.0015)%( $P<0.05$ )。



A 肠道菌群门水平物种相对丰度柱形图 B 肠道菌群属水平物种相对丰度柱形图 C 肠道菌群种水平物种相对丰度柱形图 D 两组标本单形拟杆菌的相对丰度对比柱形图(a组间比较, $P<0.05$ )

图2 NoV组及HC组儿童肠道菌群物种相对丰度比较

A, B and C figures are average relative abundances bar charts of predominant bacterial taxa at the phylum, genus and species level of two groups D figure is the relative abundances bar chart of *Bacteroides uniformis* between two groups

Fig. 2 Average relative abundance bar chart of predominant bacterial taxa of two groups

在属水平, NoV组的拟杆菌属(*Bacteroides*)相对丰度比例最高,为(23.02±10.82)%, HC组为(17.60±9.87)%。关于未分类菌属(*Unclassified*)的相对丰度, NoV组为(22.38±4.21)%, HC组为(23.52±4.20)%。Phocaeicola菌属和埃希菌属(*Escherichia*)的相对丰度, NoV组分别为(7.87±7.15)%、(3.30±6.38)%, HC组分别为(10.34±9.70)%、(9.14±11.98)%。相对丰度居前10的主要菌属在两组中的分布差异均无统计学意义(均 $P>0.05$ )。

在种水平,两组的未分类菌种的丰度最高, NoV组和HC组分别达到(43.13±6.28)%和(42.28±

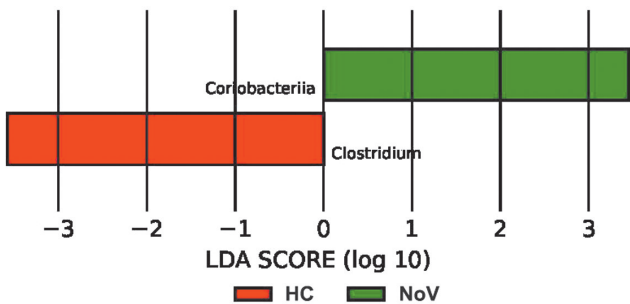
5.89)%。两组丰度较高的菌种分别为大肠埃希菌、脆弱拟杆菌、普拉梭菌等(表1)。在单形拟杆菌(*Bacteroides uniformis*),其相对丰度 NoV 组(1.88 ± 1.72)%与 HC 组(0.45 ± 0.71)%相比显著增高,两组间的分布差异有统计学意义( $P < 0.05$ )(图 2D)。NoV 组阴沟肠杆菌的相对丰度(0.0709 ± 0.1265)%与 HC 组(0.2411 ± 0.3201)%相比差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。其他菌种在两组的分布比例差异均无统计学意义(均  $P > 0.05$ )。

表 1 诺如病毒急性胃肠炎组(NoV 组)和健康对照组(HC 组) 儿童肠道菌种相对丰度比较( $\bar{x} \pm s, \%$ )

Table 1 Relative abundance of gut microbiome of NoV group and HC group children

菌种 Species	NoV 组 NoV group	HC 组 HC group	P
未分类菌种	43.12 ± 6.28	42.28 ± 5.89	0.7911
<i>Phocaeicola vulgatus</i>	5.52 ± 5.88	6.59 ± 6.78	0.7547
大肠埃希菌	3.14 ± 6.05	8.72 ± 11.40	0.3057
脆弱拟杆菌	4.50 ± 4.14	3.51 ± 3.72	0.6304
普拉梭菌	3.19 ± 2.92	3.17 ± 2.69	0.9888
短双歧杆菌	2.29 ± 5.94	1.68 ± 4.08	0.8102
多形拟杆菌	1.72 ± 1.43	1.90 ± 1.46	0.8107
单形拟杆菌	1.88 ± 1.72	0.45 ± 0.71	0.0375
长双歧杆菌	1.90 ± 3.08	0.32 ± 0.50	0.1449
嗜黏蛋白阿克曼菌	1.83 ± 4.32	0.12 ± 0.23	0.2435

