



中国临床医学

Chinese Journal of Clinical Medicine

ISSN 1008-6358

CN 31-1794/R

胶质瘤发病相关蛋白1基因对香烟烟雾暴露小鼠肺部菌群的影响

朱文思, 彭文, 韩林晓, 吴圆圆, 周建

引用本文:

朱文思, 彭文, 韩林晓, 吴圆圆, 周建. 胶质瘤发病相关蛋白1基因对香烟烟雾暴露小鼠肺部菌群的影响[J]. 中国临床医学, 2023, 30(2): 238-09-1.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2023.20221340>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

双歧杆菌对高脂饮食诱导的C57BL/6小鼠非酒精性脂肪肝的影响

Effects of *bifidobacteria* on high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in C57BL/6 mice

中国临床医学. 2022, 29(3): 473-480 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2022.20220242>

健康人群中IgG类血型抗体高低效价间的肠道微生物差异

The difference of intestinal microorganisms between high and low efficiency of IgG blood group antibodies in healthy people

中国临床医学. 2021, 28(3): 422-427 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2021.20210774>

孕晚期食源性抗生素暴露及健康影响分析

Analysis of food-borne antibiotic exposure in late pregnancy and its health effects

中国临床医学. 2021, 28(4): 670-674 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2021.20202314>

七氟醚对C57小鼠海马基因表达的影响

Effect of sevoflurane on hippocampal gene expression in C57BL/6 mice

中国临床医学. 2020, 27(4): 628-634 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2020.20200904>

高血压人群肠道微生物的代谢组学分析

An exploratory analysis of the relationship between gut microbiota and hypertension

中国临床医学. 2022, 29(5): 760-771 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2022.20220335>

DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2023.20221340

· 论 著 ·

胶质瘤发病相关蛋白 1 基因对香烟烟雾暴露小鼠肺部菌群的影响



朱文思, 彭文珺, 韩林晓, 吴圆圆, 周 建*

复旦大学附属中山医院呼吸科, 上海市呼吸病研究所, 上海 200032

引用本文 朱文思, 彭文珺, 韩林晓, 等. 胶质瘤发病相关蛋白 1 基因对香烟烟雾暴露小鼠肺部菌群的影响[J]. 中国临床医学, 2023, 30(2): 238-244. ZHU W S, PENG W J, HAN L X, et al. Effects of GLI pathogenesis-related 1 gene on lung microbiome of mice exposed to cigarette smoke[J]. Chin J Clin Med, 2023, 30(2): 238-244.

[摘要] **目的** 探讨胶质瘤发病相关蛋白 1 (GLI pathogenesis-related 1, GLIPR1) 基因对香烟烟雾暴露小鼠的肺部菌群的影响。**方法** 通过被动吸入二手烟构建香烟烟雾暴露 COPD 小鼠模型, 将 C57BL/6 小鼠和 GLIPR1 基因敲除小鼠随机分为野生对照组 (WT 组)、野生型香烟烟雾暴露组 (WT_SMOKE 组)、GLIPR1 基因敲除对照组 (GLIPR1 组) 和 GLIPR1 基因敲除香烟烟雾暴露组 (GLIPR1_SMOKE 组)。采用 16S rRNA 测序技术得出肺部菌群丰度及多样性信息; 采用 LEfSe 分析各组小鼠肺部菌群的差异。**结果** 4 组小鼠肺部微生物群 β 多样性差异显著 ($P_{\text{ANOSIM}}=0.003$), 4 组小鼠肺部微生物群间存在 28 个差异菌属。进一步 LEfSe 分析提示, 与 WT 组相比, WT_SMOKE 组布劳特氏菌占比减少 0.25% [线性判别式分析 (LDA) 评分 = $3.1367 \log_{10}$, $P=0.006$]。GLIPR1_SMOKE 组双歧杆菌属 (LDA 评分 = $3.465 \log_{10}$, $P=0.042$) 和芽单胞杆菌门 *S0134_terrestrial_group* (LDA 评分 = $3.115 \log_{10}$, $P=0.041$) 丰度最高。**结论** 香烟烟雾暴露后, GLIPR1 基因敲除小鼠的肺部菌群分布与野生型小鼠存在差异, 其中以布劳特氏菌、双歧杆菌属和芽单胞杆菌门 *S0134_terrestrial_group* 差异最明显。

[关键词] 肺部菌群; 慢性阻塞性肺疾病; 胶质瘤发病相关蛋白 1; 16S rRNA

[中图分类号] R 563.9 **[文献标志码]** A

Effects of GLI pathogenesis-related 1 gene on lung microbiome of mice exposed to cigarette smoke

