

鼻腔菌群多样性与慢性鼻窦炎伴鼻息肉 手术预后相关性分析*

杨凤娟¹ 甘卫刚¹ 刘锋¹ 鲜均明¹ 刘世喜¹ 孟娟¹

[摘要] 目的:比较慢性鼻窦炎伴鼻息肉(CRSwNP)术后复发与非复发患者鼻腔菌群多样性的差异,为 CRSwNP 治疗及预后判断提供新思路 and 依据。方法:纳入 48 例 CRSwNP 为实验组以及 33 例具有 FESS 手术指征且未合并鼻窦炎症疾病的鼻中隔偏曲、鼻腔鼻窦内翻乳头状瘤、垂体腺瘤、慢性泪囊炎、视神经管骨折等患者为对照组,采用 16S rRNA 高通量测序法对术中采集的中鼻道分泌物进行菌群检测,比较 CRSwNP 术前与对照组的菌群差异。CRSwNP 患者术后进行 1 年随访,观察是否复发,并再次集中鼻道分泌物进行菌群检测,分别比较 CRSwNP 非复发组与复发组术后菌群与术前菌群的差异。结果:术后 1 年内,12 例 CRSwNP 复发,复发率 25%。复发组病史长于非复发组($P=0.018$),且复发组术前 CT 评分($P=0.001$)、鼻息肉大小评分($P=0.004$)以及鼻后滴漏症状严重程度($P=0.032$)明显高于非复发组。CRSwNP 术前与对照组菌群丰富度、 α 多样性、 β 多样性比较差异无统计学意义,但放线菌门(FDR $P=0.004$)以及棒状杆菌属(FDR $P=0.005$)相对丰度(MRA)较对照组明显降低。非复发组患者术后放线菌门(FDR $P=0.012$)以及棒状杆菌属(FDR $P=0.003$) MRA 较术前增高,拟杆菌门(FDR $P=0.040$) MRA 较术前降低;而复发组术前、术后鼻腔菌群无明显变化。结论:CRSwNP 与鼻腔菌群失调有关,且术后菌群失调是否改善与 CRSwNP 预后有相关性。

[关键词] 慢性鼻窦炎伴鼻息肉;菌群多样性;菌群失调;复发;预后

doi:10.13201/j.issn.2096-7993.2020.09.008

[中图分类号] R765.4 **[文献标志码]** A

The correlation between nasal bacterial microbiome diversity and surgical prognosis for chronic sinusitis with nasal polyp

YANG Fengjuan GAN Weigang LIU Feng XIAN Junming LIU Shixi MENG Juan

(Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, West China School of Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, 610041, China)

Corresponding author: MENG Juan, E-mail: mjmjmelinda@163.com

Abstract Objective: To compare the nasal microbiota diversity between chronic rhinosinusitis with nasal polyp(CRSwNP) patients and controls, postoperative recurrent with non-recurrent CRSwNP, in order to provide new sight in CRSwNP treatment and prognosis. **Method:** Forty-eight patients with CRSwNP were recruited as the experimental group, and 33 patients who underwent FESS and had no sinus inflammatory disease, including nasal septum deviation, inverted papilloma, pituitary adenomas, chronic dacryocystitis, or optical canal fractures, were recruited as control group. High-throughput sequencing of 16S rRNA was used to detect the bacterial communities in the nasal secretion which was collected from middle meatus during the operation. The difference of the microbiota diversity between CRSwNP and controls was compared. Patients with CRSwNP were followed up for 1 year after surgery to observe whether they had relapsed or not, and nasal secretions were collected again for bacterial microbiota detection. The difference between postoperative and preoperative microbiota of the non-recurrent CRSwNP were compared, and the difference between postoperative and preoperative microbiota of the recurrent CRSwNP were compared. **Result:** One year after surgery, 12 cases of CRSwNP recurred(recurrent rate 25%). The clinical history of the recurrent group was longer than that of the non-recurrent group($P=0.018$), and the preoperative CT score($P=0.001$), nasal polyp size score($P=0.004$) and the severity of postnasal drip symptom($P=0.032$) in the recurrent group were significantly higher than non-recurrent group. Comparing the preoperative nasal microbiota of CRSwNP with control, there was no significant difference about the richness, α diversity and β diversity, but the relative abundance of Actinobacteria(FDR $P=0.004$) and Corynebacterium(FDR $P=0.005$) of CRSwNP were significantly lower than that of control. After operation, the relative abundance of Actinobacteria(FDR $P=0.012$) and Corynebacterium(FDR $P=0.003$) increased, while the Bacteroidetes(FDR $P=0.040$) decreased in the non-recurrent CRSwNP; However, there was no change in the nasal bacterial microbiota in the recurrent group. **Conclusion:** CRSwNP was associated with nasal bacterial dysbiosis, and the postoperative

