

• 论 著 •

基于 16S rRNA 测序技术探究高脂血症急性胰腺炎与口腔菌群关系*

张 建¹, 麦 刚^{1,2△}

1. 西南医科大学附属医院肝胆外科, 四川 泸州 646000; 2. 德阳市人民医院肝胆外科, 四川 德阳 618000

摘 要:目的 探讨高脂血症性急性胰腺炎(HLAP)与口腔微生物之间的关系并描述菌群的分布。方法 选择 2024 年德阳市人民医院收治的 HLAP 患者 104 例为研究对象。根据患者诊断分为轻度 HLAP 组(A 组, 49 例)、中-重度 HLAP 组(B 组, 55 例), 同期选择 40 例健康志愿者为健康对照组(H 组)。通过 16S rRNA 测序技术对样品进行处理, 生成原始数据文件。对这些数据进行拼接、过滤及降噪, 得到扩增子序列变异(ASVs)。通过 α 多样性分析、 β 多样性分析等生物信息学分析, 评估微生物群落的特征和差异。结果 该研究共获得 7 678 个 ASVs, 其中 A 组 4 350 个, B 组 4 054 个, H 组 976 个。统计分析显示, 该研究样本量充分, 测序样本覆盖度高, 组间群落结构差异大于组内差异, 口腔唾液菌群结构的差异有统计学意义($P < 0.05$)。3 类人群的口腔微生物群落在主要菌门的组成上表现出相似性, 但其唾液微生物群落的组成差异有统计学意义($P < 0.05$)。与健康志愿者比较, HLAP 患者厚壁菌门、拟杆菌门比例明显上升($P < 0.05$), 而变形菌门、梭杆菌门、巴氏杆菌门、放线菌门比例明显降低($P < 0.05$)。属水平分析结果表明, HLAP 患者卟啉单胞菌、异基因普氏菌和普氏菌的相对丰度较高($P < 0.05$), 而奈瑟菌的相对丰度较低($P < 0.05$)。LEfSe 分析显示, 中-重度 HLAP 患者口腔微生物中拟杆菌门、拟杆菌纲、拟杆菌目和普氏菌科的丰度明显升高($P < 0.05$), 而奈瑟菌属、奈瑟菌科和伯克氏菌目的丰度明显降低($P < 0.05$)。结论 HLAP 的发生与口腔唾液微生物群的失调密切相关, HLAP 患者与健康志愿者相比口腔微生物群落组成成分相似, 但落构成差异较大, 在厚壁菌门、拟杆菌门、卟啉单胞菌、异基因普氏菌、普氏菌上相对丰度较高, 相对丰度较低的包括变形菌门、梭杆菌门、巴氏杆菌门、放线菌门和奈瑟菌。

关键词:高脂血症; 急性胰腺炎; 口腔微生物; 16S rRNA 测序; 唾液

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2026.14.001

中图法分类号:R576

文章编号:1673-4130(2026)14-1665-08

文献标志码:A

Exploring the relationship between hyperlipidemic acute pancreatitis and oral microbiota based on 16S rRNA sequencing technology*

Zhang Jian¹, Mai Gang^{1,2△}

1. Department of Hepatobiliary Surgery, Southwest Medical University Affiliated Hospital, Luzhou, Sichuan 646000, China; 2. Department of Hepatobiliary Surgery, Deyang People's Hospital, Deyang, Sichuan 618000, China

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between hyperlipidemic acute pancreatitis (HLAP) and oral microbiota and to describe the distribution of oral microbiota. **Methods** A total of 104 patients with HLAP admitted to Deyang People's Hospital in 2024 were selected as the research objects. According to the diagnosis, the patients were divided into mild HLAP group (group A, 49 cases) and moderate-severe HLAP group (group B, 55 cases). A total of 40 healthy volunteers were selected as the healthy control group (group H, $n=40$). The samples were processed by 16S rRNA sequencing technology to generate raw data files. These data were spliced, filtered and denoised to obtain amplicons sequence variations (ASVs). Bioinformatics analyses such as α diversity analysis and β diversity analysis were performed to evaluate the characteristics and differences of microbial communities. **Results** A total of 7 678 ASVs were obtained in this study, including 4 350 ASVs in group A, 4 054 ASVs in group B and 976 ASVs in group H. Statistical analysis showed that the sample size of this study was sufficient and the sample coverage of sequencing was high. The difference in community structure between groups was greater than that within groups, and the difference in oral saliva flo-

* 基金项目:四川省科学技术厅计划项目(2022JDGD0020)。

作者简介:张建,男,医师,主要从事肝胆外科疾病相关研究。△ 通信作者, E-mail: maigang68@hotmail.com。

ra structure was statistically significant ($P<0.05$). The oral microbial communities of the three groups were similar in the composition of the main phyla, but the composition of salivary microbial communities was significantly different ($P<0.05$). Compared with the healthy volunteers, the proportions of Firmicutes and Bacteroidetes in HLAP patients were significantly increased ($P<0.05$), while the proportions of Proteobacteria, Fusobacterium, Pasteuteobacteria and Actinobacteria were significantly decreased ($P<0.05$). The results of genus-level analysis showed that the relative abundance of Porphyromonas, alloprevotella and Prevotella in HLAP patients was higher ($P<0.05$), while the relative abundance of Neisseria was lower ($P<0.05$). LEfSe analysis showed that the abundance of Bacteroidetes, Bacteroidetes, Bacteroidetes and Prevotella were significantly increased in patients with moderate-severe HLAP ($P<0.05$), while Neisseria, Neisseraceae and Burknethereae were significantly decreased ($P<0.05$). **Conclusion** The occurrence of HLAP is closely related to the imbalance of oral salivary microbiota. The oral microbial community composition of HLAP patients is similar to that of healthy volunteers, but the composition of oral microbial community is different. Those with low relative abundance included Proteobacteria, Fusobacteria, Pasteurella, Actinobacteria, and Neisseria.

