

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2019 年 9 月 28 日      第 27 卷      第 18 期      (Volume 27 Number 18)**



**18/2019**

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议、开放获取和在线出版的学术刊物。本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录。



### 述评

- 1107 非编码RNA调节异常在肝细胞癌发生发展中的作用

刘树业

- 1114 细胆管癌的临床病理特征

杨新伟, 傅晓辉, 张永杰

### 基础研究

- 1118 二甲基砒对乙醇诱导的小鼠胃溃疡作用的评价

王婷, 林佳

- 1125 内脏高敏感小鼠肠道树突状细胞异常活化与PDIA3/STAT3的相关性研究

马陈皋, 毛立祺, 应笑, 王爽爽, 李蒙, 张璐, 王曦, 吕宾

### 临床研究

- 1133 前白蛋白/纤维蛋白原比值与胃癌临床病理特征的关系

张俊斌, 王浩浩, 王伟斌, 王海勇, 陆轶民, 俞雄飞, 滕理送

- 1142 基于高通量测序技术的藏族肝硬化患者肠道菌群多样性研究

宦徽, 胡红, 陈小红, 高薇娜, 李玲丽, 李骥, 邓凯, 刘超

### 文献综述

- 1149 胃内微生态与胃部疾病的关系研究进展

刘芳, 梁田, 李岩松, 白骥, 康龙丽

- 1155 MicroRNA-146a生物学作用的研究进展

吴慧, 范恒, 刘星星

### 临床实践

- 1161 经导管肝动脉化疗栓塞术后原发性肝细胞癌残留状态的增强CT与超声造影比较

黄浩峰, 庞强

### 病例报告

- 1167 食管颗粒细胞瘤1例并国内文献复习

云晓静, 白玉煊, 敬长春

## 消 息

- 1124 《世界华人消化杂志》栏目设置  
1132 《世界华人消化杂志》正文要求  
1141 《世界华人消化杂志》修回稿须知  
1166 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事

## 封面故事

黄砚萍, 副主任护师, 硕士生导师, 中国中医科学院西苑医院, 兼任中华护理学会内科专业委员会专家库成员, 北京护理学会内科专业委员会消化病学组秘书, 北京护理学会中医护理专业委员会委员, “冯运华”中医护理传承弟子. 北京中医药大学教师资格, 《世界华人消化杂志》编委及审稿人. 曾获中国中医药学会科学技术三等奖. 带领护理团队创新三项特色服务: 感动服务、陪检服务、握手交接班, 受到患者一致好评, 事迹被登载在《学习强国》App北京平台上. 创新三项特色技术: 耳穴三步曲、砭石熨摩中药透入法, 两项技术被登载在健康时报网络客户端, 在全院形成辐射作用. 引导性音乐想象技术被登载在生命时报中医版上. 获批三项实用新型专利: 防针刺伤指套、耳部砭石刮痧器、控烟艾灸盒, 获批两项著作权: 引导性想象技术-参观苹果园、乡村漫步, 主编专业著作1部, 科普著作4部.

## 本期责任人

编务 李香; 送审编辑 崔丽君; 组版编辑 刘继红; 英文编辑 王天奇; 形式规范审核编辑部主任 马亚娟; 最终清样审核总编辑 马连生

## 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2019-09-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [wjgd@wjgnet.com](mailto:wjgd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司  
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

## Contents

Volume 27 Number 18 Sept 28, 2019

## EDITORIAL

1107 Abnormal regulation of non-coding RNAs plays a role in development and progression of hepatocellular carcinoma

*Liu SY*

1114 Clinical and pathological characteristics of cholangiolocellular carcinoma

*Yang XW, Fu XH, Zhang YJ*

## BASIC RESEARCH

1118 Protective effect of methylsulfonylmethane against ethanol-induced gastric ulcer in mice

*Wang T, Lin J*

1125 Correlation between abnormal activation of intestinal dendritic cells and PDIA3/STAT3 in visceral hypersensitivity mice

*Ma CG, Mao LQ, Ying X, Wang SS, Li M, Zhang L, Wang X, Lv B*

## CLINICAL RESEARCH

1133 Association of prealbumin/fibrinogen ratio with clinicopathologic characteristics of gastric cancer

*Zhang JB, Wang HH, Wang WB, Wang HY, Lu YM, Yu XF, Teng LS*

1142 Diversity of intestinal microflora in tibetan patients with liver cirrhosis based on high-throughput sequencing

*Huan H, Hu H, Chen XH, Gao WN, Li LL, Li J, Deng K, Liu C*

## REVIEW

1149 Gastric microflora and gastric disease

*Liu F, Liang T, Li YS, Bai S, Kang LL*

1155 Biological role of microRNA-146a

*Wu H, Fan H, Liu XX*

## CLINICAL PRACTICE

1161 Comparison of contrast-enhanced CT and contrast-enhanced ultrasound for assessing residual status of primary hepatocellular carcinoma after transcatheter arterial chemoembolization

*Huang HF, Pang Q*

## CASE REPORT

1167 Granular cell tumor of the esophagus: Report of one case and review of the Chinese literature

*Yun XJ, Bai YH, Jing CC*

## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 27 Number 18 Sept 28, 2019

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Huang Yan-Ping, Associate Chief Nurse, Department of Gastroenterology, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Science (CACMS), No.1, Xiyuancaozhang Road, Haidian District, Beijing 100091, China

### Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, CNKI, CSTJ and Superstar Journals Database.

### RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Li-Jun Cui* Electronic Editor: *Ji-Hong Liu* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Proof Editor: *Ya-Juan Ma* Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** September 28, 2019

#### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

#### ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

#### EDITOR-IN-CHIEF

**Ying-Sheng Cheng, Professor**, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

**Shuang-Suo Dang, Professor**, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

**Xue-Liang Jiang, Professor**, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

**Lian-Xin Liu, Professor**, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

**Zhan-Ju Liu, Professor**, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

**Bin Lv, Professor**, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

**Jun-Ping Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

**Xiao-Zhong Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

**Deng-Fu Yao, Professor**, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

**Zong-Ming Zhang, Professor**, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

#### EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

#### EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [wjcd@wjgnet.com](mailto:wjcd@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

#### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

#### PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

#### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

#### COPYRIGHT

© 2019 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

#### SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

#### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.



# 基于高通量测序技术的藏族肝硬化患者肠道菌群多样性研究

宦徽, 胡红, 陈小红, 高薇娜, 李玲丽, 李骥, 邓凯, 刘超

宦徽, 胡红, 陈小红, 高薇娜, 李玲丽, 李骥, 刘超, 四川大学华西医院  
成办分院消化内科 四川省成都市 610041

邓凯, 四川大学华西医院消化内科 四川省成都市 610041

宦徽, 主治医师, 主要从事消化病学研究方向.

基金项目: 西藏自治区自然科学基金, No. XZ2017ZRG-91.

作者贡献分布: 此文由胡红与邓凯协助设计指导; 由陈小红、高薇娜、  
李玲丽及李骥协助临床支持; 由刘超指导临床及课题设计; 由宦徽全面实  
施、数据分析及论文写作.

通讯作者: 刘超, 副主任医师, 610041, 四川省成都市武侯区洗面桥横街  
20号, 四川大学华西医院成办分院消化内科. liuchao-delta@126.com  
电话: 028-85599051

收稿日期: 2019-07-24

修回日期: 2019-08-15

接受日期: 2019-09-13

在线出版日期: 2019-09-28

## Diversity of intestinal microflora in tibetan patients with liver cirrhosis based on high-throughput sequencing

Hui Huan, Hong Hu, Xiao-Hong Chen, Wei-Na Gao, Ling-Li Li, Ji Li, Kai Deng, Chao Liu

Hui Huan, Hong Hu, Xiao-Hong Chen, Wei-Na Gao, Ling-Li Li, Ji Li, Chao Liu, Department of Gastroenterology, Hospital of Chengdu Office of People's Government of Tibetan Autonomous Region, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Kai Deng, Department of Gastroenterology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Supported by: Tibet Autonomous Region Natural Foundation, No. XZ2017ZRG-91.

Corresponding author: Chao Liu, Deputy Chief Physician, Department of Gastroenterology, Hospital of Chengdu Office of

People's Government of Tibetan Autonomous Region, No. 20, Ximianqiao Hengjie, Wuhou District, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. liuchao-delta@126.com

Received: 2019-07-24

Revised: 2019-08-15

Accepted: 2019-09-13

Published online: 2019-09-28

## Abstract BACKGROUND

A large number of studies have confirmed that intestinal flora imbalance exists in patients with liver cirrhosis, which provides new clues and ideas for clinical prevention and treatment of liver cirrhosis and its complications. The living environment and dietary habits of Tibetan people are different from those of Han people, so the structure and diversity of intestinal flora in Tibetan patients with liver cirrhosis may also be different.

## AIM

To explore the structure, abundance, and diversity of intestinal flora in Tibetan patients with cirrhosis, and to compare the differences and characteristics of intestinal flora between Tibetan and Han patients with cirrhosis.

## METHODS

Sixteen Chinese Han patients with liver cirrhosis (control group) and 20 Tibetans with liver cirrhosis (experimental group) were enrolled from October 2017 to October 2018. Basic information, routine blood examination, biochemical information, coagulation function, and imaging information of the patients were detected and collected. DNA was extracted from fecal samples and the V4 variable region of 16S rDNA was amplified. The amplification products were sequenced using the Illumina Miseq platform, and the sequencing results

were subject to cluster analysis of OTUs (operational taxonomic units), species annotation, and alpha diversity analysis.

## RESULTS

A total of 15006 and 36872 valid tags were obtained in the control and experimental groups, respectively. Chao1 index of the experimental group decreased significantly when compared to the control group, indicating a lower abundance of gut microbiota in the experimental group. Based on a 97% similarity, species annotation and the comparison of abundance between two groups were carried out. In the experimental group, at the phylum level, the relative abundance level of *Bacteroidetes* was significantly lower ( $P < 0.001$ ), while the relative abundance level of *Firmicutes* and *Actinobacteria* significantly increased ( $P < 0.01$  and  $P < 0.05$ ). At the genus level, the relative abundance of *Staphylococcus* and *Actinomycetes* decreased ( $P < 0.01$ ), while the relative abundance of *Lactobacillus* increased ( $P < 0.01$ ).

## CONCLUSION

There is a significant difference in the constitution of gut microbiota between Tibetan and Chinese Han patients with liver cirrhosis. This work for the first time reveals the feature of intestinal microbiota in Tibetan patients with liver cirrhosis, which lays a foundation for individual treatment of liver cirrhosis.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Tibetan; Liver cirrhosis; Gut microbiota; High-throughput sequencing

Huan H, Hu H, Chen XH, Gao WN, Li LL, Li J, Deng K, Liu C. Diversity of intestinal microflora in tibetan patients with liver cirrhosis based on high-throughput sequencing. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(18): 1142-1148  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1142.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1142>

## 摘要

### 背景

大量研究已证实肝硬化患者存在肠道菌群失调的现象, 这为临床防治肝硬化及并发症提供了新的线索与思路. 藏族人群生活环境和饮食习惯有别于汉族人群, 因而藏族肝硬化患者肠道菌群结构及多样性亦可能存在差异.