*基金项目:国家自然科学基金(No:81570900);四川省科技厅国际合作项目(No:2018HH0097)

¹四川大学华西医院耳鼻咽喉头颈外科(成都,610041)

通信作者:孟娟, E-mail: mjmjmelinda@163.com

improvement of dysbiosis was correlated with the prognosis of CRSwNP.

Key words chronic sinusitis with nasal polyps; bacterial microbiome diversity; microbial dysbiosis; recurrence; prognosis

慢性鼻窦炎(chronic rhinosinusitis, CRS)是鼻部常见慢性炎症性疾病,发病率在欧洲国家约为 10.9%^[1],美国为 11.9%^[2],在我国也高达 8.0%^[3]。CRS 除症状引起不适、影响患者生活质量外,对下气道,例如哮喘、慢性阻塞性肺疾病的发病亦有显著影响。CRS 临床表型根据是否合并鼻息肉(nasal polyps, NP)分为慢性鼻窦炎伴鼻息肉(CRSwNP)以及慢性鼻窦炎不伴鼻息肉(CRSsNP)两大类型。近年来,虽然鼻科学领域对 CRSwNP 病理生理机制进行了广泛、深入研究,取得了很大进展,鼻用激素、大环内酯类抗炎药物应用增多, FESS 技术和设备不断进步,但 CRSwNP 术后复发问题仍是临床难点。

既往研究表明 CRSwNP 的发病机制与鼻腔定植菌群密切相关。研究证实金黄色葡萄球菌可通过诱导鼻腔黏膜固有免疫反应、释放超抗原和形成生物膜来参与 CRS 的发生发展^[4]。本团队前期研究对 CRSwNP 患者鼻腔分泌物进行细菌培养,发现在中国西南地区, IL-5+CRSwNP 革兰阳性细菌定植高于对照以及 IL-5/IL-17/IFN γ 均无表达的以嗜中性炎症类型为主的 CRSwNP;而 IL-5/IL-17/IFN γ 均无表达的 CRSwNP,革兰阴性细菌定植高于对照,提示鼻腔细菌定植状态可能影响 CRSwNP 内在表型^[5]。由于培养条件的限制,只有 <1% 的人体细菌可在实验室中培养出来,而目前高通量测序技术在微生物多样性研究中的应用,能够突破传统微生物分离培养和显微镜观察等手段对微生物研究的限制,极大地拓展了微生物与人体疾病相关研究的深度和广度。最近研究使用 16sRNA 测序技术,发现 CRSwNP 患者鼻腔菌群的丰富度明显低于正常人群,且放线菌门(尤其是棒状杆菌属)以及拟杆菌属在 CRSwNP 鼻腔定植相对丰度(mean relative abundance, MRA)明显低于正常人群^[6],提示鼻腔菌群分布以及不同菌群之间的相互作用很可能在 CRSwNP 发病机制中起了非常重要的作用。

本研究采用 16S rRNA 高通量测序法,分析 CRSwNP 术后复发与非复发患者中鼻道菌群多样性的差异,为 CRSwNP 的诊治及预后判断提供新的思路 and 依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2017-02—2018-02 在我院耳鼻咽喉头颈外科因 CRSwNP 行 FESS 手术治疗患者 59 例,且手术均为同一术者完成。其中 11 例未能按期随访

