

- 子宫内膜癌患者临床病理特征和预后的关系[J]. 现代生物医学进展, 2024, 24(22): 4308-4310.
- [12] 子宫内膜癌筛查专家委员会. 子宫内膜癌筛查和早期诊断专家共识(草案)[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2017, 33(10): 1050-1052.
- [13] Paleari L. New strategies for endometrial cancer detection and management[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(7): 6462.
- [14] Maheshwari E, Nougaret S, Stein E B, et al. Update on MRI in evaluation and treatment of endometrial cancer[J]. RadioGraphics, 2022, 42(7): 2112-2130.
- [15] 周玉, 郑轶, 王才智, 等. 术前 MRI 放射组学特征联合血清 CA125、CA153、CEA 对非雌激素依赖型子宫内膜癌的预测价值[J]. 中国妇产科临床杂志, 2024, 25(5): 408-411.
- [16] Yang X, Cheng Y, Zhou J, et al. Targeting cancer metabolism plasticity with JX06 nanoparticles via inhibiting PDK1 combined with metformin for endometrial cancer patients with diabetes[J]. Adv Sci (Weinh), 2022, 9(8): e2104472.
- [17] Glaviano A, Foo A S C, Lam H Y, et al. PI3K/AKT/mTOR signaling transduction pathway and targeted therapies in cancer[J]. Mol Cancer, 2023, 22(1): 138.
- [18] Ding L, Ren C, Yang L, et al. OSU-03012 disrupts AKT signaling and prevents endometrial carcinoma progression in vitro and in vivo[J]. Drug Des Devel Ther, 2021, 15: 1797-1810.
- [19] Wei Y, Zhang D, Shi H, et al. PDK1 promotes breast cancer progression by enhancing the stability and transcriptional activity of HIF-1 $\alpha$ [J]. Genes Dis, 2024, 11(4): 101041.
- [20] Zhang L, Yan L, Fu X, et al. PDK1 promotes epithelial ovarian cancer progression by upregulating BGN[J]. Acta Biochim Biophys Sin, 2024, 57(5): 712-726.
- [21] Wang N, Fu J, Li Z, et al. The landscape of PDK1 in breast cancer[J]. Cancers, 2022, 14(3): 811.
- [22] Shi Y, Min X, Li Y, et al. Yinjia pills inhibits the malignant biological behavior of HeLa cells through PKM2-mediated inhibition of JAK/STAT3 pathway[J]. Cytotechnology, 2024, 77(1): 5.
- [23] 周闯, 陆旭, 宋盛平, 等. PKM2 对肝内胆管癌细胞增殖及上皮间质化的影响[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2021, 42(1): 25-29.
- [24] Wang J Z, Zhu W, Han J, et al. The role of the HIF-1 $\alpha$ /ALYREF/PKM2 axis in glycolysis and tumorigenesis of bladder cancer[J]. Cancer Commun (Lond), 2021, 41(7): 560-575.
- [25] Zhang Q, Zhang J, Yao A, et al. OTUB2 promotes the progression of endometrial cancer by regulating the PKM2-mediated PI3K/AKT signaling pathway[J]. Cell Biol Int, 2023, 47(2): 428-438.

(收稿日期: 2025-10-16 修回日期: 2026-03-01)

• 短篇论著 •

## 基于宏基因组二代测序的肾移植术后长期患者并发耶氏肺孢子菌肺炎的临床特征分析<sup>\*</sup>

吴欣媛<sup>1</sup>, 杨卫华<sup>1</sup>, 李上根<sup>1</sup>, 闵 敏<sup>2</sup>, 周运恒<sup>1△</sup>

上海市静安区闸北中心医院: 1. 检验科; 2. 肾移植康复科, 上海 200070

**摘要:**目的 探讨宏基因组二代测序(mNGS)对肾移植术后长期患者并发耶氏肺孢子菌肺炎(PJP)的诊断价值, 并分析 mNGS 确诊的 PJP 患者与非 PJP 患者的临床特征差异。方法 选取 2022 年 10 月 1 日至 2025 年 6 月 30 日在该院确诊的 32 例肾移植术后长期并发 PJP 的患者作为 PJP 组, 29 例肾移植术后长期未发生 PJP 的患者作为非 PJP 组。对两组样本均进行微生物学常规培养, 采用 mNGS 技术检测两组患者的外周血及痰液样本。收集两组患者肾功能、炎症相关指标等常规实验室检测指标。结果 PJP 组血尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、胱抑素 C(Cys-C)和尿微量白蛋白(U-mALB)水平高于非 PJP 组( $P < 0.05$ )。PJP 组肾小球滤过率(EGFR)低于非 PJP 组( $P < 0.05$ )。PJP 组患者中, 混合感染多种病毒的占比较高。结论 mNGS 可为肾移植术后长期患者并发 PJP 的诊断及抗感染治疗提供有价值的信息。肾功能指标可为临床筛查 PJP 高危人群、制订个性化监测策略提供参考。