### 目的

探讨藏族肝硬化患者肠道菌群结构、丰度与多样性, 并对比汉族肝硬化患者肠道菌群的差异及特点.

### 方法

前瞻性纳入2017-10/2018-10四川大学华西医院成办

分院消化内科36例肝硬化患者, 其中20例藏族设为实验组, 16例汉族肝硬化患者设为对照组; 收集患者基本信息、血常规、生化、凝血功能、影像学等, 并采集大便标本, 提取基因组DNA并对细菌16S rRNA基因V4区进行PCR扩增, 应用Illumina Miseq平台进行高通量测序, 测序原始结果进行Reads拼接、操作分类单元(operational taxonomic units, OTUs)聚类、物种注释、Alpha多样性分析等, 最终得到样品的生物信息学结果.

## 结果

对照组和实验组分别获得15006和36872条有效序列, 在实验组中Chao1指数显著降低( $P < 0.01$ ), 实验组的物种丰富度较对照组显著降低. 基于97%的相似性进行物种注释, 对实验组和对照组进行微生物物种丰度比较. 结果显示, 相较于对照组, 在门水平上, 实验组中拟杆菌门显著减少( $P < 0.001$ ), 厚壁菌门和放线菌门在实验组中增加( $P < 0.01$ 和 $P < 0.05$ ); 在属水平上, 葡萄球菌属、放线菌属在实验组中显著减少( $P < 0.01$ ), 乳杆菌属显著增加( $P < 0.01$ ).

## 结论

藏族肝硬化患者的肠道微生物丰度明显低于汉族肝硬化患者, 肠道微生物组成存在着差异. 本研究首次展现了藏族肝硬化患者的肠道微生物组成特点, 为肝硬化的个性化治疗奠定了基础.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 藏族; 肝硬化; 肠道菌群; 高通量测序

**核心提要:** 通过肠道菌群高通量测序, 探讨藏族肝硬化患者肠道菌群结构、丰度与多样性, 并对比汉族肝硬化患者肠道菌群的差异及特点. **结论:** 藏族肝硬化患者的肠道微生物丰度明显低于汉族肝硬化患者, 肠道微生物组成存在着差异.

宦徽, 胡红, 陈小红, 高薇娜, 李玲丽, 李骥, 邓凯, 刘超. 基于高通量测序技术的藏族肝硬化患者肠道菌群多样性研究. *世界华人消化杂志* 2019; 27(18): 1142-1148

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1142.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1142>

## 0 引言

在我国, 肝硬化占有所有疾病的1.39%, 占全部肝病住院病例的51.1%, 是我国最严重的公共卫生问题之一, 而在藏区这一疾病的高发性尤为突出. 大量研究证实在肝硬化患者中明显存在肠道菌群失调的现象. 藏族人群生活环境和饮食习惯有别于汉族人群, 这些差异可能影响肠道菌群, 目前缺乏藏族肝硬化患者肠道菌群的研究, 国内

国外均未见报道, 亟待相关研究填补空白. 本研究对比藏族肝硬化与汉族肝硬化患者肠道菌群差异, 为下一步探索个性化治疗提供依据.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 前瞻性纳入2017-10/2018-10四川大学华西医院成办分院消化内科41例肝硬化患者. 纳入标准: (1)肝硬化患者(存在可引起肝硬化的病因; 存在门静脉高压和或肝功能障碍表现; 腹部CT或彩超等影像学证据支持); (2)年龄18-75岁; (3)同意参加本临床研究并签署知情同意书(2017研第10号). 排除标准: (1)有外科分流、肝叶切除、肝移植手术等肝脏手术史者; (2)未控制的感染或败血症; (3)合并恶性肿瘤患者; (4)近2 wk内使用抗生素、类固醇等激素和益生菌制剂; (5)恶病质; (6)妊娠期或哺乳期女性; (7)1 mo内有肠道感染病史者; (8)存在重要器官功能衰竭的患者; (9)藏族患者离开高原环境2 wk以上, 且饮食习惯发生明显改变者.

其中, 1例因存在重要器官功能衰竭; 2例藏族患者因离开高原环境2 wk以上且饮食习惯发生明显改变; 1例合并恶性肿瘤; 1例近2 wk内使用抗生素被排除, 最终36例纳入本研究. 将此中20例藏族肝硬化患者设为实验组; 16例汉族肝硬化患者设为对照组. 收集患者基本信息、血常规、生化、凝血功能、影像学等.

### 1.2 方法

**1.2.1 粪便样本的收集与DNA提取:** 采集36例肝硬化患者的大便标本(在清洁环境中采集研究对象的新鲜粪便(不少于6 g), 采集到的粪便样本立即放入-80 °C冰箱进行冻存. 采用DNA提取试剂盒(DNeasy PowerSoil Kit, 天根生化科技有限公司, 中国北京)对粪便样本的总DNA进行提取, 提取方法参考试剂盒操作说明书. 提取得到的总DNA用琼脂糖凝胶电泳检测其完整性, 并用NanoDrop检测DNA的浓度. 检测合格的DNA放入-20 °C冻存待下一步的操作.