或失访,实际完成随访 48 例,故最终纳入 48 例 CRSwNP 患者作为 CRSwNP 组。纳入标准:①年龄 > 18 岁;② CRSwNP 诊断标准根据 EPOS 指南^[7],结合病史、体格检查、鼻内镜检查和鼻部 CT 进行诊断;③术前 1 个月内未局部或系统使用过激素、抗生素、抗真菌药;④既往未接受过鼻内镜手术;⑤术后完成 1 年随访。选取因鼻中隔偏曲、鼻腔鼻窦内翻乳头状瘤、垂体腺瘤、慢性泪囊炎、视神经管骨折等,具有 FESS 手术指征且未合并鼻窦炎症疾病的 33 例患者作为对照组。Lund-Mackay 评分表用于鼻窦 CT 检查结果评估, Davos 评分方法用于描述鼻息肉大小及累及范围,症状严重程度使用 VAS 评分系统进行评估。所有患者术后均遵医嘱规律使用鼻内激素及进行盐水鼻腔冲洗,于术后 1 个月、3 个月、半年及 1 年进行随访。本研究经我院伦理委员会批准,所有患者入组前均签署知情同意书。CRSwNP 组和对照组患者年龄分布及性别构成比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。CRSwNP 组患者术后 1 年未复发 36 例(非复发组),复发 12 例(复发组),复发率为 25%。复发组男 8 例,女 4 例,年龄(44.67 ± 20.58)岁, BMI(22.17 ± 3.58) kg/m²;非复发组男 18 例,女 18 例,年龄(48.61 ± 14.33)岁, BMI(23.71 ± 3.74) kg/m², 2 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);复发组病史长于非复发组,且复发组术前 CT 评分、鼻息肉大小评分及鼻后滴漏症状严重程度明显高于非复发组($P < 0.05$),见表 1。

1.2 标本采集

术中标本采集在全身麻醉后,使用肾上腺素棉片收缩鼻腔黏膜前进行。予以无菌拭子经内镜引导至中鼻道区,旋转 5 圈,放置至少 1 min 直至棉签头部完全浸湿饱和。棉签进出鼻腔时,避免接触鼻前庭及鼻面部其他区域,若接触非目标区域而受到污染则需丢弃拭子。采集到的标本置入 2 mL 无菌无酶 Corning 冻存管,暂存冰盒中,2 h 内运送至实验室并存储于 -80℃ 冰箱,直至 DNA 提取。术后标本采集在鼻内镜下进行,方法与术中相同。非复发组在术后 1 年进行标本采集,复发组在随访发现复发时进行标本采集。

1.3 DNA 抽提和 PCR 扩增

根据 E. Z. N. A.[®] soil 试剂盒使用说明提取微生物总 DNA,用 338F(5'-ACT CCT ACG GGA GGC AGC AG-3')和 806R(5'-GGA CTA CHV GGG TWT CTA AT-3')引物对 V3-V4 可变区进行 PCR 扩增,扩增程序为:95℃ 预变性 3 min, 27

个循环(95℃变性 30 s, 55℃退火 30 s, 72℃延伸 30 s), 最后 72℃延伸 10 min(PCR 仪: ABI GeneAmp® 9700 型)。

1.4 Illumina Miseq 测序

使用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物, 利用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit(Axygen Biosciences, Union City, CA, USA) 进行纯化, Tris-HCl 洗脱, 2% 琼脂糖电泳检测。利用 QuantiFluor™-ST(Promega, USA) 进行检测定量。根据 Illumina MiSeq 平台(Illumina, San Diego, USA) 标准操作

规程将纯化后的扩增片段构建 PE 2×300 的文库。利用 Illumina 公司的 Miseq PE300 平台进行测序。

原始测序序列使用 Trimmomatic 软件质控, 使用 FLASH 软件进行拼接。使用的 UPARSE 软件(version 7.1 <http://drive5.com/uparse/>), 根据 97% 的相似度对序列进行 OTU 聚类, 并在聚类的过程中去除单序列和嵌合体。利用 RDP classifier (<http://rdp.cme.msu.edu/>) 对每条序列进行物种分类注释, 比对 Silva 数据库(SSU123), 设置比对阈值为 70%。

表 1 复发组与非复发组 CRSwNP 术前临床特征比较

项目			$M(Q_{25}, Q_{75})$	
	非复发组($n=36$)	复发组($n=12$)	χ^2/Z	P 值
病史/年	1.50(0.50~8.75)	6.50(0.30~10.00)	2.368	0.018
CT 评分/分	10.50(5.25~19.75)	22.50(14.00~24.00)	3.435	0.001
Davos 评分/分	2.00(1.25~4.00)	4.00(3.00~5.00)	2.912	0.004
鼻部症状严重程度评分/分	5.90(4.00~7.45)	5.55(4.20~6.20)	0.095	0.924
鼻阻评分/分	3.68(6.40~7.78)	7.05(6.50~9.00)	0.858	0.391
头痛评分/分	0.80(0.00~3.38)	0.70(0.00~3.00)	0.219	0.827
流涕评分/分	4.80(1.70~7.00)	6.25(3.90~9.10)	1.359	0.174
鼻后滴漏评分/分	2.35(0.00~5.08)	6.10(2.50~8.00)	2.146	0.032
嗅觉减退评分/分	4.85(0.00~8.88)	8.45(1.00~9.10)	0.891	0.373
外周血嗜酸粒细胞计数/($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	0.22(0.11~0.39)	0.06(0.05~0.85)	1.383	0.167