ZHU Wen-si, PENG Wen-jun, HAN Lin-xiao, WU Yuan-yuan, ZHOU Jian*

Department of Respiratory, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai Institute of Respiratory Diseases, Shanghai 200032, China

[Abstract] **Objective** To explore the effect of GLI pathogenesis-related 1 (GLIPR1) gene on the lung microbiome of mice exposed to cigarette smoke. **Methods** Mice were exposed to cigarette smoke to established COPD mouse model. C57BL/6 mice and GLIPR1 knockout mice were randomly divided into 4 groups: wild-type control group (WT group), wild-type cigarette smoke exposure group (WT_SMOKE group), GLIPR1 gene knockout control group (GLIPR1 group), and GLIPR1 gene knockout cigarette smoke exposure group (GLIPR1_SMOKE group). Then 16S rRNA sequencing technology was used to analyze the differences among the lung microbiome of mice in 4 groups. **Results** There were significant differences in β diversity among the lung microbiota of 4 groups ($P_{\text{ANOSIM}}=0.003$). At the genus level, there were 28 differential bacterial genera among the 4 groups. LEfSe analysis showed that compared with WT group, the proportion of *Blautia* in mice of WT_SMOKE group decreased by 0.25% (LDA score = $3.137 \log_{10}$, $P=0.006$). The proportion of *Bifidobacterium* (LDA score = $3.465 \log_{10}$, $P=0.042$) and *Gemmatimonadetes.S0134_terrestrial_group* (LDA score = $3.115 \log_{10}$, $P=0.041$) were highest in GLIPR1_SMOKE group, respectively. **Conclusions** After exposure to cigarette smoke, the distribution of lung microbiome in GLIPR1 gene knockout mice is higher than that in WT mice, and *Blautia*, *Bifidobacterium* and *Gemmatimonadetes.S0134_terrestrial_group* play important roles.

[Key Words] lung microbiome; chronic obstructive pulmonary disease; GLIPR1; 16S rRNA

[收稿日期] 2022-07-30

[接受日期] 2023-03-11

[基金项目] 国家自然科学基金(81770039, 82070045, 82270040). Supported by National Natural Science Foundation of China (81770039, 82070045, 82270040).

[作者简介] 朱文思, 硕士生. E-mail: 20211210013@fudan.edu.cn

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-64041990, E-mail: Zhou Jian@fudan.edu.cn

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是一种以持续的呼吸道症状和气流受限为主要特征的常见呼吸系统疾病, 目前全球范围内致死率仅次于缺血性心脏病和脑卒中^[1], 预计未来 40 年患病率将不断增加^[2]。烟草暴露、空气污染、遗传因素和微生物组感染是其常见的致病因素, 其中烟草暴露是最主要的危险因素^[3]。

随着高通量 16S rRNA 测序技术的发展, 人的肺部被发现存在丰富的微生物群落^[4]。而多种肺部疾病的发生发展与肺部菌群的变化密切相关, 如肺囊性纤维化^[5-6]、重度哮喘^[7]及 COPD^[8]。Haldar 等^[8]发现, 健康受试者与 COPD 受试者的痰液微生物组存在显著差异, 其中 γ -变形菌纲与 COPD 恶化相关。但是, 目前仍缺乏 COPD 患者肺实质微生物组相关研究。

胶质瘤发病相关蛋白 1 (GLI pathogenesis-related 1, GLIPR1) 在人胶质母细胞瘤中高表达, 可能是一种促癌蛋白^[9]。课题组前期研究^[10]发现, 敲除 GLIPR1 基因能够通过调控 PLAU/EGFR 信号通路促进细胞焦亡, 从而使小鼠香烟烟雾暴露后肺部炎症因子白介素 (IL) -6、IL-1 β 释放增加, 加重小鼠肺部损伤与气道重塑。而既往研究^[11-12]发现, 肺部菌群能调节哮喘、肺移植患者肺部炎症因子的分泌。因此, GLIPR1 可能通过调节肺部菌群影响 COPD 进展。本研究通过 16S rRNA 测序技术分析 GLIPR1 基因对香烟烟雾暴露诱导的小鼠 COPD 模型肺部菌群的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物 C57BL/6 野生型雄鼠 (8 周龄) 购于上海斯莱克实验动物有限责任公司。GLIPR1 基因敲除鼠由上海南方模式生物科技股份有限公司采用 CRISPR/Cas9 技术, 通过非同源重组修复引入突变方式获得。具体步骤: 通过体外转录获得 Cas9 mRNA 和 gRNA; 将 Cas9 mRNA 和 gRNA 显微注射到 C57BL/6J 小鼠的受精卵中, 经 PCR 产物测序确认获得 GLIPR1 基因蛋白读码框移码的 F0 代小鼠; F0 代小鼠与 C57BL/6 小鼠交配获得 F1 代小鼠; F1 代小鼠继续进行繁育, 获得纯合的