为了进一步找出组间差异物种,对两组进行组间 LEfSe 差异判别分析,结果提示除上述差异外,部分肠道菌群的结构和丰度发生变化,放线菌门的红蜡杆菌纲(*Coriobacteriia*)丰度在 NoV 组显著增高( $LDA\ Score > 3, P < 0.05$ ),厚壁菌门梭菌纲真细菌目梭菌科的梭状芽孢杆菌属(*Clostridium*)丰度 HC 组显著高于 NoV 组( $LDA\ Score > 3, P < 0.05$ )(图 3)。



注:颜色代表对应分组,柱状图的长度代表差异物种的贡献度大小(即为 LDA Score)。图中展示了 LDA Score 大于设定值(默认设置为 2)的条件下不同组间丰度有显著差异的物种,即每组内丰度显著高于其它各组的 Biomarker。

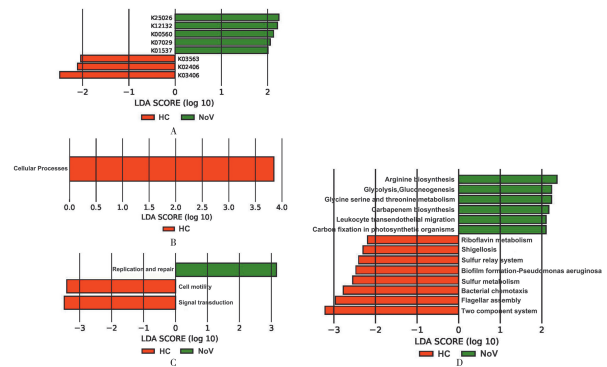
图 3 NoV 组及 HC 组儿童肠道菌群物种 LEfSe 差异判别分析

Notes: Linear Discriminant Analysis Effect Size (LEfSe) identifies the most differentially abundant taxa (Biomarkers) between the two groups. Taxa enriched in NoV samples are indicated with a positive LDA score, and taxa enriched in HC group have a negative score. Only taxa meeting an LDA significant threshold  $> 2$  are shown.

Fig. 3 LEfSe result of bacterial species of two groups

### 3 两组肠道菌群的功能分析

基于两组肠道菌群宏基因组测序结果进行基因组装注释,导入 KEGG 数据库,在不同的功能分层水平(ko, Level1, Level2, Level3)进行肠道菌群功能组成和差异分析,比较组间肠道微生物的功能基因变化,并分析其在相关代谢通路中的作用。结果显示, NoV 组相较于 HC 组大量与微生物代谢相关的功能基因发生了显著改变( $LDA\ Score > 2$ ),其编码葡萄糖激酶(EC:2.7.1.2)的 K25026 基因、编码真核样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(EC:2.7.11.1)的 K12132 基因、编码胸腺嘧啶核苷酸合成酶(EC:2.1.1.45)的 K00560 基因、编码甘油二酯激酶(ATP)(EC:2.7.1.107)的 K07029 基因以及编码 P 型  $Ca^{2+}$  转运体-2C(EC:7.2.2.10)的 K01537 基因均显著上调(图 4A)。这些基因编码的酶类与碳水化合物代谢、核苷酸代谢、脂质代谢辅助因子和维生素的代谢、次生代谢物的生物合成等代谢通路相关。而编码甲基受体趋化性蛋白(mcp)的 K03406 基因、编码鞭毛蛋白(fliC)的 K02406 基因、编码碳储存调控因子(csrA)的 K03563 基因显著下调,这些基因编码蛋白主要与双组分系统、NOD 样受体信号通路、部分细菌生物膜形成等代谢途径有关。



A 基于 ko 的功能差异 LDA 值图 B 基于 Level 1 的功能 LDA 图 C 基于 Level 2 的功能 LDA 图 D 基于 Level 3 的功能 LDA 图。

图 4 NoV 组与 HC 组儿童肠道菌群功能 LEfSe 差异判别分析

A, B, C and D figures are LEfSe results (LDA score) of bacterial functions at the ko, Level 1, Level 2 and Level 3 level of two groups.