1.5 统计学方法

使用 SPSS 24.0 及 R 语言进行统计分析。临床特征资料中分类变量采用卡方检验进行统计学分析, 连续型变量资料采用曼-惠特尼 U 检验进行统计学分析。采用 mothur 指数分析方法, 对 OTU 相似度为 97% 的所有样本进行 α 多样性指数的计算。 α 多样性指数包括 Sobs、Shannon、Simpson 指数。Sobs 指数反映群落丰富度, Shannon 指数和 Simpson 指数反映群落多样性。利用随机样本中 OTU 读数构建稀释曲线, 比较不同测序数据样本中物种的丰富度和多样性, 检验数据的合理性。采用主坐标分析(PCoA)方法对三维空间中的数据相似性进行研究和可视化, 比较 β 多样性。PCoA 分析为一种非约束性的数据降维分析方法, 用来显示样本菌落组成的相似性或差异性。2 组间菌群的差异比较采用 Wilcoxon 秩和检验, 并对结果采用 Bonferroni 法进行 FDR(False Discovery Rate)校正, FDR P 显著性水平为 0.05。

2 结果

2.1 术前 CRSwNP 组与对照组鼻腔菌群多样性比较

对 81 例标本行 Illumina MiSeq 测序, 共测出 3 031 449 条高质量序列, 平均长度为 438.21。根据 OTU 分类分析, 共检出 7 667 个 OTU, 涉及 46 个细菌门和 1 417 个细菌属。采用 Shannon 指数构建稀释曲线, 所有标本曲线都逐渐趋于平坦,

说明样本的测序数据量合理, 能反映样品中菌群信息。术前 CRSwNP 组与对照组鼻腔菌群 Sobs、Simpson、Shannon 指数比较差异无统计学意义(表 2), 说明 2 组鼻腔菌群丰富度和 α 多样性无差异。PCoA 分析(图 1)显示 2 组未形成 2 个分离的簇, 表明术前 CRSwNP 组与对照组菌群 β 多样性比较差异无统计学意义。

在菌群门水平上, CRSwNP 组和对照组术前鼻腔主要组成菌群为厚壁菌门、放线菌门、变形菌门、拟杆菌门、梭杆菌门(表 3)。CRSwNP 组放线菌门 MRA 较对照组明显降低(FDR $P=0.004$)。在菌群属水平上, CRSwNP 组和对照组术前 MRA 占比 $>1\%$ 鼻腔菌群见表 4。其中 CRSwNP 组棒状杆菌属较对照组明显降低(FDR $P=0.005$)。

表 2 CRSwNP 组与对照组术前鼻腔菌群 α 多样性比较

项目			P 值
	CRSwNP 组 ($n=48$)	对照组 ($n=33$)	
Sobs 指数	463.750± 484.540	674.210± 506.270	0.082
Shannon 指数	2.415±1.415	2.606±1.436	0.581
Simpson 指数	0.307±0.236	0.280±0.227	0.638

2.2 非复发组术前术后鼻腔菌群多样性比较

36 例术后无复发 CRSwNP 患者术前与术后

鼻腔菌群 α 多样性、 β 多样性比较, 差异无统计学意义。在细菌门水平上, 术后放线菌门 (FDR $P=0.012$) MRA 较术前增高, 而术后拟杆菌门 (FDR $P=0.040$) MRA 较术前降低 (图 2)。在细菌属水平上, 术后棒状杆菌属 (FDR $P=0.003$) MRA 较术前明显增高 (图 3)。