**1.2.2 16S rRNA基因V4区扩增与测序结果分析:** 使用16S rRNA基因通用引物343F(5'-TACGGRAGGCAGCAG-3')和798R(5'-AGGGTATCTAATCCT-3')对V4区可变区进行PCR扩增, 扩增产物应用Illumina Miseq平台进行高通量测序, 由上海欧易生物医学科技有限公司完成(中国上海). 采用QIIME 1.8.0软件对测序原始结果进行过滤, 过滤得到的clean tags按照97%的相似性进行操作分类单元(operational taxonomic units, OTUs)聚类, 对分类的OTUs进行物种注释分析, 并进行Alpha多样性计算, 包括香农(Shannon)指数、辛普森(Simpson)指数和丰富度指数Chao1. 此外, 根据分类学层次门和属分析微生物的群落结构以及物种丰度.

**统计学处理** 采用SPSS 19.0软件进行统计学分析.

呈正态分布的计量资料以mean±SD表示, 比较采用方差分析; 非正态分布, 资料以中位数及四分位数表示, 比较采用Kruskal-Wallis检验. 计数资料以例数和百分数表示, 比较采用 $\chi^2$ 检验. 基于Illumina Miseq测序平台获得关于肠道细菌16S rDNA的测序结果, 并在对原始数据进行质量控制后, 采用相应的生物数据分析方法比较各组肠道菌群情况.  $P<0.05$ 认为有统计学差异.

## 2 结果

**2.1 一般资料** 两组在性别、年龄、白蛋白、总胆红素、PT、腹水及Child-Pugh评分均无显著差异(表1).

**2.2 测序质量统计** 收集到的36个样本进行16S rDNA基因序列测序, 利用QIIME软件对原始序列进行过滤, 最终对照组和实验组分别得到平均19963和48338条clean tags, 其中有效tags分别为15006(75.17%)和36872(76.28%), 有效tags平均读长分别为428 bp和431 bp. Shannon指数稀释曲线显示在Shannon指数为4-6时, 绝大多数样本的稀释曲线趋向平坦, 说明测序深度合理(图1).

**2.3 Alpha多样性分析** Alpha多样性是对样本中物种多样性的分析, 基于OTU种类和丰度计算Chao1、Shannon指数和Simpson指数. 实验组和对照组的各样本的覆盖度均大于99%, 说明本次测序所检测到的微生物物种能够覆盖样本中大多数的物种, 与Shannon指数稀释曲线的结果一致. Chao1指数反映样本中物种的丰度, 即OTU的数量. Chao1值越大代表物种总数越多, 表明丰富度越高. 如图2A, 实验组的Chao1指数为332.30, 对照组的Chao1指数为493.38, 实验组的物种丰富度较对照组显著降低( $P<0.01$ ), 说明藏、汉肝硬化患者肠道微生物物种丰度有显著差异.

Shannon和Simpson指数用于反映群落的多样性, 包括物种丰度和物种均匀度, Shannon越大和Simpson指数越小, 样品中的物种多样性越高. 结果显示, 实验组的Shannon指数中值为5.15略低于对照组的5.98, 但差异并不显著( $P=0.060$ ). Simpson指数中值实验组与对照组分别为0.936与0.949, 差异无统计学意义( $P=0.632$ )(图2B、C).

**2.4 肠道菌群的结构与优势菌群分析** 与Ribosomal Database Project数据库进行相似性比对以及物种注释, 在门和属两个分类层次下对各个样品的物种丰度进行统计. 在门水平下, 两组均以拟杆菌门和厚壁菌门的丰度最高, 其中拟杆菌门对照组与实验组丰度百分比分别占到61.76%和36.86%, 实验组显著减少( $P<0.001$ ); 厚壁菌门分别占到32.95%和48.24%, 实验组显著增加( $P<0.01$ ); 其次, 丰度较高的是放线菌门对照组与实验组分别是2.10%和6.62%, 实验组增加( $P<0.05$ ). 同样丰度较



表 1 一般情况及肝功对比

组别	例数	性别(男/女(例))	年龄(岁)	白蛋白(g/L)	总胆红素(mmol/L)	PT (s)	肝性脑病(例)	腹水(例)	Child-Pugh(分)
实验组	20	16/4	51.20 ± 11.18	34.88 ± 6.27	21.68 ± 10.70	14.26 ± 1.87	1	11	6.9
对照组	16	13/3	49.18 ± 10.67	35.40 ± 6.99	19.83 ± 9.82	13.79 ± 1.76	3	9	6.5
P值		0.261	0.583	0.798	0.558	0.410	0.472	0.940	0.473

PT: 凝血酶原时间.