Key words: hyperlipidemia; acute pancreatitis; oral microorganisms; 16S rRNA sequencing; saliva

急性胰腺炎(AP)是一种炎症性胰腺疾病,是世界范围内最常见的消化道疾病之一^[1],指的是由于胰酶异常激活导致胰腺及其周围器官发生自我消化作用,从而引发的急性腹痛症状,主要表现为胰腺局部的炎症反应,严重时可引起器官功能衰竭^[2]。引起AP的原因众多,发达国家与国内情况有所差异,以胆源性AP和酒精性AP为主,在我国,胆源性AP、酒精性AP、高脂血症性AP(HLAP)发生率逐年升高,由于人们生活方式、饮食结构的发展,HLAP逐渐成为第二大病因^[3]。HLAP具有较高的发病率和病死率,对患者生命健康产生严重威胁^[4]。口腔包含了人体内最多样化和最独特的微生物群落之一^[5-6],作为除肠道外的第二大微生物群,口腔微生物群落影响着人体的免疫功能、致癌物质代谢和营养物质消化^[7]。1 mL的唾液大约含有1亿个微生物细胞^[8],有研究发现,口腔有多达700种不同的原核生物分类群^[9]。口腔内的致病菌可能通过口腔-胃肠道轴或直接进入血液循环,影响胰腺的健康,进而在AP的发生和发展中起到一定作用^[10]。Liu等^[11]的研究发现,AP患者的口腔微生物群在种类和丰度上发生了明显变化,口腔中的有益细菌(如链球菌、奈瑟氏菌和革兰阳性菌)明显减少,而病原性细菌(如普氏菌、韦荣球菌和类杆菌)则明显增多,这些细菌的丰度变化与病情严重程度呈正相关,特别是在中度和重度AP患者中,某些致病菌明显增多。目前的研究证明AP与口腔微生物的关系密切,但临床上相关研究仍较少,随着科技的发展,16S rRNA测序技术广泛应用于微生物研究领域。本研究利用16S rRNA测序技术,对HLAP患者和健康人群的唾液样本进行测序分析,获得口腔菌群信息,通过分析数据结果,描述各组菌群的分布,探讨口腔微生物群落与HLAP的相关性,为开发以微生物为核心的诊断工具和潜在治疗策略提供新的

视角。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2024年德阳市人民医院收治的HLAP患者104例为研究对象。根据患者诊断分为轻度HLAP组49例(A组)、中-重度HLAP组55例(B组),同期选择40例健康志愿者为健康对照组(H组)。患者纳入标准:(1)年龄18~75岁,性别不限;(2)首次发病时间不超过72 h;(3)符合HLAP诊断标准^[2],上腹部持续性疼痛,血清淀粉酶和(或)脂肪酶浓度至少高于正常上限值3倍,腹部影像学检查结果显示符合AP影像学改变。上述3项标准中符合2项即可诊断为AP。在AP诊断的基础上,血清甘油三酯(TG)水平 >11.3 mmol/L或TG水平在 $5.65\sim 11.30$ mmol/L且血清呈乳糜状态时可以临床诊断为HLAP^[12]。排除标准:(1)受试者患有口腔溃疡等消化系统疾病;(2)患者近3个月内有口腔、胃肠道等消化道手术史;(3)近3个月内有抗菌药物、激素、益生菌等药物使用史;(4)患有心、肝、肾、肺器官衰竭、严重感染性疾病及其他严重疾病;(5)患者基本信息不完整或者拒绝参加本研究。H组纳入标准:(1)年龄18~75岁,性别不限;(2)健康体检人员,无影响口腔菌群的疾病史;(3)近3个月内无抗菌药物、激素、益生菌等药物使用史。本研究符合医学伦理学标准,已获得德阳市人民医院医学伦理委员会批准(伦理审查号:2023-04-103-K01),研究对象自愿且知情。

1.2 方法

1.2.1 样本及数据采集 收集HLAP患者入院后24 h内的唾液样本2~5 mL,以及H组唾液标本2~5 mL,采取样本后立即保存于 -80°C 冰箱冻存备用。同时收集患者的基本信息、身高、体重、实验室检查数据等资料。

1.2.2 DNA检测 提取DNA使用CTAB法,随后

通过琼脂糖凝胶电泳法来检测样本的纯度和浓度,然后将适量的 DNA 样本转移至离心管中,并使用无菌水将其浓度稀释至 $1 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 。

1.2.3 PCR 产物的获取 在 PCR 反应体系中,混合液包含 $0.2 \mu\text{mol/L}$ 引物、 10 ng 基因组 DNA 模板和 $15 \mu\text{L}$ Phusion High-Fidelity PCR Master Mix。反应条件为:初次变性在 98°C 下 1 min ,随后进行 30 个循环,每个循环包括 98°C 变性 10 s , 50°C 退火 30 s , 72°C 延伸 30 s ,最后在 72°C 下延伸 5 min 。