全身性 GLIPR1 基因敲除鼠。动物饲养于复旦大学附属中山医院实验动物中心。在饲养过程中, 小鼠自由饮水并获取食物, 每日接受 12 h 光照。动物实验获得复旦大学附属中山医院实验动物伦理委员会审批 (2022-032)。

1.2 实验分组 将小鼠随机分为野生型对照组 (WT 组)、野生型香烟烟雾暴露组 (WT_SMOKE 组)、GLIPR1 基因敲除对照组 (GLIPR1 组) 和 GLIPR1 基因敲除香烟烟雾暴露组 (GLIPR1_SMOKE 组), 每组 4~6 只。WT_SMOKE 组与 GLIPR1_SMOKE 组小鼠暴露于 45 cm $\times$ 25 cm $\times$ 25 cm 亚克力箱中, 被动吸入二手烟 (大前门: 每支焦油 11 mg、烟气烟碱 0.8 mg、一氧化碳 13 mg; 上海烟草集团有限责任公司), 每周 5 d, 每天 20 支香烟, 持续 3 个月。造模结束后, 小鼠右上肺组织苏木精-伊红 (H-E) 染色显示, 气道显著增厚, 肺泡间隔严重破坏, 出现典型的 COPD 气道重塑与肺气肿表型, 表明造模成功^[10]。

1.3 小鼠血液及肺组织获取 小鼠香烟烟雾暴露 3 个月后, 用 1.25% 三溴乙醇 (阿佛丁, 20 mL/kg) 腹腔注射麻醉小鼠, 眼球取血, 充分暴露小鼠胸腔, 取肺。将小鼠右中肺取出置于冻存管中, -80 $^{\circ}$ C 保存, 备用。

1.4 DNA 抽提、建库 使用 DNA 抽提试剂盒 (DNeasy PowerSoil Kit QIAGEN 12888) 提取样本基因组 DNA, 通过琼脂糖凝胶电泳和 NanoDrop2000 检测 DNA 浓度。以基因组 DNA 为模板, 用带 barcode 的特异引物对细菌的 16S V3~4 区进行 PCR (Tks Gflex DNA Polymerase), 确保扩增效率和准确性。PCR 产物通过电泳检测, 检测后用磁珠纯化; 纯化后作为模板再次进行 PCR 扩增, 电泳检测, 磁珠纯化, 对扩增产物进行定量。

1.5 高通量测序 通过 Illumina MiSeq 高通量二代测序平台获得肺组织样本 16S rDNA 序列信息。通过 Trimmomatic 软件对 16S rDNA 原始双端序列进行去杂, 去杂后用 FLASH 软件进行拼接。经质控获得优质序列, 通过 Vsearch 软件, 将相似度 $\geq$ 97% 的序列归为一个操作分类单元 (OTU)。用 QIIME 软件包挑选出各个 OTU 的代表序列, 并将

所有代表序列与 Silva 数据库 (V123) 进行比对注释。

1.6 肺部菌群多样性分析 以 α 多样性表示肺部菌群丰富度与多样性, 主要指标包括 Chao1 指数 (物种丰富度)、Shannon 指数与 Simpson 指数 (物种多样性)。Chao1 指数和 Shannon 指数越高、Simpson 指数越低, 表示物种丰富度与多样性越高。通过主坐标分析 (principal coordinate analysis, PCoA) 反映各组间肺部菌群构成差异, 即 β 多样性。通过线性判别分析效应大小 (linear discriminant analysis effect size, LEfSe) 分析识别各组潜在标志菌群。

1.7 统计学处理 采用 R 软件程序包 (V4.1.13) 进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较

采用单因素方差分析 (ANOVA) 或 Kruskal Wallis H 检验, 两组间比较采用 t 检验或 Wilcoxon 检验。通过 Tukey 检验计算 OTU 的相对丰度差异。通过 Galaxy/Hutlab 在线平台 (<http://huttenhower.sph.harvard.edu/galaxy>) 进行线性判别分析 (LDA) 和 LEfSe 分析。检验水准 (α) 为 0.05。

2 结果

2.1 肺部菌群物种丰富度

2.1.1 总体 OTU 通过小鼠肺组织 16S rRNA 测序, 共获得 10 332 个 OTU, 稀疏曲线表明, 单个样本的 OTU 数已达饱和, 很难通过扩大测序数量获得更大的 OTU 数。有 250 个 OTU 序列共存于 4 组样本中, 4 组 OTU 总数差异无统计学意义 (图 1)。