Fig. 4 LEfSe results of bacterial functions of two groups

基于 Level 1 的分析显示,两组肠道菌群均可分为新陈代谢、遗传信息加工、环境信息加工、细胞过程、生物体系统、人类疾病 6 大功能类别,组间差异主要表现在细胞过程(Cellular Processes)类别, NoV 组显著低于 HC 组( $LDA\ Score > 3, P < 0.05$ )(图 4B)。基于 Level 2 的分析显示, NoV 组的细胞能动性(Cell motility)及信号转导(Signal transduction)这 2 种子功能的丰度显著低于 HC 组,而复制和修复(Replication and repair)子功能的丰度显著高于 HC 组( $LDA\ Score > 3, P < 0.05$ )(图 4C)。基于 Level 3

的分析显示, NoV 组中的精氨酸生物合成 (Arginine biosynthesis)、糖酵解及糖异生 (Glycolysis, Gluconeogenesis)、甘氨酸, 丝氨酸和苏氨酸代谢 (Glycine, serine and threonine metabolism)、碳青霉烯生物合成 (Carbapenem biosynthesis)、白细胞跨内皮迁移 (Leukocyte transendothelial migration)、光合作用中的碳固定 (Carbon fixation in photosynthetic organisms) 这 6 种代谢通路的丰度显著高于 HC 组 ( $LDA\ Score > 2, P < 0.05$ ), 而双组分系统 (Two component system)、鞭毛组件 (Flagellar assembly)、细菌趋药性 (Bacterial chemotaxis)、硫代谢 (Sulfur metabolism)、硫接力系统 (Sulfur relay system)、生物膜形成-铜绿假单胞菌 (*Biofilm formation-Pseudomonas aeruginosa*)、志贺氏菌病 (Shigellosis)、核黄素代谢 (Riboflavin metabolism) 8 种代谢通路的丰度显著低于 HC 组 ( $LDA\ Score > 2, P < 0.05$ ) (图 4D)。以上代谢通路的组间差异与上述相关功能基因的变化相一致, 表明 NoV 组肠道菌群的部分基因表达有所上调或下调, 通过其编码的酶类或功能蛋白参与对特定代谢通路的调节过程, 提示其与 NoV 侵袭感染及机体抗感染机制有关。

## 讨 论

肠道菌群与人类通过协同进化形成了互相依赖的共生关系。这种共生关系直接或间接影响人体的多种生理功能, 在环境、饮食和遗传等多种因素的调节下最终以影响人体代谢的方式实现人体不同的生理功能<sup>[23-26]</sup>。随着对 NoV 体内感染机制研究的不断深入, 肠道菌群在其中发挥的作用越来越受到重视, 近年来逐渐成为 NoV 感染机制的研究热点。然而, 目前关于肠道菌群在 NoV 感染机制的多项研究中尚存在一些争论。Jones 等<sup>[8]</sup>的研究表明, B 细胞是 NoV 的细胞靶点之一, 肠道细菌则是 NoV 感染 B 细胞的刺激因子及辅助因素, NoV 感染需要表达 HBGA 的肠道细菌的存在。阴沟肠杆菌表达 H 型 HBGA, 可与 GII.4-Sydney 株人诺如病毒 (HuNoV) 结合, 促进病毒对 B 细胞的附着和感染, 与合成的 H 抗原效果类似, 而不表达 H 抗原的肠道细菌则未能促进感染。通过小鼠的体外实验发现, 口服抗生素耗尽正常肠道菌群的小鼠体内 NoV 的复制减少。但 Lei 等<sup>[11]</sup>采用阴沟肠杆菌定植野生型猪的方法发现, 阴沟肠杆菌可抑制 NoV 的感染性, B 细胞不是 NoV 的靶细胞类型。以上研究结论均是来自于体外细胞模型和小鼠动物试验, 以临床 NoV 急性胃肠炎患者为研究对象, 在体内水平深入分析比较 NoV 感染患者的菌群物种结构丰度及功能变化, 将为肠道菌群在 NoV 感染机制中的作