2.3 复发组术前术后鼻腔菌群多样性比较

12 例术后复发 CRSwNP 患者术前和术后鼻腔菌群 α 多样性、 β 多样性、细菌门水平及属水平比较差异均无统计学意义。

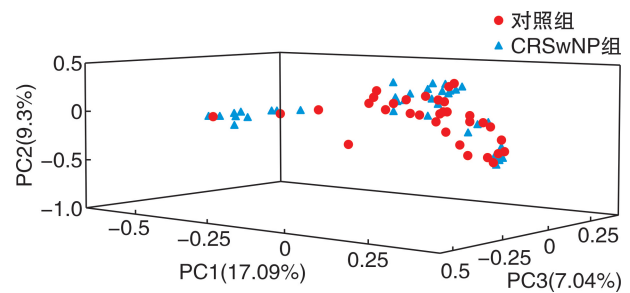


图 1 术前 CRSwNP 组与对照组鼻腔菌群 PCoA 分析

表 3 术前 CRSwNP 组与对照组鼻腔菌群门水平 MRA 比较

项目	CRSwNP 组 ($n=48$)	对照组 ($n=33$)	P 值	FDR P 值
厚壁菌门	53.700 $\pm$ 33.720	42.050 $\pm$ 26.930	0.180	0.377
放线菌门	10.600 $\pm$ 13.980	29.820 $\pm$ 24.570	<0.001	0.004
变形菌门	17.970 $\pm$ 26.970	19.400 $\pm$ 21.250	0.115	0.287
拟杆菌门	10.120 $\pm$ 14.310	3.090 $\pm$ 4.311	0.101	0.287
梭杆菌门	2.595 $\pm$ 9.488	0.130 $\pm$ 0.162	0.054	0.287
酸杆菌门	0.243 $\pm$ 0.601	1.040 $\pm$ 2.967	0.118	0.287
绿弯菌门	0.505 $\pm$ 1.745	0.491 $\pm$ 1.099	0.107	0.287
蓝藻菌门	0.477 $\pm$ 0.962	0.439 $\pm$ 1.014	0.134	0.293
疣微菌门	0.412 $\pm$ 1.200	0.448 $\pm$ 0.966	0.888	0.992

表 4 术前 CRSwNP 组与对照组鼻腔菌群属水平 MRA 比较

项目	CRSwNP 组 ($n=48$)	对照组 ($n=33$)	P 值	FDR P 值
葡萄球菌属	10.370 $\pm$ 22.580	16.390 $\pm$ 24.150	0.003	0.307
棒状杆菌属	5.408 $\pm$ 11.060	21.270 $\pm$ 23.340	<0.001	0.005
乳酸菌属	20.120 $\pm$ 31.540	4.809 $\pm$ 17.050	0.018	0.461
链球菌属	6.748 $\pm$ 17.040	4.824 $\pm$ 15.150	0.342	0.646
梭状杆菌属	0.573 $\pm$ 2.207	7.373 $\pm$ 13.990	0.001	0.307
莫拉克斯菌属	1.602 $\pm$ 9.820	5.451 $\pm$ 18.580	0.031	0.502
拟杆菌属	3.034 $\pm$ 6.349	1.267 $\pm$ 2.537	0.928	0.956
埃希-志贺菌属	1.226 $\pm$ 3.674	2.944 $\pm$ 6.140	0.529	0.734
嗜血杆菌属	3.676 $\pm$ 15.480	0.141 $\pm$ 0.313	0.037	0.502
假单胞菌属	2.187 $\pm$ 13.520	1.370 $\pm$ 6.821	0.009	0.375
罗尔斯通菌属	1.651 $\pm$ 6.192	1.413 $\pm$ 3.414	0.604	0.804
红球菌属	1.627 $\pm$ 4.097	0.941 $\pm$ 1.173	0.381	0.646
未分类肠杆菌	1.232 $\pm$ 7.112	1.304 $\pm$ 6.631	0.123	0.537
奈瑟菌属	2.130 $\pm$ 13.690	0.336 $\pm$ 1.398	0.021	0.461
梭杆菌属	1.747 $\pm$ 7.303	0.087 $\pm$ 0.115	0.065	0.537
肠球菌属	0.158 $\pm$ 0.653	1.411 $\pm$ 7.723	0.743	0.894
卟啉单胞菌属	1.325 $\pm$ 5.648	0.034 $\pm$ 0.095	0.056	0.526

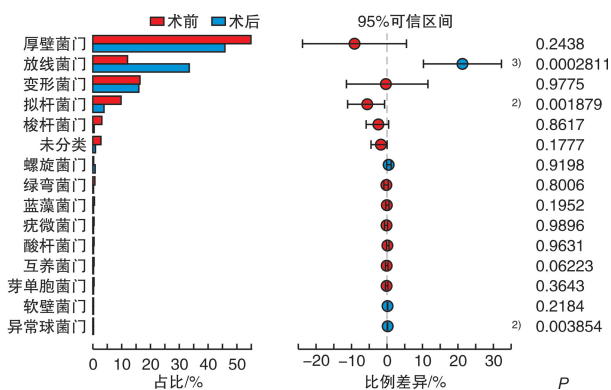
3 讨论

既往众多研究对 CRSwNP 复发相关危险因素进行深入研究。症状评分、是否合并特应性体质及哮喘、术前影像学特征^[8]、鼻息肉组织病理学分类^[9]以及免疫炎症因子分型^[10]等, 对于制定和优化治疗策略及疾病有效控制至关重要。近年来随着微生物宏基因组学研究兴起, 人类可以从微生物种群间的稳态、微生物和宿主免疫功能相互影响方面来更加深入理解疾病。