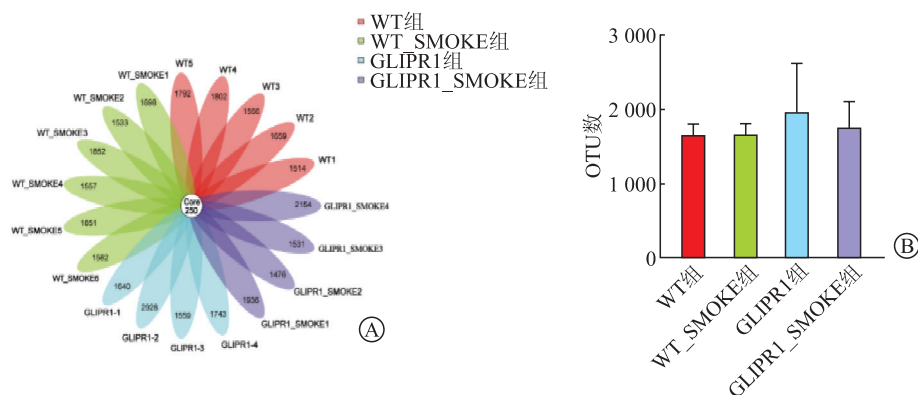


图 1 物种分析注释 OTU 数

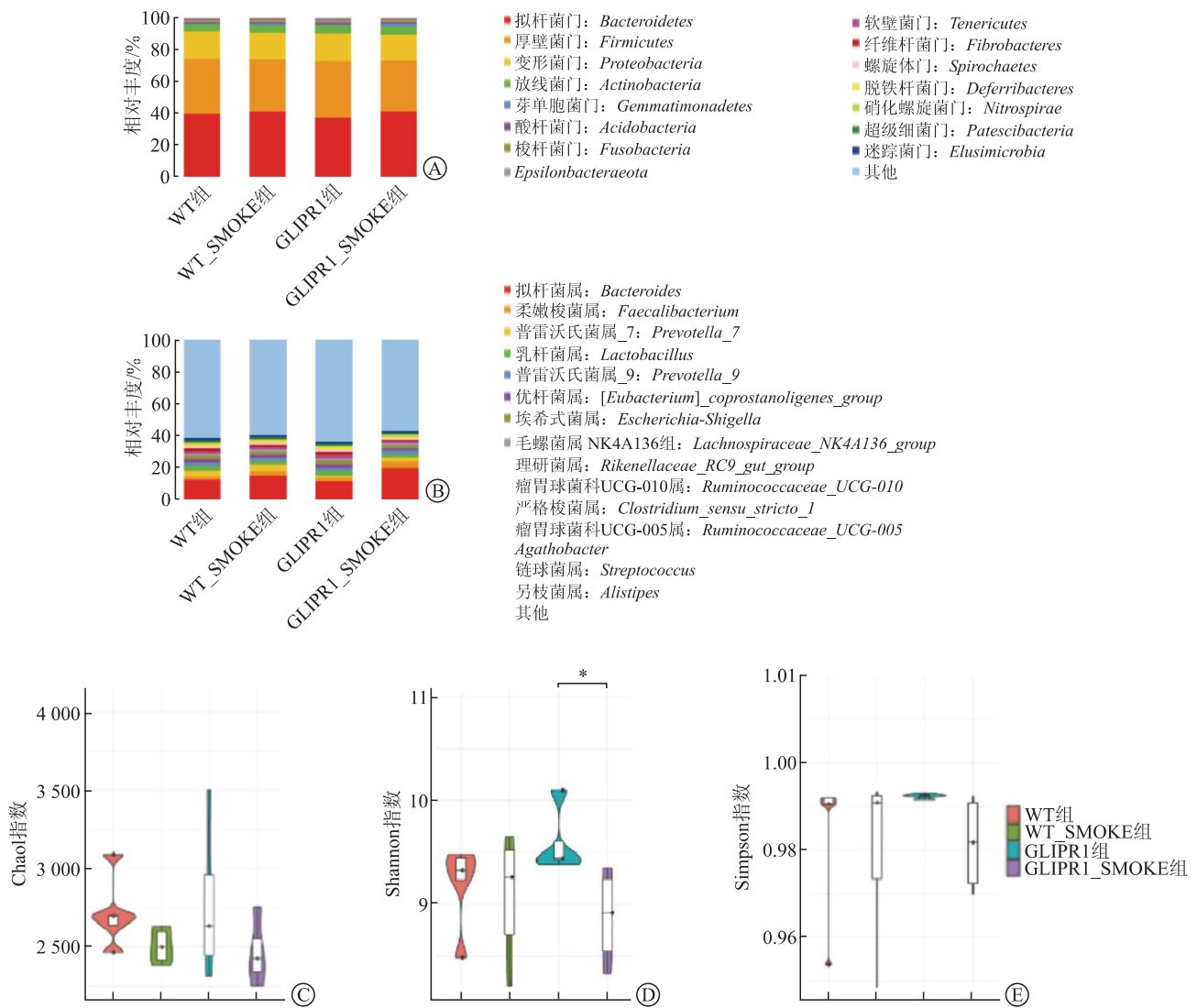
A: OTU 分布韦恩图; B: 4 组小鼠肺组织 OTU 总数比较。OTU: 操作分类单元。