1.2.4 PCR 产物的混样和纯化 对 PCR 产物进行磁珠纯化后,按照其浓度进行等比例混合并充分混匀,对混合后的 PCR 产物进行检测并回收所需的目標条带。

1.2.5 文库构建及上机测序 文库构建完成后,通过 Qubit 和实时荧光定量对其进行定量检测。确认文库质量达标后,将其于 Illumina 测序平台进行测序分析。

1.2.6 生物信息分析及统计学方法 通过 Barcode 序列和 PCR 扩增引物序列,将下机数据按样本分类,拆分为对应的数据集,去除引物序列和 Barcode 后,使用 FLASH 软件拼接每个样本 reads,得到原始 Tags 数据 (Raw Tags)^[13]。匹配反向引物序列利用 Cutadapt 软件进行,并将多余的部分剪掉,以防其对后续分析造成影响,随后使用 fastp 软件对 Raw Tags 进行严格筛选和过滤,最终生成高质量 Tags 数据 (Clean Tags)^[14]。经过以上处理后,通过将 Tags 序列与物种注释数据库 (Silva 数据库) 进行比对,识别并去除嵌合体序列,最终得到有效数据 (Effective Tags)^[15]。利用 QIIME2 软件对获得的 Effective Tags 进行降噪处理 (DADA2 模块),从而生成最终的扩增子序列变异 (ASVs) 及其特征表^[16]。对生成的 ASVs 进行物种注释、 α 多样性分析、 β 多样性分析及 LEfSe 等生物信息学分析^[17]。

1.2.7 α 多样性分析 α 多样性用于评估单个样本中微生物群落的多样性程度,通过评估样本的物种丰富度和多样性,可以揭示该样本微生物群落的结构特征^[18]。 α 多样性指数包括 Chao1 指数、Dominance 指数、Observed_features、Pielou_e 指数、Shannon 指数、Simpson 指数。Chao1 指数用于估算群落样本中实际存在的物种总数,且当群落丰度低的物种数量增多时,Chao1 指数也会随之升高。Dominance 指数用于衡量随机抽取两条序列来自同一物种的可能性,物种分布越均匀,该指数的数值越低,表明优势物种的相对影响力较小。Observed_features 反映了实际观测到的物种数量,数值越高意味着观测到的物种越丰富。Pielou_e 指数是衡量群落物种分布均匀度的指标,物种分布越均匀,Pielou_e 值也越高。Shannon 指

数反映了群落的物种多样性及其相对丰度。当群落的多样性增加且物种分布更趋于均匀时,该指数的数值会明显升高。Simpson 指数用于评估物种分布的多样性和均匀性,物种分布越均匀,该指数的数值越接近其最大值,表明群落中物种的均衡程度更高。

1.2.8 β 多样性分析 β 多样性用于分析和比较不同样本中微生物群落的组成差异。通过这一分析,可以评估不同样本之间群落结构的相似性或差异性。

1.2.9 PCoA 分析 通过对特征向量、特征值进行排序,能够从多维数据中抽取最具代表性的特征和核心结构,PCoA 分析基于 Weighted Unifrac 距离/Unweighted Unifrac 距离,常选取贡献率最高的主坐标轴进行可视化展示,群落结构相似的样本通常会集中在一起,当样本间的距离较近时,它们的物种组成相似,而群落差异显著的样本则会分布得较远^[19]。

1.2.10 MRPP 分析 这是一种基于 Bray-Curtis 距离的参数检验方法,主要用于组间微生物群落结构差异评估,常与 PCA、NMDS、PCoA 等分析结合使用^[20]。

1.2.11 LEfSe 分析 这是一种用于识别和解析高维生物标志物的分析方法,常用于两组及两组以上组别之间的比较,该方法不仅关注统计学意义,还强调生物学意义,可以在不同组别之间识别差异有统计学意义的生物标志物^[21]。

1.3 统计学处理 采用 SPSS27.0 软件对数据进行处理和分析,呈正态分布且满足方差齐性的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析;不呈正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用 Wilcoxon 秩和检验;计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。 α 多样性指标 (Observed_features、Chao1、Shannon、Simpson、Dominance、Pielou_e) 在调整年龄、性别、体重指数 (BMI)、吸烟、牙周状况及用药史等协变量后,采用线性回归模型进行评估。两两比较的 P 值经 Benjamini-Hochberg 法进行 FDR 校正,报告校正后 P_{adj} 、Hedges' g 及其 $95\% \text{ CI}$ 。 β 多样性基于 Bray-Curtis 距离,使用 PERMANOVA (adonis2, permutations=999) 检验群组间差异,并在模型中纳入相同协变量;同时报告原始 P 值 (P_{raw})、FDR 校正后的 P_{adj} 值及解释变异比例 R^2 。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组一般资料比较 3 组年龄、性别比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$);与 H 组比较,A 组、B 组 BMI 明显升高 ($P < 0.05$),但 A 组、B 组 BMI 比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$);A 组、B 组淀粉酶、TG 比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),脂肪酶、总胆固醇比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

去重处理后,最终获得了 7 678 个 ASVs。其中 A 组 4 350 个,B 组为 4 054 个,H 组 976 个,其中 3 组共同具有 ASVs 个数为 1 024 个,A、B 两组共同具有 ASVs 个数 678 个,H、B 两组共同具有 ASVs 个数为 88 个,A、H 两组共同具有 ASVs 个数为 79 个。见图 1。