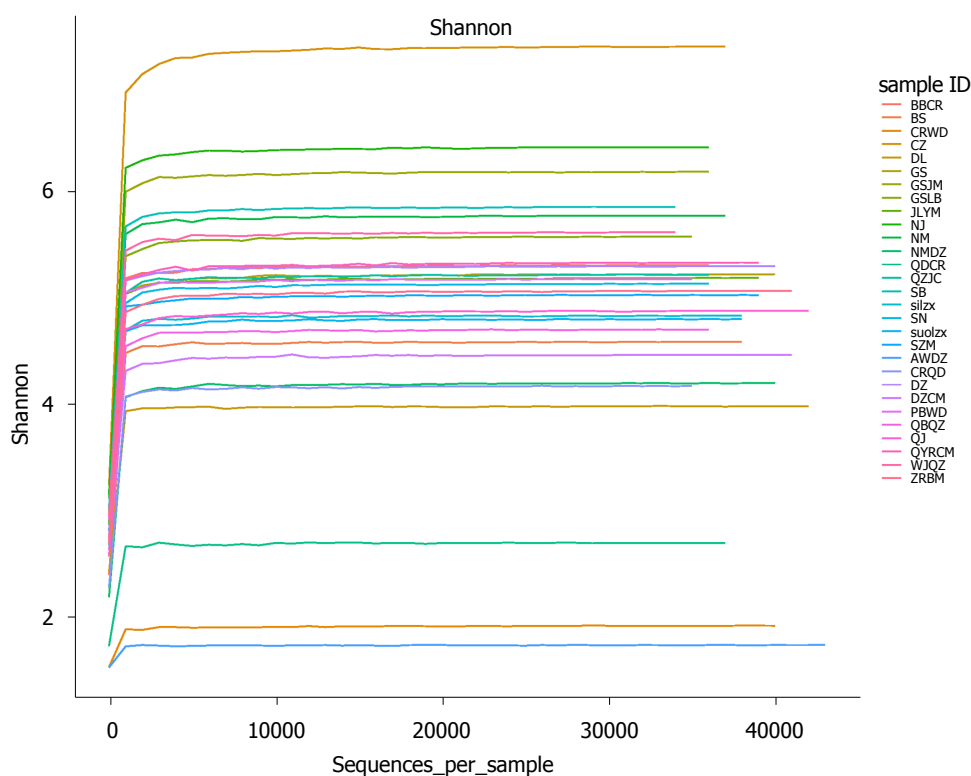


图 1 各样本肠道菌群Shannon指数曲线.

高的变形菌门、梭杆菌门实验组分别占比为3.09%和0.06%, 对照组为8%和0.05%, 但两组比较差异均不显著 ( $P>0.05$ )(图3).

在属水平上, 对照组和实验组的top15优势菌主要有普氏菌属\_9、拟杆菌属、粪杆菌属、普氏菌属\_2、双歧杆菌属、乳杆菌属、链球菌属、志贺氏埃希菌属、假丁酸弧菌属、布劳特氏菌属、*Lachnoclostridium*、另枝菌属、*Subdoligranulum*、拟普雷沃菌属、长奈瑟氏菌. 如图4, 实验组与对照组的肠道微生物组成由明显差异, 普氏菌属\_9为对照组的主要优势菌, 而实验组的菌群组成更加复杂. 与对照组相比, 实验组葡萄球菌、放线菌明显减少, 差异显著 ( $P<0.01$ ); 乳杆菌属明显增加, 差异显著 ( $P<0.01$ ).

### 3 讨论

肝脏与消化道毗邻, 因其特殊的解剖位置, 可形成所谓

的肝-肠轴, 肝脏因此成为抵御抗原、细菌和细菌产物等的第一道防线. 大量研究已充分证实肝硬化患者中明显存在肠道菌群失调的现象, 主要表现为固有定植菌的减少, 非固有定植菌的增多, 其中以厌氧菌及革兰氏阴性杆菌增多更为明显<sup>[1-4]</sup>. 然而, 肠道菌群失调与肝硬化之间是否存在因果关系及其具体病理生理机制目前仍不清楚. 有研究推测肠道菌群失调可通过改变胆汁酸生成, 增加肠道黏膜通透性, 引起细菌移位及小肠细菌过度生长等方式共同参与肝硬化及其并发症的发病过程<sup>[5,6]</sup>. 如肠道菌群失调参与细菌移位、内毒素血症、甚至肝性脑病、自发性细菌性腹膜炎等的发生. 有报道证实肝性脑病患者中肠道微生物平衡失调可导致细菌抗原移位, 从而促进炎症反应的发生, 损伤宿主肠道黏膜屏障的抵御机制, 参与门静脉高压、肝性脑病等的发病机制<sup>[5,7]</sup>. 还有研究发现随着肝脏疾病恶化, 肝硬化患者的肠道菌群也会随之改变, 其中微生物基因组中