本研究首先通过 16S rRNA 高通量测序法分

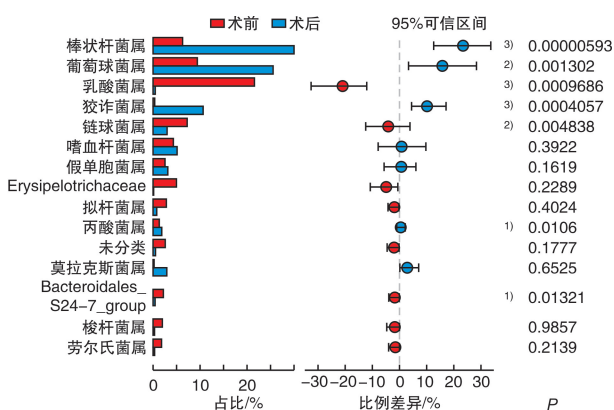
析比较 CRSwNP 术前与对照组之间菌群差异, 发现 2 组鼻腔菌群丰富度、 α 多样性、 β 多样性差异无统计学意义。Ramakrishnan 等^[11]和 Mahdavinia 等^[12]的研究与本研究结果一致, 亦发现 CRS 患者鼻腔菌群的丰富度和多样性与对照组比较差异无统计学意义。然而, 也有一些研究表明 CRS 患者鼻腔菌群 α 多样性较对照组明显下降^[13-15]。这可能与不同研究患者纳入标准、病情严重程度不同有关。本研究纳入患者均为经常规药物治疗无效、需手术干预的病情较严重的 CRSwNP 患者, 而其余

研究纳入患者为 CRS,即包含 CRSwNP 和 CRSs-NP 患者。而诸多研究已证实 CRSwNP 和 CRSs-NP 炎症类型和组织表型具有显著差异,因此本研究仅纳入 CRSwNP 与对照组进行比较。



采用 Kruskal-Wallis 秩和检验法比较。图中右侧显示未进行 FDR 矫正前 P 值,¹⁾ $0.01 < P \leq 0.05$; ²⁾ $0.001 < P \leq 0.01$; ³⁾ $P \leq 0.001$ 。

图2 非复发组术前与术后菌群细菌门水平比较



采用 Kruskal-Wallis 秩和检验法比较。图中右侧显示未进行 FDR 矫正前 P 值,¹⁾ $0.01 < P \leq 0.05$; ²⁾ $0.001 < P \leq 0.01$; ³⁾ $P \leq 0.001$ 。

图3 非复发组术前与术后菌群细菌属水平比较

在菌群门水平上,本研究 CRSwNP 组与对照组中鼻道的优势菌门均主要由厚壁菌门、变形菌门、放线菌门、拟杆菌门构成。Ramakrishnan 等^[16]使用定量 PCR 和 16S rRNA 焦磷酸测序方法分析健康成年人中鼻道菌群,也证实厚壁菌门、变形菌门和放线菌门占主导地位,且所有被检者中鼻道均有上述菌群的存在。一项针对 CRS 菌群的 Meta 分析表明厚壁菌门、放线菌门、变形菌门和拟杆菌门是 CRS 和健康对照的主要菌群^[17]。

虽然 2 组菌群丰富度、 α 及 β 多样性、优势菌门的种类无显著差异,但 CRSwNP 与对照组相比,术前放线菌门 MRA 显著降低。且术后非复发组放线菌门 MRA 较术前明显增高,而复发组术后放线