项目	A 组(<i>n</i> = 49)	B 组(<i>n</i> = 45)	H 组(<i>n</i> = 40)	<i>F</i> / χ^2 / <i>Z</i>	<i>P</i>
年龄(岁)	46.63 ± 10.10	42.98 ± 11.79	42.40 ± 12.10	1.90	0.152
BMI(kg/m ²)	26.35 ± 3.00	26.59 ± 3.61	22.15 ± 2.35	28.11	<0.001
性别				5.81	0.054
男	34	43	22		
女	15	12	18		
淀粉酶(μ/L)	134(66,284)	160(84,349)	—	−2.10	0.036
脂肪酶(μ/L)	98(73,180)	134(69,266)	—	−1.80	0.072
总胆固醇(mmol/L)	6.94(4.97,8.18)	6.94(5.23,8.41)	—	−0.95	0.340
TG(mmol/L)	19.16(10.96,22.31)	17.54(9.50,21.59)	—	−2.50	0.012

Venn diagram illustrating the overlap of three groups: A组 (blue), B组 (green), and H组 (pink). The counts are as follows:

- A组 only: 2,569
- B组 only: 2,264
- H组 only: 976
- A and B overlap: 678
- A and H overlap: 79
- B and H overlap: 88
- All three overlap: 1,024

2.3 物种丰度柱形图结果分析 根据物种注释结果,在属、门层级中选取相对丰度排名位于前 10 的物种,其余物种归类为“其他”(Others),绘制物种相对丰度柱状图。A、B、H 3 组人群在门水平(相对丰度 $\geq 1\%$)的优势菌门包括厚壁菌门、变形菌门、拟杆菌门、巴氏杆菌门、梭杆菌门和放线菌门。虽然 3 组人群的优势菌门一致,但每组在这些菌门的相对丰度存在差异。与 H 组比较,A 组和 B 组在厚壁菌门和拟杆菌门的相对丰度较高,而 H 组则在变形菌门、梭杆菌门、巴氏杆菌门和放线菌门的相对丰度较高。见图 2。3 组人群在属水平上的优势菌属(相对丰度 $\geq 1\%$)包括链球菌、普雷沃菌_7、韦氏菌、奈瑟菌、卟啉单胞菌、异基因普氏菌、嗜血杆菌及普氏菌。这些菌属在两组中均表现出较高的相对丰度。在 A 组和 B 组中,卟啉单胞菌、异基因普氏菌及普氏菌的相对丰度较高,而奈

Figure 3 is a stacked bar chart showing the relative abundance of bacterial phyla in three groups: A组 (A group), B组 (B group), and C组 (C group). The y-axis represents the relative abundance, ranging from 0.00 to 1.00. The x-axis labels the three groups. The legend identifies the following phyla: 其他 (Other), 广古菌门 (Firmicutes), 蓝细菌门 (Cyanobacteria), 弯曲菌门 (Bacteroidetes), 螺旋体门 (Spirochaetes), 放线菌门 (Actinobacteria), 巴氏杆菌门 (Bacteroidetes), 梭杆菌门 (Fusobacteriota), 变形菌门 (Proteobacteria), 拟杆菌门 (Bacteroidetes), and 厚壁菌门 (Firmicutes). The chart shows that the relative abundance of these phyla varies between the three groups, with Firmicutes and Proteobacteria being the most prominent in all groups.

Figure 1 is a stacked bar chart illustrating the relative abundance of various bacterial taxa in the rumen of goats across three groups: A组, B组, and C组. The Y-axis represents the relative abundance, ranging from 0.00 to 1.00. The legend identifies 30 bacterial taxa, including various phyla and genera. The chart shows that the composition of the rumen microbiota varies significantly between the three groups, with different taxa contributing to the overall relative abundance.

2.4 3组 α 多样性指数差异分析 结果显示,与 H 组比较,A、B 两组在 α 多样性指数上比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。多因素校正(年龄、性别、BMI 等)后,通过 FDR 校正的 P 值(P_{adj})显示,A、B 两组与 H 组 α 多样性指数指数比较,差异均无统计学意义(均 $P_{adj}>0.05$)。效应量 Hedges'g(95%CI)结