**关键词:** 耶氏肺孢子菌肺炎; 肾移植; 宏基因组二代测序; 肾功能

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2026.15.023

**中图法分类号:** R446.5; R699.2

**文章编号:** 1673-4130(2026)15-1915-06

**文献标识码:** A

肾移植受者(KTRs)长期使用免疫抑制剂, 会削弱体液免疫和细胞免疫功能, 因此感染是其常见的并

\* 基金项目: 上海市静安区科技委员会/卫生健康委员会面上项目(2025MS08)。

△ 通信作者, E-mail: Hongniwan@aliyun.com。

发症之一。由于术后 KTRs 生理结构发生多种变化,患者易发生呼吸系统和泌尿系统感染,常伴有细菌、真菌和病毒等多种微生物感染<sup>[1-2]</sup>,在众多感染中,耶氏肺孢子菌肺炎(PJP)是一种严重甚至危及生命的机会性感染,发病率较高,对 KTRs 构成巨大威胁<sup>[3-4]</sup>。PJP 诊断延迟会增加移植功能丧失及死亡风险<sup>[5-6]</sup>。目前,临床上将肾移植术后 6 个月内发生的 PJP 定义为早期 PJP,得益于移植技术进步、免疫抑制剂优化及围手术期规范管理与预防,其并发症发生率已有效控制,相关研究与防治策略相对成熟<sup>[7-9]</sup>。而术后 6 个月以上的迟发性 PJP 长期未获足够关注。相关研究证实,迟发性 PJP 在 KTRs 中并不少见,发病率及致死风险不逊于早期 PJP<sup>[10]</sup>,但由于缺乏特征性的临床症状和合适的实验室检测方法,PJP 通常难以被及时识别和诊断<sup>[11]</sup>。宏基因组二代测序(mNGS)是一种高度敏感的微生物组分析方法<sup>[12]</sup>。作为一种一体化的诊断工具,mNGS 已成功应用于多种感染性疾病的诊断,与传统方法相比,mNGS 检出率更高<sup>[2,13-14]</sup>。本研究拟探索肾移植术后 6 个月以上患者,mNGS 能否用于 PJP 的诊断,并评估 PJP 与非 PJP 肾移植长期患者的临床和实验室特征差异。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 本研究为单中心回顾性队列研究。选择 2022 年 10 月 1 日至 2025 年 6 月 30 日在本院确诊为肺部感染的 61 例肾移植术后 6 个月以上的患者作为研究对象,根据诊断结果分为肾移植术后长期并发 PJP 患者(PJP 组)和非 PJP 患者(非 PJP 组)。所有患者入院时均行胸部高分辨率计算机断层扫描,结果显示肺部有网状和或磨玻璃样渗出影,无或有胸腔积液,符合间质性肺炎的特征。取 40 份外周血样本和 40 份支气管肺泡灌洗液(BALF)/痰液样本送至华大基因进行检测。19 例患者样本同时检测了血液和 BALF/痰液样本。为节省费用和时间,本研究仅通过 mNGS 检测细菌、真菌、RNA 病毒和 DNA 病毒。通过 mNGS 方法,在 40 份外周血样本中成功诊断出 20 例 PJP,在 40 份痰液样本中诊断出 23 例 PJP。其中,11 例血液和痰液样本均为 PJP 阳性,8 例血液和痰液样本均为 PJP 阴性。最终,将 32 例 PJP 患者纳入 PJP 组,29 例非 PJP 患者纳入非 PJP 组。本研究通过上海市静安区闸北中心医院医学伦理会批准(批件号:ZBL2024090901001),符合《赫尔辛基宣言》的原则。所有参与者自愿参与本研究,并签署知情同意书。

**1.2 常规免疫抑制方案** 所有患者初始均使用三联免疫抑制剂方案(一种钙调神经磷酸酶抑制剂,他克莫司/环孢素 A+霉酚酸酯+泼尼松),长期维持并根据血药浓度及时调整剂量。

### 1.3 mNGS 检测方法

**1.3.1 核酸提取** 分别针对不同样本类型采用优化

流程提取总核酸。对外周血样本(2 mL),使用 Mag-MAX<sup>TM</sup> Cell-Free DNA Isolation Kit(华大基因),严格遵循说明书通过磁珠法提取游离 DNA。对 BALF 及痰液样本,则采用 QIAamp DNA Mini Kit(Qiagen,德国)并辅以华大基因改进方案。所有提取产物均通过 Nanodrop 2000 进行质控,要求产物质量浓度 $\geq 10$  ng/ $\mu$ L,纯度满足  $A_{260}/A_{280}$  在 1.8~2.0,  $A_{260}/A_{230} \geq 1.5$ 。