用提供新的证据。

目前使用最广泛的的肠道菌群研究方法包括 16S rRNA 测序和宏基因组测序。16S rRNA 测序只选择性扩增可变区目的基因片段, 只能将细菌鉴定到属水平, 无法获得种水平的具体信息。宏基因组是对所有微生物进行全基因组测序, 能获得微生物更为详细的分类学信息和基因序列信息, 能鉴定微生物到种水平甚至株水平, 且能通过功能数据库比对注释获取样品中微生物的功能信息, 故在肠道菌群分析过程中宏基因组测序具有较大的优势。本研究采用宏基因组测序技术分析肠道菌群在 NoV 感染中的作用, 以便揭示 NoV 急性胃肠炎患儿肠道微生物的结构及丰度变化以及特定功能基因的丰度变化特征。

本研究结果表明, 与健康对照组儿童相比较, NoV 感染患儿的肠道菌群结构及比例存在一定的差异。物种分析显示, NoV 组在门水平上广古菌门丰度增高, 在纲水平上红螺杆菌纲丰度增高, 在属水平上梭状芽孢杆菌属丰度降低, 在种水平上单形拟杆菌丰度增高。提示这些细菌或菌群与 NoV 感染密切相关。但未发现两组阴沟肠杆菌的丰度出现显著性差异, 表明阴沟肠杆菌不一定单独发挥促进感染作用, NoV 侵袭感染人体的过程可能与多种肠道细菌之间的相互作用有关。单纯分析肠道微生物可能仍会有所局限, 肠道微生物的代谢作用需要重视<sup>[27]</sup>。为此, 本研究进一步比较了两组间肠道微生物的功能基因差异性, 并分析其相关代谢通路作用。结果显示, NoV 组中大量与微生物代谢通路调节相关的功能基因发生了显著改变, 编码葡萄糖激酶的 K25026 基因显著上调, 糖酵解及糖异生代谢通路的作用明显增强。而糖酵解是肠道微生物对碳水化合物代谢的主要途径。这一微生物代谢过程的改变有助于结肠重吸收水、电解质, 有助于释放更多的能量供给微生物与肠道黏膜上皮的代谢需要。编码甲基受体趋化性蛋白的 K03406 基因、编码鞭毛蛋白的 K02406 基因、编码碳储存调控因子的 K03563 基因相较于健康对照组均显著下调, 这些基因编码的蛋白均与双组分系统代谢通路有关。双组分系统存在于多种革兰阴性菌中, 在细菌诸多生命活动中发挥关键作用, 是细菌感知环境变化并产生相应调控的主要机制之一。这表明 NoV 感染可能与肠道部分革兰阴性菌群比例失衡有关。

本研究通过宏基因组测序初步分析了 NoV 感染患儿肠道菌群的分布特征及相应代谢调节通路变化, 鉴定出特定的差异物种及功能, 其可能与 NoV 的侵袭感染机制密切相关。目前尚无治疗和预防 NoV 感染的药物及疫苗, 基于 NoV 感染相关的特异性肠道菌群的研究将为开展 NoV 的感染机制并研发微生态制剂