果显示,各组间的效应强度多为中低水平(绝对值在 0.211~0.404)。见表 2。

表 2 3 组 α 多样性指数差异分析

项目	比较组别	均值差 (95%CI)	t	P_raw	P_adj (FDR)	Hedges' g (95%CI)	调整后 β (95%CI)
Chao1 指数	B 组 vs. A 组	-16.310(-4.820~73.270)	-1.468	0.147	0.203	-0.301(-0.690~0.090)	-0.128(-0.330~0.060)
	H 组 vs. A 组	17.920(-0.003~0.040)	1.633	0.106	0.171	0.340(-0.080~0.760)	0.142(-0.050~0.350)
	H 组 vs. B 组	34.230(-0.042~0.000)	1.732	0.088	0.149	0.362(-0.050~0.770)	0.164(-0.040~0.370)
Dominance 指数	B 组 vs. A 组	0.020(-0.070~0.010)	1.702	0.091	0.155	0.353(-0.040~0.740)	0.126(-0.060~0.320)
	H 组 vs. A 组	-0.021(-42.150~5.310)	-1.951	0.058	0.110	0.402(-0.020~0.820)	-0.139(-0.330~0.050)
	H 组 vs. B 组	-0.038(-7.560~36.090)	-1.860	0.065	0.120	0.386(-0.030~0.800)	-0.152(-0.350~0.040)
Observed_features	B 组 vs. A 组	-18.420(-2.840~68.230)	-1.615	0.112	0.185	-0.332(-0.720~0.060)	-0.121(-0.320~0.070)
	H 组 vs. A 组	14.270(-0.027~0.010)	1.326	0.189	0.261	0.272(-0.150~0.690)	0.097(-0.090~0.290)
	H 组 vs. B 组	32.690(-0.006~0.030)	1.843	0.068	0.123	0.379(-0.030~0.790)	0.152(-0.050~0.350)
Pielou_e 指数	B 组 vs. A 组	-0.009(-0.001~0.050)	-1.025	0.309	0.364	0.211(-0.180~0.600)	-0.075(-0.260~0.110)
	H 组 vs. A 组	0.010(-0.420~0.060)	1.378	0.171	0.231	0.283(-0.140~0.700)	0.098(-0.080~0.280)
	H 组 vs. B 组	0.020(-0.090~0.370)	1.899	0.063	0.119	0.389(-0.020~0.800)	0.138(-0.050~0.330)
Shannon 指数	B 组 vs. A 组	-0.180(-0.010~0.630)	-1.487	0.141	0.207	-0.303(-0.690~0.080)	-0.124(-0.320~0.070)
	H 组 vs. A 组	0.140(-0.038~0.010)	1.259	0.211	0.274	0.258(-0.160~0.680)	0.096(-0.090~0.280)
	H 组 vs. B 组	0.310(-0.006~0.040)	1.958	0.059	0.109	0.404(-0.010~0.820)	0.145(-0.040~0.340)
Simpson 指数	B 组 vs. A 组	-0.015(-0.001~0.070)	-1.312	0.192	0.266	-0.270(-0.660~0.120)	-0.102(-0.290~0.080)
	H 组 vs. A 组	0.020(-4.820~73.270)	1.424	0.156	0.213	0.290(-0.130~0.710)	0.108(-0.080~0.290)
	H 组 vs. B 组	0.030(-0.003~0.040)	1.882	0.064	0.117	0.389(-0.020~0.800)	0.142(-0.050~0.330)

2.5 PCoA 分析 PCoA 分析图结果显示,3 组样本之间的分布距离较大,提示这 3 组人群的口腔唾液微生物群落在组成上存在明显差异,见图 4。

2.6 多因素校正后的 β 多样性分析 基于 Bray-Curtis 距离的多因素校正 PERMANOVA 分析显示,在调整年龄、性别、BMI 等混杂因子后,H、A、B 3 组

仍明显影响口腔菌群的群落结构(partial R²=0.031, F=2.71, P_adj=0.004)。其中 partial R²=0.031 表明,在所有纳入的协变量中,“组别”可解释约 3.1% 的群落结构变异,提示 H LAP 状态与口腔菌群结构的关联具有统计学意义但效应强度中等。见表 3。

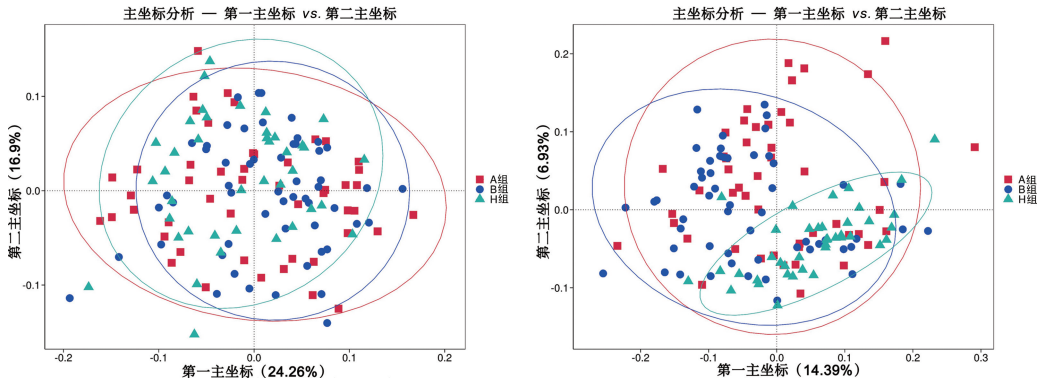


图 4 3 组口腔菌群二维 PCoA 图

2.7 MRPP 分析 A、B 两组与 H 组比较,组间群落结构差异大于组内差异(P<0.05)。经 FDR 校正后,A 组与 H 组(P_adj=0.003)、B 组与 H 组(P_adj=

0.003)的组间群落结构差异仍明显(A 值均>0),提示组间差异大于组内,而 A 组与 B 组间差异无统计学意义(P_adj=0.277)。见表 4。

2.8 LefSe 分析 LefSe 分析结果显示, B 组与 H 组间存在明显丰度差异的菌群共有 7 种, 主要富集在 B 组中的包括拟杆菌门、拟杆菌纲、普氏菌科、拟杆菌目, 在 H 组中主要富集奈瑟菌属、奈瑟菌科、伯克氏菌目, 见图 5。