**1.3.2 文库构建** 使用 MGIEasy DNA Library Prep Kit,以 30 ng 合格核酸为起始。依次进行末端修复与加 A 尾、特异性接头连接(含样本标签),再经磁珠筛选获取 150~400 bp 片段,最后通过扩增完成文库制备。最终文库通过 Agilent 2100 Bioanalyzer 和 Qubit 4.0 进行质量验证。

**1.3.3 测序参数** 文库在 Illumina Hiseq 4000 平台(华大基因)上进行双末端测序(PE150)。插入片段为 350 bp,外周血与 BALF/痰液样本分别要求产生不低于 500 万条和 1 000 万条有效读长(reads)。

**1.3.4 数据质控与宿主序列去除** (1)数据预处理:使用 fastp(V0.23.2)过滤原始数据,去除含接头、N 碱基含量高( $\geq 10\%$ )、低质量( $Q \leq 20$  碱基占比 $\geq 50\%$ )及过短( $< 35$  bp)的 reads。随后,利用 Picard MarkDuplicates V2.27.5 去除 PCR 重复序列。(2)宿主序列去除:将预处理后的 clean reads 比对至人类参考基因组(GRCh38/hg38,BWA-MEM 算法,一致性 $\geq 99\%$ ),去除宿主来源序列。

**1.3.5 病原体比对与阳性判定标准** (1)细菌、真菌、病毒基因的参考基因组。从 NCBI RefSeq 和 GenBank 下载,构建本地化病原微生物数据库。采用 BWA-MEM 算法将微生物候选 reads 与数据库进行比对,设定严格比对条件。统计匹配到各病原体的序列数,结合基因组覆盖分散度,计算相对丰度并生成病原体谱<sup>[15]</sup>。(2)阳性判定标准如下。真菌和病毒:比对读数 $\geq 3$ 、置信度 $> 99\%$ 、相对丰度 $> 5\%$ ;细菌(非结核分枝杆菌)和寄生虫:比对读数排名前 5 且不在背景库中;由于结核分枝杆菌 DNA 提取困难且污染可能性低,若在物种或属水平至少有 1 个比对读数,则判定为阳性<sup>[13,16-17]</sup>。

**1.4 其他指标检测** 肾功能指标由迈瑞 BS2000 自动生化分析仪检测,包括血尿素氮(BUN)、尿酸(UA)、肌酐(Cr)、胱抑素 C(Cys-C)、乳酸脱氢酶(LDH)、预估肾小球滤过率(eGFR)。尿微量白蛋白(U-mALB)由西门子 BNII 特定蛋白分析仪检测。血清 1,3- $\beta$ -D-葡聚糖试验采用天津喜诺 IGL-800 全自动真菌细菌动态检测仪检测(免疫比浊法);白细胞计数采用电阻抗法,C 反应蛋白(CRP)采用迈瑞全自动血液分析仪检测。降钙素原(PCT)和白细胞介素-6(IL-6)由南京仁迈全自动化学发光测定仪检测(化学

发光法)。

**1.5 统计学处理** 采用 SPSS27.0 统计软件进行数据分析。呈正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用  $t$  检验进行组间比较,不呈正态分布时,以  $M(P_{25}, P_{75})$  表示,采用非参数检验进行组间比较。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验或 Fisher 精确法。将单因素分析中差异有统计学意义的因素重新赋值并纳入多因素 Logistic 回归分析。取双侧检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

**2.1 PJP 组与非 PJP 组临床结局及基线资料比较** PJP 组住院期间,8 例发生急性肾衰竭,经血液透析治疗后恢复;5 例血液和痰液样本均为 PJP 阳性的患者死亡,1 例死于严重急性呼吸窘迫综合征

(ARDS),1 例死于感染性休克(肺炎克雷伯菌败血症)。非 PJP 组患者最终均康复。PJP 组与非 PJP 组年龄、性别、体重指数(BMI)、入院时肾移植术后时间、合并高血压、合并糖尿病患者比例等基线资料比较,差异无统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