菌门 MRA 较术前无明显变化。在细菌属水平上,术前 CRSwNP 棒状杆菌属(属于放线菌门)低于对照组,非复发组术后棒状杆菌属较术前增高,复发组未发现此变化,提示 CRSwNP 与鼻腔菌群失调有关,且术后菌群失调是否改善与 CRSwNP 预后相关性。既往亦有研究证实棒状杆菌属对气道起保护作用,可降低气道炎症性疾病发生概率。Hoggard 等^[15]发现 CRS 患者鼻腔棒状杆菌属低于对照组,尤其是 CRS 合并哮喘以及囊性纤维化患者,棒状杆菌属丰度降低的趋势尤为显著;而厚壁菌门(包括葡萄球菌属和链球菌属)高于对照组。用 16S rRNA 基因测序方法对婴儿的上气道菌群进行检测,发现拥有高丰度棒状杆菌属的婴儿,上呼吸道感染概率低^[18],患支气管炎的可能性低^[19],而上气道具有高丰度葡萄球菌属的婴儿患支气管炎可能性高^[20]。

另外近期研究发现,棒状杆菌对金黄色葡萄球菌的致病力有影响。既往众多研究证实金黄色葡萄球菌超抗原在 CRSwNP 发病机制中的重要作用。金黄色葡萄球菌毒力与其密度感知系统(quorum sensing, QS)相关, QS 系统受抑制时,细菌存在于生物膜内,毒性减弱; QS 系统被激活时,能触发细菌从生物膜中分离出来,毒性产物增多^[20]。Hardy 等^[21]研究证实,假白喉棒状杆菌作为鼻腔常见共生菌可杀灭鼻腔金黄色葡萄球菌,而残存未被清除的金黄色葡萄球菌其 QS 系统受抑制,毒力减弱。Ramsey 等^[22]研究也发现金黄色葡萄球菌与鼻腔常见棒状杆菌(包括假白喉棒状杆菌、拥挤棒状杆菌、无枝菌酸棒状杆菌、纹带棒状杆菌)共同培养和金黄色葡萄球菌单独培养对比,共培养体系内的金黄色葡萄球菌 QS 基因表达明显降低,与上皮细胞黏附活性增强,溶血活性减弱,说明鼻腔棒状杆菌可抑制金黄色葡萄球菌毒力,使金黄色葡萄球菌由致病菌状态转变为共生菌状态。本研究虽然未发现属于厚壁菌门中葡萄球菌属的金黄色葡萄球菌在 CRSwNP 组和对照组以及 CRSwNP 组术前术后存在显著差异,但是否由于棒状杆菌表达差异,使 CRSwNP 组金黄色葡萄球菌的致病力强于对照组导致疾病发生,而 CRSwNP 术后棒状杆菌增高使金黄色葡萄球菌致病力降低来抑制疾病复发,值得深入研究。

虽然术前 CRSwNP 组与对照组拟杆菌门 MRA 比较差异无统计学意义,但非复发组术后拟杆菌门较术前降低,说明拟杆菌门可能对鼻腔炎症的发生有促进作用。Kuhar 等^[23]对 CRS 组织病理学特征和鼻腔菌群相关性进行研究,发现拟杆菌门 MRA 越高, CRS 组织中炎症浸润越明显,黏膜的缺损越明显。而 Choi 等^[24]进行的一项小样本的研究得到相反结果, CRS 患者鼻腔分泌物中拟杆菌

门,以及其下属的普氏菌属较非 CRS 患者降低。因此拟杆菌门在 CRSwNP 发病机制中的作用仍需更多研究证实。

综上所述,本研究发现 CRSwNP 与鼻腔菌群失调有关,表现为 CRSwNP 组放线菌门和棒状杆菌属 MRA 较对照组明显降低。非复发组术后放线菌门和棒状杆菌属 MRA 较术前增高,拟杆菌门 MRA 较术前降低;而复发组术前术后鼻腔菌群无明显变化,说明术后菌群失调是否改善与 CRSwNP 预后相关性。但鼻腔菌群失调是 CRSwNP 炎症的启动因素,还是炎症状况导致鼻腔菌群失调,仍需研究进一步证实。