表 3 多因素校正后的 β 多样性

项目	df	R^2 (partial)	F	P_{raw}	P_{adj} (FDR)
组别	2	0.031	2.710	0.001	0.004
年龄	1	0.012	1.050	0.255	0.312
性别	1	0.009	0.920	0.381	0.412
BMI	1	0.015	1.330	0.102	0.178
吸烟史	1	0.011	1.010	0.318	0.398
牙周状况	1	0.020	1.780	0.041	0.098
用药史	1	0.013	1.120	0.214	0.290

注: 模型基于 Bray-Curtis 距离; permutations = 999; partial R^2 表示组别在加入协变量后的解释度。

表 4 MRPP 两组间分析

组别	A	观测差值	期望差值	P_{raw}	P_{adj} (FDR)
A 组 vs. B 组	0.000 62	0.589 09	0.589 45	0.277	0.277
A 组 vs. H 组	0.021 34	0.525 04	0.536 49	0.001	0.003
B 组 vs. H 组	0.026 78	0.514 90	0.529 07	0.001	0.003

注: observed-delta 值小表示组内差异小, expect-delta 值大表示组间差异大; A 值越接近 1, 组间差异越明显; A 值 = 0 表示组间差异无统计学意义。

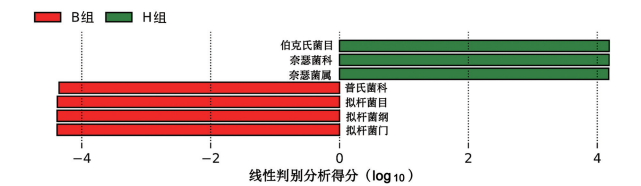


图 5 B 组与 H 组口腔唾液菌群 LefSe 分析柱形图

3 讨 论

口腔是许多微生物的栖息地, 发挥各种功能, 如形成口腔黏膜屏障、参与免疫反应、抵抗外来微生物的入侵等。牙周炎的致病菌能够诱导细胞分泌白细胞介素-6、肿瘤坏死因子- α 等炎症因子, 这些因子通过牙周袋中受损的牙龈上皮进入血液循环, 引发菌血症^[22]。此外, 口腔微生物群也可能在其他器官中异位定植, 参与炎症性疾病如炎性肠病、胆管炎等的发生与进展, 同时与结直肠癌、胰腺癌等相关癌症的发生和发展密切相关。口腔微生物与 AP 之间关系密切, 但目前国内外相关的研究仍较少, 口腔微生物与 AP 之间的相关性尚未得到充分研究, 本研究旨在揭示 HLAP 与口腔微生物群之间的相关性, 为后续的研究提供一定参考。

本研究共纳入 144 例受试者, 其中包括 104 例 HLAP 患者(轻度 HLAP 患者 49 例, 中-重度 HLAP

患者 55 例)和 40 例健康志愿者, 使用 16s rRNA 测序发现 AP 与口腔唾液微生物群失调有关。通过 16s rRNA 测序共获得 7 678 个 ASVs, 其中 A 组为 4 350 个, B 组为 4 054 个, H 组为 976 个, 其中 3 组共同具有 ASVs 个数为 1 024 个, A、B 两组共同具有 ASVs 个数为 678 个, H、B 两组共同具有 ASVs 个数为 88 个, A、H 两组共同具有 ASVs 个数为 79 个。3 组人群的口腔微生物群落结构相似, 其中优势菌门包括厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门、梭杆菌门、巴氏杆菌门和放线菌门, 但口腔唾液微生物群落的组成差异明显, 与 H 组比较, A 组和 B 组的厚壁菌门和拟杆菌门相对丰度较高, A 组和 B 组在变形菌门、梭杆菌门、巴氏杆菌门和放线菌门的相对丰度低于 H 组。在属的分类层级上, 两组的主要优势菌属一致, 在 A、B 两组中, 卟啉单胞菌、异基因普氏菌、普氏菌相对丰度比例较高, 而奈瑟菌相对丰度比例较低。通过统计分析得出, 本研究抽样充分, 测序样本覆盖度高, 组间群落结构差异大于组内差异, 口腔唾液菌群结构的差异有统计学意义。

本研究结果显示, HLAP 患者口腔中卟啉单胞菌属、异基因普氏菌属和普氏菌属的相对丰度明显高于健康志愿者, 而奈瑟菌属的丰度则明显降低。这一特征与近期的口腔微生物组研究结果高度一致。例如, 有研究同样发现, AP 患者的口腔微生物群发生明显改变, 表现为普氏菌和卟啉单胞菌属等致病菌的富集, 以及奈瑟菌属等有益菌的减少, 且这些菌群的丰度变化与 AP 的严重程度密切相关^[11]。总体来看, 口腔微生物的失衡可能作为 AP 发生与恶化的早期预警指标, 为疾病的诊断和治疗提供新的方向。

“口腔-胰腺轴”是一个新兴的研究领域, 相关研究在逐渐深入中, 已从胰腺癌拓展至胰腺炎^[23-25]。本研究的结果为 HLAP 与口腔菌群失调的关联性提供了新的临床证据。关于其潜在机制, 虽然本研究未涉及, 但近期研究提供了可能解释。例如, 动物模型已证实, 特定的口腔病原体能够从口腔易位至胰腺, 并在胰腺组织中定植, 通过诱导炎症和免疫抑制来加速胰腺疾病(如胰腺癌)的进展^[26-27]。本研究中观察到的卟啉单胞菌属和普氏菌属(均为常见的牙周致病菌)在 HLAP 患者中的富集, 提示了类似的易位机制或其代谢产物介导的全身炎症, 可能参与了 HLAP 的病理生理过程。