**2.2 PJP 组与非 PJP 组实验室检测指标比较** PJP 组 BUN、Cr、Cys-S 和 U-ALB 显著高于非 PJP 组( $P < 0.05$ ),入院时 eGFR 显著低于非 PJP 组( $P < 0.05$ )。将单因素分析与 PJP 感染相关的变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,BUN( $OR = 1.291, 95\% CI: 1.089 \sim 1.531, P = 0.003$ )和 Cr( $OR = 0.989, 95\% CI: 0.978 \sim 1.000, P = 0.041$ )均是引起 PJP 感染的独立危险因素( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 1 PJP 组与非 PJP 组的临床基线特征比较[ $\bar{x} \pm s$  或  $n(\%)$  或  $M(P_{25}, P_{75})$ ]

| 项目                      | PJP 组( $n=32$ ) | 非 PJP 组( $n=29$ ) | $t/\chi^2/Z$ | $P$   |
|-------------------------|-----------------|-------------------|--------------|-------|
| 年龄(岁)                   | 51.77±13.86     | 53.52±9.41        | 0.338        | >0.05 |
| 性别                      |                 |                   | 0.388        | >0.05 |
| 男                       | 20(62.5)        | 16(55.2)          |              |       |
| 女                       | 12(37.5)        | 13(44.8)          |              |       |
| BMI(kg/m <sup>2</sup> ) | 22.9±3.0        | 23.5±2.8          | 0.263        | >0.05 |
| 移植后时间(年)                | 13.0(9.0,16.8)  | 13.0(8.5,21.5)    | 0.007        | >0.05 |
| 免疫抑制剂                   |                 |                   | 0.739        | >0.05 |
| 他克莫司+霉酚酸酯+泼尼松           | 17(53.1)        | 15(51.7)          |              |       |
| 环孢霉素 A+霉酚酸酯+泼尼松         | 8(25.0)         | 9(31.3)           |              |       |
| 其他                      | 7(21.9)         | 5(17.2)           |              |       |
| 合并高血压                   | 26(81.2)        | 22(75.8)          | 0.263        | >0.05 |
| 合并糖尿病                   | 14(43.8)        | 12(41.4)          | 0.035        | >0.05 |
| 肾移植后功能衰竭                | 8(25.0)         | 0(0.0)            |              |       |
| 死亡                      | 5(15.6)         | 0(0.0)            |              |       |

表 2 PJP 组与非 PJP 组的实验室检测特征[ $M(P_{25}, P_{75})$  或  $n(\%)$ ]

| 项目                         | PJP 组( $n=32$ )       | 非 PJP 组( $n=29$ )     | 单因素分析      |       | 多因素分析              |       |
|----------------------------|-----------------------|-----------------------|------------|-------|--------------------|-------|
|                            |                       |                       | $Z/\chi^2$ | $P$   | $OR(95\%CI)$       | $P$   |
| 白细胞计数( $\times 10^9/L$ )   | 6.94(4.74,9.96)       | 8.05(5.87,10.05)      | 0.564      | >0.05 | —                  | —     |
| 中性粒细胞计数( $\times 10^9/L$ ) | 5.10(3.00,8.40)       | 5.50(4.43,8.11)       | 0.830      | >0.05 | —                  | —     |
| CRP(mg/L)                  | 12.80(3.40,39.20)     | 18.3(1.80,32.45)      | 0.035      | >0.05 | —                  | —     |
| PCT(ng/mL)                 | 0.21(0.09,0.61)       | 0.11(0.07,0.53)       | 1.303      | >0.05 | —                  | —     |
| LDH(U/L)                   | 289.00(205.00,484.00) | 241.00(198.50,322.00) | 1.625      | >0.05 | —                  | —     |
| BUN(mmol/L)                | 19.85(13.87,28.25)    | 9.20(5.75,9.20)       | 10.140     | <0.05 | 1.291(1.089~1.531) | <0.05 |
| Cr( $\mu$ mol/L)           | 223.55(134.65,301.70) | 112.90(88.80,181.15)  | 6.380      | <0.05 | 0.989(0.978~1.000) | <0.05 |
| UA( $\mu$ mol/L)           | 395.50(283.50,456.00) | 354.00(294.50,436.50) | 0.025      | >0.05 | —                  | —     |
| Cys-C(mg/L)                | 2.87(2.14,3.62)       | 1.88(1.24,2.62)       | 6.200      | <0.05 | 1.111(0.677~1.822) | >0.05 |
| U-mALB(mg/L)               | 124.00(22.80,701.00)  | 23.20(10.80,89.70)    | 8.922      | <0.05 | 1.001(0.999~1.003) | >0.05 |
| eGFR(mL/min)               | 26.48(17.15,37.08)    | 54.70(27.90,75.60)    | 7.061      | <0.05 | 1.006(0.975~1.037) | >0.05 |