参考文献

- [1] Hastan D, Fokkens WJ, Bachert C, et al. Chronic rhinosinusitis in Europe—an underestimated disease. A GA2LEN study [J]. *Allergy*, 2011, 66 (9): 1216—1223.
- [2] Hirsch AG, Stewart WF, Sundaresan AS, et al. Nasal and sinus symptoms and chronic rhinosinusitis in a population-based sample [J]. *Allergy*, 2017, 72 (2): 274—281.
- [3] Shi JB, Fu QL, Zhang H, et al. Epidemiology of chronic rhinosinusitis: results from a cross-sectional survey in seven Chinese cities [J]. *Allergy*, 2015, 70 (5): 533—539.
- [4] 李宏梅, 薛金梅. 金黄色葡萄球菌在难治性鼻-鼻窦炎发病机制中的作用 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2017, 31 (5): 404—408.
- [5] Ba L, Zhang N, Meng J, et al. The association between bacterial colonization and inflammatory pattern in Chinese chronic rhinosinusitis patients with nasal polyps [J]. *Allergy*, 2011, 66 (10): 1296—1303.
- [6] Gan W, Yang F, Tang Y, et al. The difference in nasal bacterial microbiome diversity between chronic rhinosinusitis patients with polyps and a control population [J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2019, 9 (6): 582—592.
- [7] Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, et al. European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps 2012 [J]. *Rhinol Suppl*, 2012, 23: 3 p preceding table of contents, 1—298.
- [8] Meng YF, Lou HF, Wang CS, et al. [The value of sinonasal CT scan in diagnosing of eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps] [J]. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*, 2017, 52 (2): 93—98.
- [9] Lou H, Meng Y, Piao Y, et al. Cellular phenotyping of chronic rhinosinusitis with nasal polyps [J]. *Rhinology*, 2016, 54 (2): 150—159.
- [10] Wei B, Liu F, Zhang J, et al. Multivariate analysis of inflammatory endotypes in recurrent nasal polyposis in a Chinese population [J]. *Rhinology*, 2018, 56 (3): 216—226.
- [11] Ramakrishnan VR, Hauser LJ, Feazel LM, et al. Sinus microbiota varies among chronic rhinosinusitis phenotypes and predicts surgical outcome [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2015, 136 (2): 334—42. e1.
- [12] Mahdavinia M, Engen PA, LoSavio PS, et al. The nasal microbiome in patients with chronic rhinosinusitis: Analyzing the effects of atopy and bacterial functional pathways in 111 patients [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 142 (1): 287—290. e4.
- [13] Biswas K, Hoggard M, Jain R, et al. The nasal microbiota in health and disease: variation within and between subjects [J]. *Front Microbiol*, 2015, 9: 134.
- [14] Abreu NA, Nagalingam NA, Song Y, et al. Sinus microbiome diversity depletion and *Corynebacterium tuberculoearicum* enrichment mediates rhinosinusitis [J]. *Sci Transl Med*, 2012, 4 (151): 151ra124.
- [15] Hoggard M, Biswas K, Zoing M, et al. Evidence of microbiota dysbiosis in chronic rhinosinusitis [J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2017, 7 (3): 230—239.
- [16] Ramakrishnan VR, Feazel LM, Gitomer SA, et al. The microbiome of the middle meatus in healthy adults [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (12): e85507.
- [17] Wagner Mackenzie B, Waite DW, Hoggard M, et al. Bacterial community collapse: a meta-analysis of the sinonasal microbiota in chronic rhinosinusitis [J]. *Environ Microbiol*, 2017, 19 (1): 381—392.
- [18] Hasegawa K, Linnemann RW, Mansbach JM, et al. Nasal Airway Microbiota Profile and Severe Bronchiolitis in Infants: A Case-control Study [J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2017, 36 (11): 1044—1051.
- [19] Biesbroek G, Tsivtsivadze E, Sanders EA, et al. Early respiratory microbiota composition determines bacterial succession patterns and respiratory health in children [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 190 (11): 1283—1292.
- [20] Defoirdt T. Quorum-Sensing Systems as Targets for Antivirulence Therapy [J]. *Trends Microbiol*, 2018, 26 (4): 313—328.
- [21] Hardy BL, Dickey SW, Plaut RD, et al. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* Exploits *Staphylococcus aureus* Virulence Components in a Novel Polymicrobial Defense Strategy [J]. *mBio*, 2019, 10 (1): e02491—18.
- [22] Ramsey MM, Freire MO, Gabriliska RA, et al. *Staphylococcus aureus* Shifts toward Commensalism in Response to *Corynebacterium* Species [J]. *Front Microbiol*, 2016, 7: 1230.
- [23] Kuhar HN, Tajudeen BA, Mahdavinia M, et al. Relative abundance of nasal microbiota in chronic rhinosinusitis by structured histopathology [J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2018, 8 (12): 1430—1437.
- [24] Choi EB, Hong SW, Kim DK, et al. Decreased diversity of nasal microbiota and their secreted extracellular vesicles in patients with chronic rhinosinusitis based on a metagenomic analysis [J]. *Allergy*, 2014, 69 (4): 517—526.