2.1.2 数据库对比注释 结果 (图 2A、图 2B) 显示: 拟杆菌门、厚壁菌门、变形菌门和放线菌门在所有小鼠肺组织中为优势菌门。WT 组小鼠前 4 位的优势菌属为拟杆菌属、柔嫩梭菌属、普雷沃氏菌属和乳杆菌属 (*Lactobacillus*), 占比分别为 12.605%、2.004%、3.467% 和 3.104%。与 WT 组相比, 拟杆菌属和柔嫩梭菌属丰度在 WT_SMOKE 组增加, 分别为 15.078%、2.885%, 在 GLIPR1_SMOKE 组进一步增加, 分别为 19.742%、4.237%; 乳杆菌属丰度在 WT_SMOKE 组减小 (2.156%), 在 GLIPR1_SMOKE 组进一步减小 (1.998%)。

2.2 肺部菌群 α 多样性 结果 (图 2C~图 2E) 显示: 4 组间肺部菌群多样性总体差异不明显, GLIPR1_SMOKE 组 Shannon 指数低于 GLIPR1 组

($P < 0.05$)。

2.3 肺部菌群结构组成分析 结果 (图 3A) 显示: PCoA 可以明确划分 WT 组、WT_SMOKE 组、GLIPR1 组、GLIPR1_SMOKE 组 ($P_{ANOSIM} = 0.003$), 解释 4 组数据 15.66% 的变异。ANOVA 分析 (图 3B) 显示, 4 组之间存在 28 个差异菌属。WT_SMOKE 组和 GLIPR1_SMOKE 组小鼠肺部双歧杆菌属丰度较高, 以后者更为显著。与 WT 组小鼠相比, 类拟杆菌属、卟啉单胞菌属、毛螺菌科 (*UCG-006*、*UCG-001*) 属、优杆菌属 (*ruminantium_group*、*nodatum_group*) 在 WT_SMOKE 组小鼠中占比较低, 在 GLIPR1_SMOKE 组小鼠中占比更低。

图 2 肺部菌群丰度和 α 多样性A: 门水平相对丰度; B: 属水平相对丰度; C~E: 菌群 α 多样性。* $P < 0.05$ 。

2.4 标志菌群筛选 LefSe 分析 (图 4) 显示, 与 WT 组相比, 布劳特氏菌丰度 (LDA 评分=3.137 $\log_{10}$, $P=0.006$) 在 WT_SMOKE 组占比减少 0.25%, 在 GLIPR1 组和 GLIPR1_SMOKE 组中变化不明显; 链球菌属 (LDA 评分=3.447 $\log_{10}$, $P=0.048$) 在 WT 组丰度最高; 双歧杆菌属 (LDA 评分=3.465 $\log_{10}$, $P=0.042$) 和芽单胞杆菌门 *S0134_terrestrial_group* (LDA 评分=3.115 $\log_{10}$, $P=0.041$) 在 GLIPR1_SMOKE 组丰度最高; 醋杆菌科 (LDA 评分=3.429 $\log_{10}$, $P=0.022$)、醋杆菌目 (LDA 评分=3.418 $\log_{10}$, $P=0.022$)、拟杆菌目 *UCG_001* (LDA 评分=3.301 $\log_{10}$, $P=0.005$)、梭菌目 *Family_XIII* (LDA 评分=3.186 $\log_{10}$,

$P=0.025$)、拟杆菌目 *UCG_001.uncultured_rumen_bacterium* (LDA 评分=3.169 $\log_{10}$, $P=0.010$)、瘤胃球菌科 *uncultured* (LDA 评分=3.147 $\log_{10}$, $P=0.027$) 丰度在 GLIPR1 组最高。

3 讨论

课题组前期研究显示, 与 WT 组小鼠相比, WT_SMOKE 组小鼠表现明显的 COPD 表型, 即肺部炎症细胞浸润、气道壁增厚、肺泡破坏和气道重塑, GLIPR1_SMOKE 组小鼠 COPD 症状进一步加重; 而且, GLIPR1_SMOKE 组小鼠肺部蛋白累积, 总细胞、中性粒细胞和巨噬细胞的浸润和 IL-6 分泌较 WT_SMOKE 组更严重^[10]。本研究通过