然而, 本研究作为横断面研究, 关键局限在于无法确定所观察到的口腔菌群失调是 HLAP 的“原因”还是“结果”。要厘清这一因果关系, 未来的研究需沿着以下路径深入: 首先, 必须开展机制研究。可借鉴相关动物模型^[26], 例如, 在建立 HLAP 动物模型(如高脂饮食联合脂多糖诱导^[28])的基础上, 通过口腔灌胃本研究中富集的特定菌株, 观察其是否会诱发或加

胰腺炎的严重程度。反之,也可探究使用益生菌^[29]或其关键代谢产物(如丁酸盐等短链脂肪酸)^[30]进行干预,评估其是否能在改善 HLAP 的同时逆转口腔菌群的失调。其次,应探究“口腔-肠-胰腺”轴的间接通路。口腔菌群作为消化道的起点,其失调可通过吞咽直接影响肠道微生物的构成^[23-24]。有研究证实,肠道菌群(而非口腔菌群)的紊乱,如丁酸盐等短链脂肪酸产生菌的减少^[30-31],在 AP 及重症急性胰腺炎的发病机制中扮演关键角色。因此,未来的研究需同步检测口腔、肠道和胰腺(或血液)的微生态,以阐明口腔菌群失调是直接作用于胰腺,还是通过介导肠道菌群紊乱来间接促进 HLAP 的发生发展。最后,大规模的前瞻性队列研究亦是必要的。通过长期跟踪高脂血症等高危人群,在 HLAP 发病前、中、后动态监测其口腔菌群变化,以明确菌群失调与疾病发作的先后时序。

综上所述,HLAP 的发生与口腔唾液微生物群的失调密切相关,HLAP 患者与健康者相比口腔微生物群落组成成分相似,但群落构成差异较大,厚壁菌门、拟杆菌门、卟啉单胞菌、异基因普氏菌、普氏菌相对丰度较高,相对丰度较低的包括变形菌门、梭杆菌门、巴氏杆菌门、放线菌门和奈瑟菌。其因果关系和具体机制仍需通过多路径进一步阐明,以期未来能将口腔微生物组学真正应用于 HLAP 的早期预警和干预治疗。

参考文献

- [1] Lee P J, Papachristou G I. New insights into acute pancreatitis[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019, 16(8): 479-496.
- [2] 李非, 曹锋. 中国急性胰腺炎诊治指南(2021)[J]. 中国实用外科杂志, 2021, 41(7): 739-746.
- [3] 罗政委, 李荣军, 李昌平. 中性粒细胞/高密度脂蛋白胆固醇、血糖、血钙对高甘油三酯血症性急性胰腺炎严重程度的预测价值[J]. 现代消化及介入诊疗, 2024, 29(1): 81-85.
- [4] 黄涛, 邓峰. 高脂血症性急性胰腺炎发病机制与治疗策略的研究进展[J]. 医学理论与实践, 2024, 37(17): 2918-2920.
- [5] 李政毅, 周学东, 彭显. 口腔微生物稳态调控与口腔疾病[J]. 中华口腔医学杂志, 2024, 59(2): 124-129.
- [6] Giacomini J J, Torres-Morales J, Tang J, et al. Spatial ecology of Haemophilus and Aggregatibacter in the human oral cavity[J]. Microbiol Spectr, 2024, 12(4): e0401723.
- [7] Chandra-Nayak S, Latha P B, Kandanattu B, et al. The oral microbiome and systemic health: bridging the gap between dentistry and medicine[J]. Cureus, 2025, 17(2): e78918.
- [8] Zhang C, Li G, Lu T, et al. The interaction of microbiome and pancreas in acute pancreatitis[J]. Biomolecules, 2023, 14(1): 59.
- [9] 钱泉, 刘银辉. 口腔微生物在牙周健康中的作用研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2025, 37(2): 228-232.
- [10] Li R, Hu Y, Hou S. An exploration of oral-gut pathogens mediating immune escape of pancreatic cancer via miR-21/PTEN axis[J]. Front Microbiol, 2022, 13: 928846.
- [11] Liu Y, Liu H, Rong Y, et al. Alterations of oral microbiota are associated with the development and severity of acute pancreatitis[J]. J Oral Microbiol, 2023, 15(1): 2264619.
- [12] 宏欣, 王立明, 张正良, 等. 高甘油三酯血症性急性胰腺炎诊治急诊专家共识[J]. 中国全科医学, 2021, 24(30): 3781-3793.
- [13] Zhang Y, Du Y, Mu Z, et al. Impact of seasonal changes on root-associated microbial communities among phreatophytes of three basins in desert ecosystem[J]. Front Plant Sci, 2025, 16: 1554879.
- [14] Liao W, Cao L, Jiang X, et al. Intestinal overexpression of Pla2g10 alters the composition, diversity and function of gut microbiota in mice[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2025, 15: 1535204.
- [15] Guo H J, Ma X Q, Li Y T, et al. Correlation between depressive-like behavior and gut microbiota in mice with hypothyroidism[J]. World J Psychiatry, 2025, 15(7): 104921.
- [16] Wang Y, Guo H, Gao X, et al. The intratumor microbiota signatures associate with subtype, tumor stage, and survival status of esophageal carcinoma[J]. Front Oncol, 2021, 11: 754788.
- [17] Callahan B J, McMurdie P J, Holmes S P. Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis[J]. Isme j, 2017, 11(12): 2639-2643.
- [18] Li B, Zhang X, Guo F, et al. Characterization of tetracycline resistant bacterial community in saline activated sludge using batch stress incubation with high-throughput sequencing analysis[J]. Water Res, 2013, 47(13): 4207-4216.
- [19] Frazier A N, Willis W, Robbe H, et al. Characterization and assembly dynamics of the microbiome associated with swine anaerobic lagoon manure treated with biochar[J]. Microorganisms, 2025, 13(4): 758.
- [20] Su P, Kang H, Peng Q, et al. Microbiome homeostasis on rice leaves is regulated by a precursor molecule of lignin biosynthesis[J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 23.
- [21] Khleborodova A, Gamboa-Tuz S D, Ramos M, et al. lefser: implementation of metagenomic biomarker discovery tool, LEfSe, in R[J]. Bioinformatics, 2024, 40(12): btac707.
- [22] Zhang X, Zhang D, Jia H, et al. The oral and gut microbiomes are perturbed in rheumatoid arthritis and partly normalized after treatment[J]. Nat Med, 2015, 21(8): 895-905.
- [23] Tan X, Wang Y, Gong T. The interplay between oral microbiota, gut microbiota and systematic diseases[J]. J Oral Microbiol, 2023, 15: 2213112.