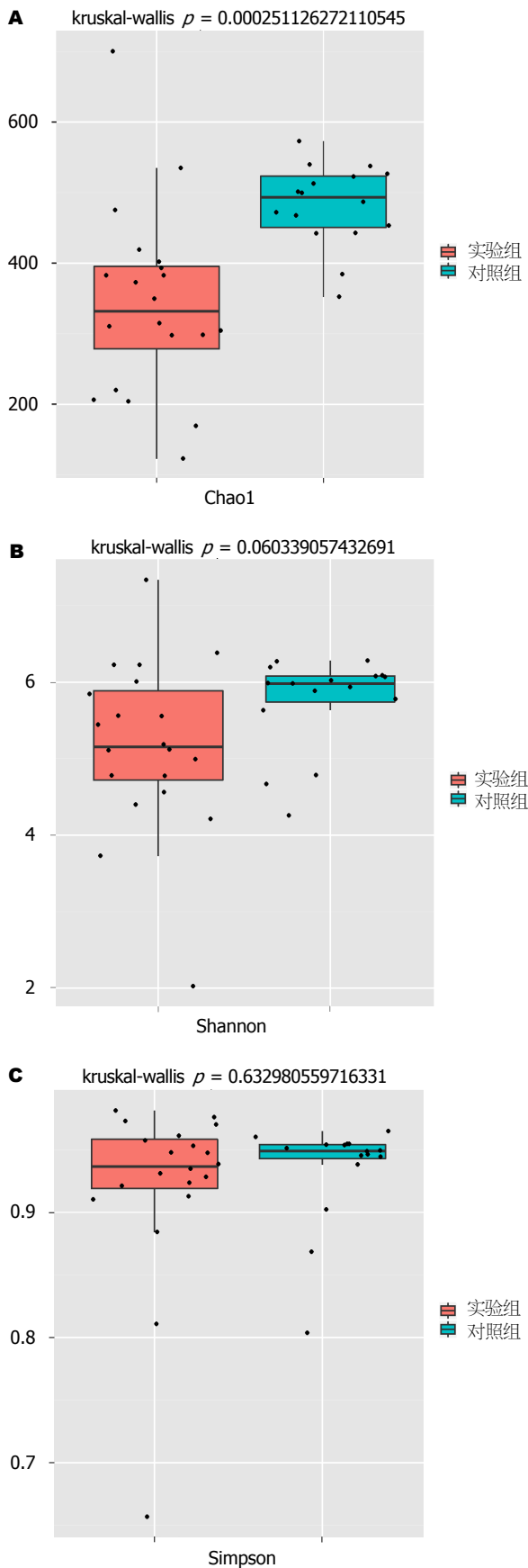


图 2 Alpha多样性分析. A: 两组Chao1指数对比; B: 两组Shannon指数对比; C: 两组Simpson指数对比.

丰度较高的细菌种属与疾病的严重性有明显关系<sup>[8]</sup>.

高通量Illumina测序可检测不可人工培养的肠道细菌, 测序快速且结果准确度高, 可全面反应复杂样品的微生物群落的组成, 是目前微生物多样性研究的重要技术手段之一<sup>[9]</sup>. 本研究采用该技术对16S rDNA的V4可变区进行测序, 首次开展藏族肝硬化人群肠道细菌菌落组成分析. 研究对20例藏族肝硬化患者(实验组)和16例汉族肝硬化患者(对照组)粪便样本中微生物的多样性和群落结构进行了初步分析, Chao1指数在实验组和对照组之间有显著差异( $P < 0.05$ ), 说明种族会对肝硬化患者的微生物丰度产生影响, 藏族肝硬化患者的微生物丰度相较于汉族肝硬化患者降低. 物种丰度统计分析结果显示, 在门水平上, 两组的微生物种类主要有拟杆菌门、厚壁菌门、放线菌门、变形菌门、梭杆菌门, 其中拟杆菌门在实验组中显著减少( $P < 0.001$ ), 而厚壁菌门和放线菌门在实验组中增加( $P < 0.01$ 和 $P < 0.05$ ); 在属水平上, 两组的前15微生物种类主要有普氏菌属\_9、拟杆菌属、粪杆菌属、普氏菌属\_2、双歧杆菌属、乳杆菌属、链球菌属、志贺氏埃希菌属、假丁酸弧菌属、布劳特氏菌属、*Lachnoclostridium*、另枝菌属、*Subdoligranulum*、拟普雷沃菌属、长奈瑟氏菌, 其中葡萄球菌属、放线菌属在实验组中显著减少( $P < 0.01$ ), 乳杆菌属显著增加( $P < 0.01$ ).

实验组中拟杆菌门和厚壁菌门丰度百分比的显著改变将会对F/B值(厚壁菌门/拟杆菌门丰度比值)造成较大的影响, F/B是衡量肠道菌群失调的标准之一, F/B值的改变说明在藏族肝硬化患者和汉族肝硬化患者之间存在不同程度的肠道菌群失调, 将会对肝硬化的进一步发展以及并发症的发生造成不同程度的影响<sup>[10]</sup>. 藏族人群世居青藏高原, 独特的环境气候也使藏族人群形成了独特的饮食习惯. 在藏族人群的日常饮食中, 肉类(例如牛肉、羊肉等)和发酵类食品(例如酸奶)为主要食材, 而对于碳水化合物、蔬菜和水果的摄入较少<sup>[11]</sup>. 此外, 也有报道表明人种所带来的基因上的差异也是造成藏汉肠道微生物组成差异的原因之一<sup>[12]</sup>. 由此可见, 了解藏族肝硬化患者的肠道微生物组成将是建立肝硬化个性化治疗方案的重要基础, 有利于藏族肝硬化患者的治疗及预后的改善. 本研究利用16S rDNA测序技术初步探索了藏族肝硬化患者的肠道微生物组成特点, 为进一步了解藏族肝硬化患者的肝硬化的发展进程奠定了基础, 同时为失代偿性肝硬化的个性化治疗及预后的改善提供方向. 但基于本研究病例数较少, 不可避免地存在偏倚, 因此需要更多大样本、多中心、多层次的随机对照研究进一步证实.