防治 NoV 急性胃肠炎提供了新思路。

#### 【参考文献】

- [1] Goodgame R. Norovirus gastroenteritis[J]. *Curr Infect Dis Rep*, 2007,9(2):102-109.
- [2] Ahmed SM, Hall AJ, Robinson AE, et al. Global prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis: a systematic review and meta-analysis[J]. *Lancet Infect Dis*, 2014,14(8):725-730.
- [3] Lemes LG, Correa TS, Fiaccadori FS, et al. Prospective study on Norovirus infection among allogeneic stem cell transplant recipients: prolonged viral excretion and viral RNA in the blood [J]. *J Clin Virol*, 2014,61(3):329-333.
- [4] Zhou H, Wang S, von Seidlein L, et al. The epidemiology of norovirus gastroenteritis in China: disease burden and distribution of genotypes[J]. *Front Med*, 2020,14(1):1-7.
- [5] Qin J, Li R, Raes J, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing [J]. *Nature*, 2010, 464 (7285):59-65.
- [6] Guarino A, Lo Vecchio A, Canani R B. Probiotics as prevention and treatment for diarrhea[J]. *Current Opinion Gastroenterol*, 2009,25(1):18-23.
- [7] Guandalini S. Probiotics for children with diarrhea: an update[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2008,42(Suppl 2):S53-S57.
- [8] Jones MK, Watanabe M, Zhu S, et al. Enteric bacteria promote human and mouse norovirus infection of B cells [J]. *Science*, 2014,346(6210):755-759.
- [9] Baldrige MT, Nice TJ, McCune BT, et al. Commensal microbes and interferon- $\lambda$  determine persistence of enteric murine norovirus infection[J]. *Science*, 2015,347(6219):266-269.
- [10] Karst SM. The influence of commensal bacteria on infection with enteric viruses[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2016,14(4):197-204.
- [11] Lei S, Samuel H, Twitchell E, et al. *Enterobacter cloacae* inhibits human norovirus infectivity in gnotobiotic pigs [J]. *Sci Rep*, 2016(6):25017.
- [12] Lee H, Ko G. New perspectives regarding the antiviral effect of vitamin A on norovirus using modulation of gut microbiota [J]. *Gut Microbes*, 2017,8(6):616-620.
- [13] Lei S, Ramesh A, Twitchell E, et al. High protective efficacy of probiotics and rice bran against human norovirus infection and diarrhea in gnotobiotic pigs [J]. *Front Microbiol*, 2016(7):1699.
- [14] 廖巧红, 冉陆, 靳森, 等. 诺如病毒感染暴发调查和预防控制技术指南(2015版)[J]. *中国病毒病杂志*, 2015,5(6):448-458.
- [15] Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data [J]. *Bioinformatics*, 2014, 30(15):2114-2120.
- [16] Li D, Liu CM, Luo R, et al. MEGAHIT: an ultra-fast single-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph [J]. *Bioinformatics*, 2015, 31(10):1674-1676.
- [17] Hyatt D, Chen GL, Locascio PF, et al. Prodigal: prokaryotic gene recognition and translation initiation site identification [J]. *BMC Bioinformatics*, 2010(11):119.
- [18] Steinegger M, Soding J. MMseqs2 enables sensitive protein sequence searching for the analysis of massive data sets [J]. *Nat Biotechnol*, 2017,35(11):1026-1028.
- [19] Beghini F, Mciver LJ, Blanco-Miguez A, et al. Integrating taxonomic, functional, and strain-level profiling of diverse microbial communities with bioBakery 3 [J]. *Elife*, 2021,10.
- [20] Ogata H, Goto S, Sato K, et al. KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes [J]. *Nucleic Acids Res*, 1999,27(1):29-34.
- [21] Kanehisa M. Toward understanding the origin and evolution of cellular organisms [J]. *Protein Sci*, 2019,28(11):1947-1951.
- [22] Kanehisa M, Furumichi M, Sato Y, et al. KEGG: integrating viruses and cellular organisms [J]. *Nucleic Acids Res*, 2021,49 (D1):D545-D551.
- [23] Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, et al. Host-gut microbiota metabolic interactions [J]. *Science*, 2012, 336(6086):1262-1267.
- [24] Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers [J]. *Nature*, 2013,500(7464):541-546.
- [25] David LA, Maurice CF, Carmody RN, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome [J]. *Nature*, 2014,505(7484):559-563.
- [26] Goodrich JK, Waters JL, Poole AC, et al. Human genetics shape the gut microbiome [J]. *Cell*, 2014,159(4):789-799.
- [27] 梁耀民, 陆胤波, 曹颖雯, 等. 诺如病毒和肠道菌群的互作关系及机制研究进展 [J]. *病毒学报*, 2021,37(5):1215-1220.

【收稿日期】 2022-12-08 【修回日期】 2023-03-01