续表 2 PJP 组与非 PJP 组的实验室检测特征[ $M(P_{25}, P_{75})$  或  $n(\%)$ ]

| 项目                                              | PJP 组( $n=32$ )       | 非 PJP 组( $n=29$ )     | 单因素分析      |       | 多因素分析        |     |
|-------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|------------|-------|--------------|-----|
|                                                 |                       |                       | $Z/\chi^2$ | $P$   | $OR(95\%CI)$ | $P$ |
| IL-6(pg/mL)                                     | 7.11(2.94,15.05)      | 6.59(5.53,17.11)      | 0.107      | >0.05 | —            | —   |
| 真菌 1,3- $\beta$ -D 葡聚糖(pg/mL)                   | 10.00(10.00,143.42)   | 10.00(10.00,96.20)    | 1.106      | >0.05 | —            | —   |
| 真菌 1,3- $\beta$ -D 葡聚糖试验>60 pg/mL(%)            | 12(37.5)              | 18(62.1)              | 0.405      | >0.05 | —            | —   |
| 自然杀伤细胞(/ $\mu$ L)                               | 70.95(35.38,121.05)   | 93.76(24.10,123.84)   | 0.008      | >0.05 | —            | —   |
| 辅助诱导 T 淋巴细胞 CD4 <sup>+</sup> 计数(/ $\mu$ L)      | 216.62(117.00,494.50) | 291.00(129.60,582.10) | 0.317      | >0.05 | —            | —   |
| 抑制细胞毒 T 淋巴细胞 CD8 <sup>+</sup> 计数(/ $\mu$ L)     | 325.00(139.55,496.60) | 234.4(105.80,357.30)  | 0.909      | >0.05 | —            | —   |
| 辅助诱导 T 淋巴细胞 CD4 <sup>+</sup> 计数>200/ $\mu$ L(%) | 18(56.2)              | 18(62.1)              | 0.213      | >0.05 | —            | —   |

注：—表示无数据。

**2.3 非 PJP 组病原学特征** 非 PJP 组均排除耶氏肺孢子菌感染,病原学以单一种类感染为主(占 79.31%),主要类型为细菌和病毒。细菌感染最多的为肺炎克雷伯菌(10 例,占 34.48%),病毒感染以流感病毒为主(6 例,占 20.69%),真菌感染仅检出白念珠菌(6 例,占 20.69%)。混合感染(占 20.69%),主要以细菌+病毒为主。见表 3。

表 3 非 PJP 组经 mNGS 检出的各种病原微生物检测情况

| 微生物种类           | 例数( $n$ ) | 阳性率(%) |
|-----------------|-----------|--------|
| 细菌              |           |        |
| 肺炎克雷伯菌          | 10        | 34.48  |
| 大肠埃希菌           | 8         | 27.59  |
| 铜绿假单胞菌          | 5         | 17.24  |
| 金黄色葡萄球菌         | 3         | 10.34  |
| 鲍曼不动杆菌复合群       | 3         | 10.34  |
| 病毒              |           |        |
| 流感病毒            | 6         | 20.69  |
| 呼吸道合胞病毒         | 4         | 13.79  |
| 副流感病毒           | 3         | 10.34  |
| 腺病毒             | 2         | 6.90   |
| 真菌              |           |        |
| 白念珠菌            | 6         | 20.69  |
| 光滑念珠菌           | 5         | 17.24  |
| 黄曲霉             | 3         | 10.34  |
| 混合感染            |           |        |
| 肺炎克雷伯+流感病毒      | 2         | 6.90   |
| 金黄色葡萄球菌+呼吸道合胞病毒 | 2         | 6.90   |
| 铜绿假单胞菌+副流感病毒    | 1         | 3.45   |
| 大肠埃希菌+白念珠菌      | 1         | 3.45   |

**2.4 PJP 组病原学特征** 在 32 例 PJP 组患者中,17 例(占 53.13%)样本存在不同种类组合的病原体混合感染(细菌+病毒、真菌+病毒),13 例(占 76.47%)的临床结局相对较差,5 例(占 29.41%)死亡,8 例(占 47.05%)并发急性肾功能衰竭。其余 15 例(占