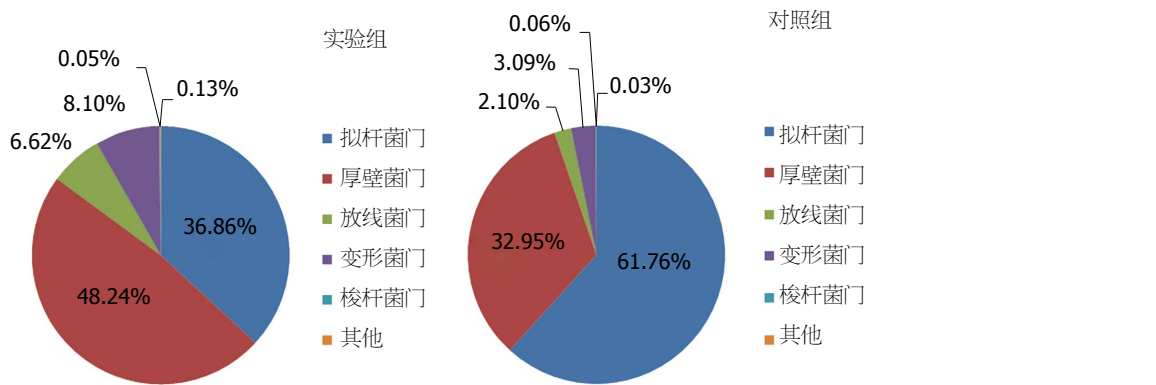


图 3 两组肠道菌群门水平比较。

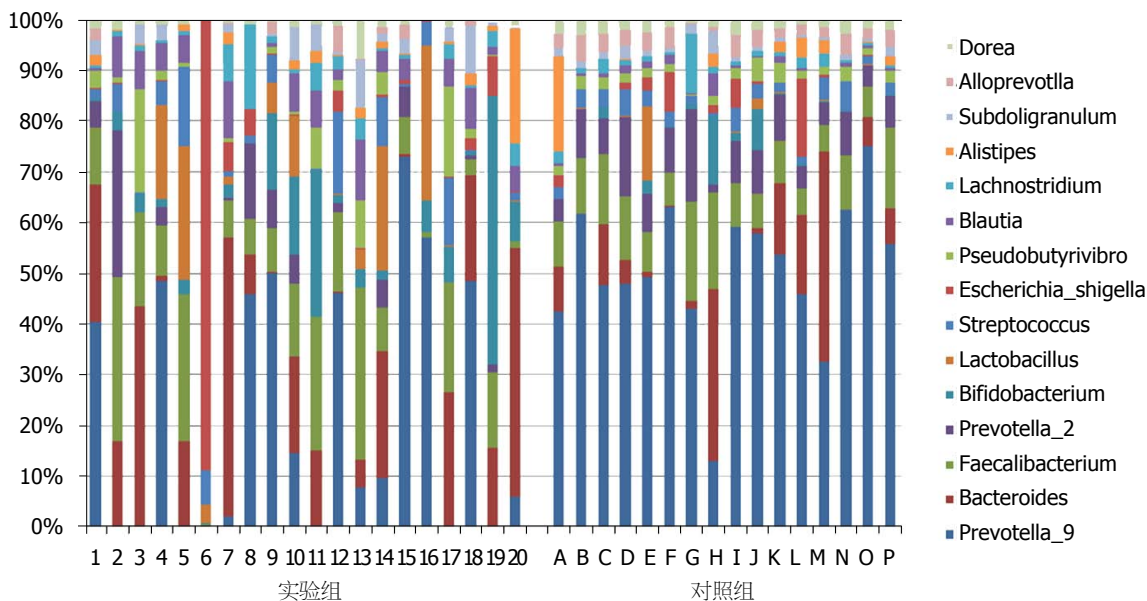


图 4 微生物种水平相对丰度统计分析实验组(1-20)和对照组(A-P). *Prevotella\_9*: 普氏菌属\_9; *Bacteroides*: 拟杆菌属; *Faecalibacterium*: 粪杆菌属; *Prevotella\_2*: 普氏菌属\_2; *Bifidobacterium*: 双歧杆菌属; *Lactobacillus*: 乳杆菌属; *Streptococcus*: 链球菌属; *Escherichia\_shigella*: 志贺氏埃希菌属; *Pseudobutyrvibrio*: 假丁酸弧菌属; *Blautia*: 布劳氏菌属; *Alistipes*: 另枝菌属; *Alloprevotella*: 拟普雷沃菌属; *Dorea*: 长奈瑟氏菌。

## 文章亮点

### 实验背景

肝硬化是我国最严重的公共卫生问题之一,而在藏区这一疾病的高发性尤为突出。大量研究已充分证实肝硬化患者中明显存在肠道菌群失调的现象,主要表现为固有定植菌的减少,非固有定植菌的增多。这为临床防治肝硬化及并发症提供了新的线索与思路。揭示肝硬化患者肠道菌群的特征,将有助于进一步认识肠道微生态与肝硬化的关系,必将推进肠道微生态在肝硬化综合治疗中的地位。由于藏族人群所生活的环境和饮食习惯及构成均不同于普通人群,这些因素均参与人体肠道微生态的形成,也必将导致藏族人群肠道菌群特征也不同于普通人群,因此很有必要专门针对藏族人群肠道菌群特

征进行针对性研究。然而目前针对藏族人群肠道菌群特征,特别是针对藏族肝硬化患者肠道菌群的研究,国内外均未见报道,亟待相关研究填补空白。因此本研究拟针对藏族肝硬化肠道微生态进行针对性研究,旨在揭示藏族人群中肠道菌群特征与肝硬化及相关并发症的关系。

### 实验动机

进一步认识肠道微生态与肝硬化的关系,为临床防治藏族肝硬化及并发症提供新的线索与思路。

### 实验目标

对比藏、汉族肝硬化患者肠道菌群的差异,探讨可能的内在联系。

## 实验方法

收集纳入受试者新鲜粪便, 迅速于-80 °C度冰箱保存, 同时收集受试者临床相关资料. 16S rRNA测序及数据分析(高通量测序): (1)肠道微生物DNA提取; (2)荧光定量PCR反应; (3)PCR产物凝胶电泳; (4)PCR产物混合及纯化; (5)测序分析: 将纯化的PCR混合产物使用Illumina Miseq测序平台行双端测序, 并根据测序结果行相应的生物数据统计分析. 测序技术可以在不需要培养的条件下进行混合细菌的鉴定, 特别是一些目前还无法培养的细菌可通过测序分析, 极大丰富了肠道微生物的数据库. 特别是高通量是测序技术, 针对大样本的研究, 只要能够提供满足测序要求的DNA, 就可以对样本中可能存在的微生物进行分析.