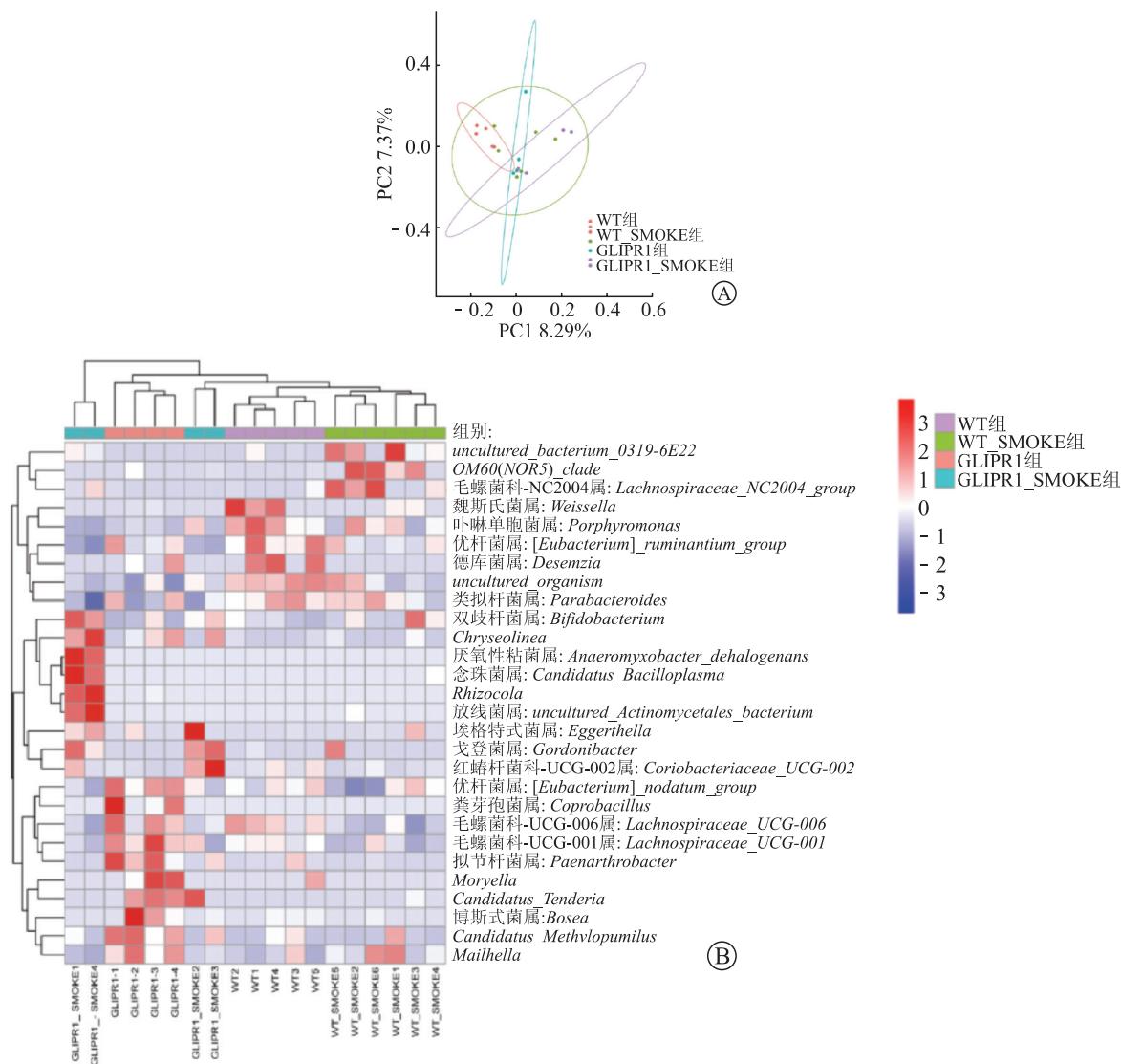


图3 小鼠肺部菌群β多样性

A: PCoA; B: 差异菌属热图分析。

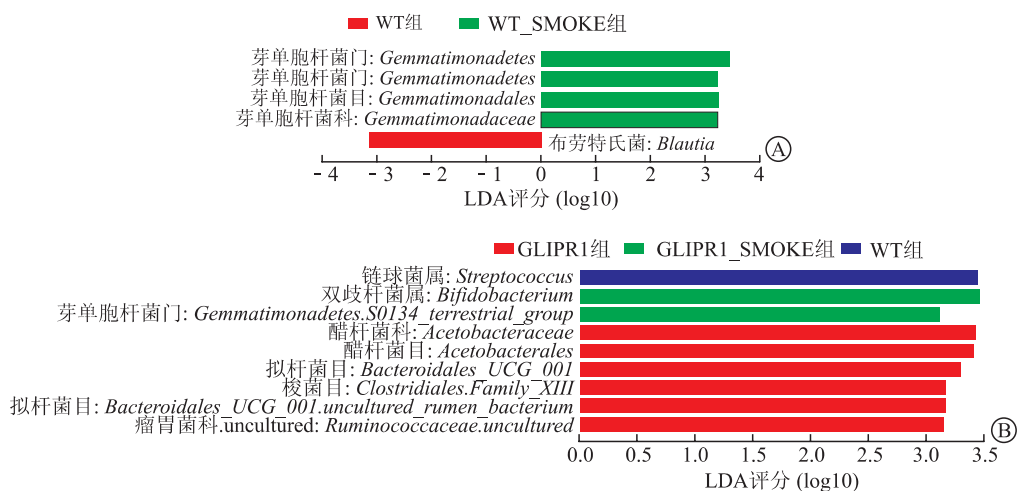


图4 LEfSe分析标志菌群

A: WT组与WT_SMOKE组LDA评分分布; B: GLIPR1组、GLIPR1_SMOKE组与WT组LDA评分分布。

16S rRNA 测序,发现4组小鼠肺部存在差异菌群。

本研究发现,小鼠肺部拟杆菌门、厚壁菌门、变形菌门和放线菌门丰度较高,且在香烟烟雾暴露和 GLIPR1 基因敲除后无明显变化。4 组肺部菌群 α 多样性差异无统计学意义,这表明香烟烟雾暴露与 GLIPR1 基因敲除不通过改变肺部微生物群丰富度来影响 COPD 发展,与 Sze 等^[13]的研究结果一致。但是,4 组小鼠肺部菌群组成存在差异。野生型小鼠香烟烟雾暴露后,布劳特氏菌占比减少。布劳特氏菌具有抗炎作用^[14],能利用碳水化合物合成丁酸,维护肠道黏膜完整性^[15-16],可用于预防肺炎链球菌引起肺炎^[17]。此外,平均乳酸杆菌属在 GLIPR1_SMOKE 组占比最低,仅为 1.998%。另有研究^[18]显示,口服乳酸杆菌能减轻流感病毒所致的小鼠肺部损伤。上述结果提示,敲除 GLIPR1 基因小鼠 COPD 症状加重与其肺部菌群组成成分的改变相关。