46.87%)仅合并单一种类病原体感染(非混合感染)的 PJP 患者,其病情严重程度相对较低。见表 4。

表 4 PJP 患者经 mNGS 检出的各种病原微生物检查结果

| 微生物种类         | 例数( $n$ ) | 阳性率(%) |
|---------------|-----------|--------|
| 病毒            |           |        |
| EB 病毒(EBV)    | 26        | 81.25  |
| 人类疱疹病毒(HSV)   | 18        | 56.25  |
| 巨细胞病毒(CMV)    | 2         | 6.20   |
| 甲型流感病毒        | 2         | 6.20   |
| 腺病毒           | 2         | 6.20   |
| 真菌            |           |        |
| 耶氏肺孢子菌        | 32        | 100.00 |
| 白念珠菌          | 5         | 15.62  |
| 黄曲霉           | 4         | 12.50  |
| 光滑念珠菌         | 4         | 12.50  |
| 热带念珠菌         | 3         | 9.37   |
| 米曲霉           | 3         | 9.37   |
| 细菌            |           |        |
| 流感嗜血杆菌        | 14        | 47.38  |
| 副流感嗜血杆菌       | 11        | 34.37  |
| 肺炎链球菌         | 10        | 31.25  |
| 铜绿假单胞菌        | 6         | 18.75  |
| 粪肠球菌          | 6         | 18.75  |
| 鲍曼不动杆菌复合群     | 6         | 18.75  |
| 混合感染          |           |        |
| 流感嗜血杆菌+EBV    | 8         | 25.00  |
| 肺炎链球菌+EBV+HSV | 6         | 18.75  |
| 白念珠菌+EBV+CMV  | 3         | 9.37   |

3 讨 论

KTRs 作为免疫力低下的人群,对各类机会性感染的易感性增加<sup>[18-19]</sup>。在众多病原体感染的并发症中,PJP 病情严重,不仅会干扰移植术后整体治疗进程,还对患者疾病预后产生显著负面影响<sup>[6]</sup>。然而,由于 PJP 的临床表现缺乏特异性,且传统诊断方法

(如痰涂片、BALF 样本的显微镜染色检查、荧光染色等)在灵敏度和特异度上均存在明显不足,其诊断往往具有挑战性<sup>[4]</sup>。目前其他检测方法,如分子检测技术(PCR)等,虽具有快速、敏感的特点<sup>[20]</sup>,但 PCR 检测需要预先知晓或怀疑特定病原体感染<sup>[13]</sup>。但 KTRs 患者常发生多种病原体的混合感染,无论是 PJP 患者还是非 PJP 患者在感染初期都难以被预先识别并逐一排查<sup>[13-14,21]</sup>。这极大限制了 PCR 技术在 KTRs 感染诊断中的应用价值。

本研究结果发现,经 mNGS 确诊为 PJP 组患者 BUN、Cr、Cys-S、U-mALB 及 eGFR 与非 PJP 组比较,差异有统计学意义( $<0.05$ )。这一结果提示,上述肾功能相关指标不仅可反映肾移植术后长期患者的基础肾功能状态,还能为评估 PJP 所致肾损伤程度、预测疾病预后提供额外的临床参考依据,具有重要的实践意义。

值得注意的是,本研究结果与部分既往研究存在差异。有研究指出,CD8<sup>+</sup> T 细胞百分比升高和低清蛋白血症是 PJP 的潜在危险因素<sup>[3]</sup>,但本研究中,PJP 组和非 PJP 组的免疫细胞因子(IL-6、自然杀伤细胞、CD4<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup>)差异无统计学意义。推测可能与以下因素相关:第一,免疫抑制剂的持续抑制作用。本研究纳入的均为肾移植术后 6 个月以上的长期患者,均长期维持多联免疫抑制方案。这类药物可长期影响 T 淋巴细胞活化、增殖及细胞因子分泌,同时对自然杀伤细胞的杀伤功能和数量也具有显著调控作用<sup>[8-9]</sup>。无论患者是否合并 PJP 感染,其免疫系统均处于持续的“低反应状态”,使得感染相关的免疫细胞数量波动和细胞因子释放被显著压制,难以形成可检测的统计学差异。第二,疾病阶段与合并感染的干扰。本研究中 PJP 组患者普遍存在 EBV、流感嗜血杆菌等多种病原体混合感染,不同病原体对免疫指标的影响可能相互拮抗或叠加,例如 EBV 可诱导 CD8<sup>+</sup> T 细胞增殖,而细菌感染可能促进 IL-6 释放,但混合感染状态下,这种单一病原体的特异性免疫反应被稀释,导致与非 PJP 组(同样可能存在其他感染)的免疫指标差异缩小。