## 实验结果

本研究达到了试验目标, 结果显示实验组的Chao1指数为332.30, 对照组的Chao1指数为493.38, 实验组的物种丰富度较对照组显著降低( $P<0.01$ ), 说明藏、汉肝硬化患者肠道微生物物种丰度有显著差异. 在反映群落的多样性的Shannon、Simpson指数上, 两组对比差异无统计学意义. 基于97%的相似性进行物种注释, 对实验组和对照组进行微生物物种丰度及构成比上, 门水平上实验组中拟杆菌门显著减少( $P<0.001$ ), 厚壁菌门和放线菌门在实验组中增加( $P<0.01$ 和 $P<0.05$ ); 在属水平上, 葡萄球菌属、放线菌属在实验组中显著减少( $P<0.01$ ), 乳杆菌属显著增加( $P<0.01$ ). 说明藏、汉族肝硬化患者的肠道微生物肠道微生物构成比存在着差异. 上述发现, 填补了目前有关藏族肝硬化患者肠道菌群特征的空白.

## 实验结论

本研究发现藏族肝硬化患者的肠道微生物丰度明显低于汉族肝硬化患者, 肠道微生物组成存在着差异. 推测可能与高原环境、饮食习惯及基因差异等有关. 这些差异可能参与了肝硬化疾病的发展, 如果能进一步明确这些有差异的微生物的功能与代谢机制, 阐明微生物与疾病的内在联系, 可为肝硬化的个性化治疗提供可行方案.

## 展望前景

本研究首次展现了藏族肝硬化患者的肠道微生物组成特点, 下一步可探究微生物的功能与代谢机制, 进一步

探讨微生物与疾病的内在联系, 为肝硬化的个性化治疗, 提供更详实的理论基础及可行方案.

## 4 参考文献

- 1 Bajaj JS, Hylemon PB, Ridlon JM, Heuman DM, Daita K, White MB, Monteith P, Noble NA, Sikaroodi M, Gillevet PM. Colonic mucosal microbiome differs from stool microbiome in cirrhosis and hepatic encephalopathy and is linked to cognition and inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 303: G675-G685 [PMID: 22821944 DOI: 10.1152/ajpgi.00152.2012]
- 2 Bajaj JS, Ridlon JM, Hylemon PB, Thacker LR, Heuman DM, Smith S, Sikaroodi M, Gillevet PM. Linkage of gut microbiome with cognition in hepatic encephalopathy. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 302: G168-G175 [PMID: 21940902 DOI: 10.1152/ajpgi.00190.2011]
- 3 Qin N, Yang F, Li A, Prifti E, Chen Y, Shao L, Guo J, Le Chatelier E, Yao J, Wu L, Zhou J, Ni S, Liu L, Pons N, Batto JM, Kennedy SP, Leonard P, Yuan C, Ding W, Chen Y, Hu X, Zheng B, Qian G, Xu W, Ehrlich SD, Zheng S, Li L. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis. *Nature* 2014; 513: 59-64 [PMID: 25079328 DOI: 10.1038/nature13568]
- 4 Tuomisto S, Pessi T, Collin P, Vuento R, Aittoniemi J, Karhunen PJ. Changes in gut bacterial populations and their translocation into liver and ascites in alcoholic liver cirrhosis. *BMC Gastroenterol* 2014; 14: 40 [PMID: 24564202 DOI: 10.1186/1471-230X-14-40]
- 5 Macnaughtan J, Jalan R. Clinical and pathophysiological consequences of alterations in the microbiome in cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2015; 110: 1399-410; quiz 1411 [PMID: 26416191 DOI: 10.1038/ajg.2015.313]
- 6 Wiest R, Lawson M, Geuking M. Pathological bacterial translocation in liver cirrhosis. *J Hepatol* 2014; 60: 197-209 [PMID: 23993913 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.07.044]
- 7 Gómez-Hurtado I, Such J, Francés R. Microbiome and bacterial translocation in cirrhosis. *Gastroenterol Hepatol* 2016; 39: 687-696 [PMID: 26775042 DOI: 10.1016/j.gastrohep.2015.10.013]
- 8 Bajaj JS, Heuman DM, Hylemon PB, Sanyal AJ, White MB, Monteith P, Noble NA, Unser AB, Daita K, Fisher AR, Sikaroodi M, Gillevet PM. Altered profile of human gut microbiome is associated with cirrhosis and its complications. *J Hepatol* 2014; 60: 940-947 [PMID: 24374295 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.12.019]
- 9 Woo PC, Lau SK, Teng JL, Tse H, Yuen KY. Then and now: use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14: 908-934 [PMID: 18828852 DOI: 10.1111/j.1469-0691.2008.02070.x]
- 10 Acharya C, Bajaj JS. Gut Microbiota and Complications of Liver Disease. *Gastroenterol Clin North Am* 2017; 46: 155-169 [PMID: 28164848 DOI: 10.1016/j.gtc.2016.09.013]
- 11 Li K, Dan Z, Gesang L, Wang H, Zhou Y, Du Y, Ren Y, Shi Y, Nie Y. Comparative Analysis of Gut Microbiota of Native Tibetan and Han Populations Living at Different Altitudes. *PLoS One* 2016; 11: e0155863 [PMID: 27232599 DOI: 10.1371/journal.pone.0155863]
- 12 Li L, Zhao X. Comparative analyses of fecal microbiota in Tibetan and Chinese Han living at low or high altitude by barcoded 454 pyrosequencing. *Sci Rep* 2015; 5: 14682 [PMID: 26443005 DOI: 10.1038/srep14682]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红







Published by **Baishideng Publishing Group Inc**  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,  
CA 94588, USA  
Fax: +1-925-223-8242  
Telephone: +1-925-223-8242  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<https://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