• 论 著 •

探讨不同标本状态对全自动毛细管血清蛋白电泳的影响

许新强^{1,2}, 刘基铎^{1,2}, 刘光平^{1,2}, 卢卫国^{1,2}, 吴金峰³

1. 广州中医药大学第一附属医院检验科, 广东广州 510405; 2. 广东省中医临床研究院, 广东广州 510405; 3. 广州中医药大学第一临床学院, 广东广州 510405

摘要:目的 探讨溶血、黄疸、脂浊及高浓度纤维蛋白原标本对全自动毛细管血清蛋白电泳的影响。方法 使用全自动毛细管电泳仪及相应试剂, 在 11.7 kV 电压、22 °C、pH>8.9 的缓冲液条件下, 在 30 cm × 50 μm 硅毛细管内对不同程度的溶血、黄疸、脂浊和高浓度纤维蛋白原的标本进行血清蛋白电泳, 波长检测范围为 200~600 nm。结果 溶血标本会对血清蛋白电泳产生干扰, 使 β₁ 条带假性升高, 形成一个类似单克隆免疫球蛋白(M 蛋白)的“尖峰”, 假性条带升高程度随着溶血的严重度增加而升高。在免疫固定电泳中, 当 M 蛋白出现在 γ 区时, 溶血后对免疫分型结果无影响。当 M 蛋白出现的位置恰好与血清中的血红蛋白的电泳位置相同即位于 β 区时, 若溶血后血清中的血红蛋白浓度不大于 4 g/L, 则免疫分型结果不受影响。黄疸和脂浊标本对血清蛋白电泳未观察到干扰。高浓度的纤维蛋白原会阻碍血浆蛋白电泳。结论 溶血和高浓度纤维蛋白原会对血清蛋白电泳结果产生影响, 而黄疸和脂浊状态的标本在进行血清蛋白电泳时未观察到干扰。

关键词:血清蛋白电泳; 全自动毛细管; 溶血

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2026.14.002

中图法分类号:R446.1

文章编号:1673-4130(2026)14-1672-11

文献标志码:A

Exploring the influence of different specimen states on fully automated capillary serum protein electrophoresis

Xu Xinqiang^{1,2}, Liu Jiduo^{1,2}, Liu Guangping^{1,2}, Lu Weiguo^{1,2}, Wu Jinfeng³

1. Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510405, China; 2. Guangdong Institute of Chinese Medicine Clinical Research, Guangzhou, Guangdong 510405, China; 3. First Clinical College, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510405, China

Abstract: **Objective** To investigate the effects of hemolysis, jaundice, lipid turbidity, and high fibrinogen on fully automated capillary serum protein electrophoresis. **Methods** A fully automated capillary electrophoresis instrument and corresponding reagents were used to perform serum protein electrophoresis on specimens with different degrees of hemolysis, jaundice, lipid turbidity, and fibrinogen in a 30 cm × 50 μm silicon capillary under buffer conditions of 11.7 kV voltage, 22 °C, and pH>8.9. The wavelength detection range was 200—600 nm. **Results** Hemolytic specimens would interfere with serum protein electrophoresis, causing a pseudo elevation of the band in the β₁ region, forming a "peak" similar to monoclonal immunoglobulin (M protein). The degree of pseudo elevation increased with the severity of hemolysis. In immunophenotyping electrophoresis, when M protein appears in the r region, hemolysis has no effect on the immunophenotyping results. When the position of M protein is exactly the same as the electrophoretic position of hemoglobin in the serum, that is, in the β region, if the hemoglobin concentration in the hemolytic serum is not greater than 4 g/L, the immune typing result is not affected. No interference was observed in serum protein electrophoresis with jaundice and lipid turbidity specimens. High concentrations of fibrinogen can hinder plasma protein electrophoresis. **Conclusion** Hemolysis and high concentration of fibrinogen can affect the results of serum protein electrophoresis, while no interference was observed in samples with jaundice and lipid turbidity during serum protein electrophoresis.