此外,作为临床常用的真菌感染血清学检测指标 1,3- $\beta$ -D 葡聚糖虽被部分研究用于辅助提高 PJP 诊断率<sup>[22-23]</sup>,但其诊断有效性始终存在争议<sup>[24]</sup>。本研究结果显示,PJP 组与非 PJP 组患者 1,3- $\beta$ -D 葡聚糖水平差异无统计学意义,这与 Del Corpo 等<sup>[24]</sup>的研究结论一致。原因可能是:一方面,1,3- $\beta$ -D 葡聚糖本质是广谱真菌标志物,其升高仅提示机体存在真菌细胞壁代谢活动,无法区分真菌种类,本研究中,PJP 组除耶氏肺孢子菌感染外,还普遍合并非 PJP 真菌感染,包括白念珠菌、黄曲霉等多种条件致病性真菌,这类真菌感染会导致 1,3- $\beta$ -D 葡聚糖释放增加;另一方面,非

PJP 组也存在多类真菌感染,同样会引发 1,3- $\beta$ -D 葡聚糖水平上升,两组均存在的非特异性真菌感染,使得 PJP 感染本身所致的 1,3- $\beta$ -D 葡聚糖升高被“掩盖”。本研究结果提示,1,3- $\beta$ -D 葡聚糖试验或仅可作为筛查而非确认手段。

除诊断价值外,本研究通过 mNGS 分析 PJP 组与非 PJP 组病原学特征存在显著差异,PJP 组混合感染率达 53.13%,普遍性明显,非 PJP 组以单一种类感染为主,混合感染仅占 20.68%。这一差异原因可能是 PJP 对 KTRs 免疫系统的破坏。耶氏肺孢子菌作为机会性真菌,其感染本身即标志免疫功能严重受损,叠加长期免疫抑制,进一步打破机体对条件致病菌的防御平衡,为其他病原体侵袭创造更多条件,最终形成多病种协同感染<sup>[18-19]</sup>。

病原体构成来看,PJP 组混合感染以 EB 病毒、人类疱疹病毒等与流感嗜血杆菌、副流感嗜血杆菌等细菌联合感染为主,白念珠菌等真菌为辅;非 PJP 组病原体更具专属性,细菌以肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌为主,病毒以流感病毒、呼吸道合胞病毒为主。原因在于,PJP 组混合感染是“免疫功能严重缺陷下的机会性感染叠加”,病原体多为体内定植或环境中低致病性微生物,其致病依赖于“免疫抑制—原发感染—继发感染”的恶性循环;而非 PJP 组多为社区或医院获得性特异性病原体感染,对免疫抑制患者的侵袭性较弱,较少引发多病原体协同感染。

更重要的是,PJP 组混合感染类型与临床结局明确关联,急性肾衰竭和病死率明显增高;非 PJP 组无论单感染还是混合感染患者,最终均全部康复,无急性肾衰竭或死亡病例。这提示混合感染复杂性是 PJP 患者预后不佳的关键——多种病原体协同作用会放大炎症反应,既加重肺损伤,又累及肾脏导致肾功能恶化,同时增加抗感染治疗难度,易因治疗不及时或靶向不足升高不良风险。

mNGS 是一种综合性检测技术,其核心优势在于可基于核酸序列无偏倚识别临床样本中所有潜在的致病微生物,且检测周转时间可缩短至 48 h 以内<sup>[21]</sup>。这一优势不仅能大幅提升肾移植术后长期患者并发 PJP 的诊断速度,为临床尽早制订精准抗感染治疗方案争取时间,还能全面揭示混合感染情况,避免因漏诊合并病原体导致的治疗失败。尤其对于长期接受免疫抑制治疗、机会性真菌感染高发的 KTRs 而言,mNGS 可有效弥补 1,3- $\beta$ -D 葡聚糖指标特异性不足的缺陷,为 PJP 的精准诊断提供有力支持。

总之,本研究通过回顾性分析证实,mNGS 可为肾移植术后长期患者发生 PJP 的诊断提供精准、全面的病原学信息,有助于识别潜在病原体及合并感染情况。同时,明确了 PJP 在肾移植术后不同时期均可能发生且危害严重。此外,BUN 和 Cr 等传统肾功能指

标是肾移植术后长期患者发生 PJP 的独立危险因素,提示当这类患者肾功能指标异常升高时,发生 PJP 的风险显著增加,可为临床筛查 PJP 高危人群、制订个性化监测策略提供参考。

参考文献

[1] Anastasopoulos N A, Duni A, Peschos D, et al. The spectrum of infectious diseases in kidney transplantation: a review of the classification, pathogens and clinical manifestations[J]. In Vivo, 2015, 29(4): 415-422.

[2] Xu J, Yu Y, Lv J, et al. Application of metagenomic next-generation sequencing to diagnose *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in kidney transplantation recipients[J]. Ann Transplant, 2021, 26: e931059.