本研究中,4 组小鼠肺部存在 28 个肺部菌属,其中类拟杆菌属在烟雾暴露后占比减少, GLIPR1 基因敲除后减少更明显。类拟杆菌属可以产生氢、二氧化碳、甲酸、乙酸、羧酸等物质,而其他微生物可将二氧化碳和乙酸转化为甲烷,其中甲烷具有抗炎作用^[19]。双歧杆菌属在烟雾暴露后占比增加, GLIPR1 基因敲除后增加更明显,且是 GLIPR1_SMOKE 组小鼠肺部标志菌群。但是, Vieira 等^[20]发现,小鼠感染肺炎克雷伯菌后,口服双歧杆菌可以抑制炎症发展。出现这种差异的原因可能为:(1) COPD 不同于单一肺炎克雷伯菌感染,炎症反应过程复杂;(2) GLIPR1 基因敲除后,肺部的微环境改变,双歧杆菌生长受到影响。因此,双歧杆菌属在 COPD 中的作用仍有待进一步深入研究。芽单胞杆菌门 *S0134_terrestrial_group* 在 GLIPR1_SMOKE 组中占比也最高。芽单胞杆菌门 *S0134_terrestrial_group* 为革兰阴性菌,目前研究主要集中于其对环境土壤的影响,其在生物体内的作用研究较少。

综上所述,本研究发现,香烟烟雾刺激下, GLIPR1 基因敲除小鼠肺部菌群的结构组成发生显著改变。其中,双歧杆菌属和芽单胞杆菌门 *S0134_terrestrial_group* 为 GLIPR1 基因敲除小鼠

香烟烟雾暴露后肺部的标志菌群。但是本研究样本量较小,由于肺部菌群易受到环境影响,组内存在差异,未来需要扩大样本量,规范取样流程,减小误差;同时进一步分析差异菌群与炎症因子的相关性,探讨核心菌群影响 COPD 进展的机制。此外,肠道微生物群影响肺部微生物群,以及肺部炎症与免疫改变(这种关系被称为“肺肠轴”)^[21],胃肠道-呼吸道微生物群的相互作用可能成为研究 GLIPR1 在 COPD 发展过程中作用的新思路。