[3] Zhu X, Xie M, Fan J, et al. Clinical characteristics and risk factors for late-onset *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in kidney transplantation recipients[J]. Mycoses, 2024, 67(1): e13688.

[4] Chen J, He T, Li X, et al. Metagenomic next-generation sequencing in diagnosis of a case of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in a kidney transplant recipient and literature review[J]. Infect Drug Resist, 2020, 13: 2829-2836.

[5] Morrell M, Fraser V J, Kollef M H. Delaying the empiric treatment of *Candida* bloodstream infection until positive blood culture results are obtained: a potential risk factor for hospital mortality[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49(9): 3640-3645.

[6] Xie D, Xu W, You J, et al. Clinical descriptive analysis of severe *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in renal transplantation recipients[J]. Bioengineered, 2021, 12(1): 1264-1272.

[7] Lee G, Koo T Y, Kim H W, et al. Comparison of early and late *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia in kidney transplant patients: the Korean Organ Transplantation Registry (KOTRY) Study[J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 10682.

[8] Hill P, Cross N B, Barnett A N, et al. Polyclonal and monoclonal antibodies for induction therapy in kidney transplant recipients[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2017, 1(1): CD004759.

[9] Yang P, Zhu X, Liang W, et al. The risk factor analysis and treatment experience in *Pneumocystis jirovecii* pneumonia after kidney transplantation[J]. Mycoses, 2021, 64(5): 495-502.

[10] 闵敏, 李上根, 杨卫华, 等. 肾移植术后长期患者尿液支原体与细菌分布及危险因素分析[J]. 中华检验医学杂志, 2025, 48(3): 337-345.

[11] Carugati M, Morlacchi L C, Peri A M, et al. Challenges in the diagnosis and management of bacterial lung infections in solid organ recipients: a narrative review[J]. Int J Mol

Sci, 2020, 21(4): 1221.

[12] Rodino K G, Simner P J. Status check; next-generation sequencing for infectious-disease diagnostics[J]. J Clin Invest, 2024, 134(4): e178003.

[13] Zhang F, Chen J, Huang H, et al. Application of metagenomic next-generation sequencing in the diagnosis and treatment guidance of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in renal transplant recipients[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2021, 40(9): 1933-1942.

[14] Zhang Y, Ai J W, Cui P, et al. A cluster of cases of *Pneumocystis* pneumonia identified by shotgun metagenomics approach[J]. J Infect, 2019, 78(2): 158-169.

[15] Zhao L, Huang Y, Lu L, et al. Saturated long-chain fatty acid-producing bacteria contribute to enhanced colonic motility in rats[J]. Microbiome, 2018, 6(1): 107.

[16] Langelier C, Fung M, Caldera S, et al. Detection of pneumonia pathogens from plasma cell-free DNA[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2020, 201(4): 491-495.

[17] Miao Q, Ma Y, Wang Q, et al. Microbiological diagnostic performance of metagenomic next-generation sequencing when applied to clinical practice[J]. Clin Infect Dis, 2018, 67(Suppl\_2): S231-S240.

[18] Bharati J, Anandh U, Kotton C N, et al. Diagnosis, prevention, and treatment of infections in kidney transplantation[J]. Semin Nephrol, 2023, 43(5): 151486.

[19] 李天铭, 李敏. 器官移植后感染相关检测: 现状与未来[J]. 中华检验医学杂志, 2025, 48(3): 309-312.

[20] Bateman M, Oladele R, Kolls J K. Diagnosing *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: a review of current methods and novel approaches[J]. Med Mycol, 2020, 58(8): 1015-1028.

[21] Xie Y, Ruan B, Jin L, et al. Case report: next-generation sequencing in diagnosis of pneumonia due to *Pneumocystis jirovecii* and cytomegalovirus in a patient with HIV infection[J]. Front Med, 2021, 8: 653294.

[22] Giacobbe D R, Dettori S, di Pilato V, et al. *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in intensive care units: a multicenter study by ESGIP and EFISG[J]. Crit Care, 2023, 27(1): 323.

[23] Esteves F, Calé S S, Badura R, et al. Diagnosis of *Pneumocystis* pneumonia: evaluation of four serologic biomarkers[J]. Clin Microbiol Infect, 2015, 21(4): 379.

[24] Del Corpo O, Butler-Laporte G, Sheppard D C, et al. Diagnostic accuracy of serum (1,3)- $\beta$ -D-glucan for *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: a systematic review and meta-analysis[J]. Clin Microbiol Infect, 2020, 26(9): 1137-1143.