利益冲突: 所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] CHRISTENSON S A, SMITH B M, BAFADHEL M, et al. Chronic obstructive pulmonary disease[J]. Lancet, 2022, 399(10342): 2227-2242.
- [2] WHO. Global Health Estimates: Life expectancy and leading causes of death and disability[EB/OL]. (2020-12-09)[2022-6-03]. <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates>.
- [3] JONES B, DONOVAN C, LIU G, et al. Animal models of COPD: what do they tell us?[J]. Respirology, 2017, 22(1): 21-32.
- [4] DICKSON R P, ERB-DOWNWARD J R, MARTINEZ F J, et al. The microbiome and the respiratory tract[J]. Annu Rev Physiol, 2016, 78: 481-504.
- [5] CUTHBERTSON L, WALKER A W, OLIVER A E, et al. Lung function and microbiota diversity in cystic fibrosis[J]. Microbiome, 2020, 8(1): 45.
- [6] ROGERS G B, ZAIN N M, BRUCE K D, et al. A novel microbiota stratification system predicts future exacerbations in bronchiectasis[J]. Ann Am Thorac Soc, 2014, 11(4): 496-503.
- [7] ZHANG Q L, COX M, LIANG Z K, et al. Airway microbiota in severe asthma and relationship to asthma severity and phenotypes[J]. PLoS One, 2016, 11(4): e0152724.
- [8] HALDAR K, GEORGE L, WANG Z, et al. The sputum microbiome is distinct between COPD and health, independent of smoking history[J]. Respir Res, 2020, 21(1): 183.
- [9] MURPHY E V, ZHANG Y, ZHU W, et al. The human glioma pathogenesis-related protein is structurally related to plant pathogenesis-related proteins and its gene is expressed specifically in brain tumors[J]. Gene, 1995, 159(1): 131-135.
- [10] PENG W J, WU Y Y, ZHANG G, et al. GLIPR1 protects against cigarette smoke-induced airway inflammation via PLAU/EGFR signaling[J]. Int J Chron Obstruct

- Pulmon Dis, 2021, 16: 2817-2832.
- [11] HUANG Y J, NARIYA S, HARRIS J M, et al. The airway microbiome in patients with severe asthma: associations with disease features and severity[J]. J Allergy Clin Immunol, 2015, 136(4): 874-884.
- [12] SVERRILD A, KIILERICH P, BREJNROD A, et al. Eosinophilic airway inflammation in asthmatic patients is associated with an altered airway microbiome[J]. J Allergy Clin Immunol, 2017, 140(2): 407-417.e11.
- [13] SZE M A, DIMITRIU P A, HAYASHI S, et al. The lung tissue microbiome in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2012, 185(10): 1073-1080.
- [14] RASHIDI A, PELED J U, EBADI M, et al. Protective Effect of Intestinal *Blautia* Against Neutropenic Fever in Allogeneic Transplant Recipients[J]. Clin Infect Dis, 2022, 75(11): 1912-1920.
- [15] KIM S G, BECATTINI S, MOODY T U, et al. Microbiota-derived lantibiotic restores resistance against vancomycin-resistant *Enterococcus*[J]. Nature, 2019, 572(7771): 665-669.
- [16] CUI S M, GU J Y, LIU X M, et al. Lactulose significantly increased the relative abundance of *Bifidobacterium* and *Blautia* in mice feces as revealed by 16S rRNA amplicon sequencing[J]. J Sci Food Agric, 2021, 101(13): 5721-5729.
- [17] VERSTRAETEN S, SENCIO V, RAISE A, et al. Description of a newly isolated *Blautia faecis* strain and its benefit in mouse models of post-influenza secondary enteric and pulmonary infections[J]. Nutrients, 2022, 14(7): 1478.
- [18] KAWASE M, HE F, KUBOTA A, et al. Oral administration of lactobacilli from human intestinal tract protects mice against influenza virus infection[J]. Lett Appl Microbiol, 2010, 51(1): 6-10.
- [19] EZEJI J C, SARIKONDA D K, HOPPERTON A, et al. *Parabacteroides distasonis*: intriguing aerotolerant gut anaerobe with emerging antimicrobial resistance and pathogenic and probiotic roles in human health[J]. Gut Microbes, 2021, 13(1): 1922241.
- [20] VIEIRA A T, ROCHA V M, TAVARES L, et al. Control of *Klebsiella pneumoniae* pulmonary infection and immunomodulation by oral treatment with the commensal probiotic *Bifidobacterium longum* 5(1A)[J]. Microbes Infect, 2016, 18(3): 180-189.
- [21] BUDDEN K F, GELLATLY S L, WOOD D L, et al. Emerging pathogenic links between microbiota and the gut-lung axis[J]. Nat Rev Microbiol, 2017, 15(1): 55-63.

[本文编辑] 姬静芳