

低体温对极低出生体重儿肠道菌群的影响

刘玲¹, 李银珊¹, 罗晗¹, 敖当¹, 蔡娜莉¹, 林少珠¹, 向旻^{2*} (广东医科大学附属医院 1. 儿科, 2. 骨科, 广东湛江 524001)

摘要: **目的** 了解入院低体温的极低出生体重儿肠道菌群失调的特征。**方法** 以前瞻性队列研究的方式选取出生胎龄<32周且出生身体质量<1.5 kg的早产儿。收集早产儿在出生后24 h内的胎粪样本。根据入院时体温将患儿分为两组: 低体温组(体温<36℃)和正常体温组(体温≥36.5℃)。使用16S rRNA基因测序比较纳入对象的粪便样本菌群多样性、群落组成以及生物标志物分析。**结果** 从2022年4–12月共纳入34例受试者(低温组19例, 正常体温组15例)。与正常体温组相比, 低体温组中p_Bacteroidota、c_Clostridia和c_Bacteroidia丰度显著增加(P 值分别为0.031、0.042、0.031), 低体温组*Faecalibaculum*、*Dubosiella*、*Blautia*和*Faecalibaculum_rodentium*的相对丰度也明显增加(P 值分别为0.008、0.008、0.005、0.008)。低体温组与正常体温组的总体微生物多样性存在显著差异。CCA结果显示剖宫产的 r^2 值最大($r^2=0.4484$, $P=0.001$), 剖宫产对肠道菌群结构的影响最大。**结论** 低体温组患儿在肠道菌群多样性及组成等方面存在菌群失调可能, 优势属*Faecalibaculum*可能作为低温组的生物标志物。

关键词: 肠道菌群; 16S rRNA基因测序; 极低出生体重儿; 低体温; 粪口菌属

中图分类号: R 722.6

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610 (2024) 03-0258-09

Effects of hypothermia on gut microbiota in very low birth weight infants

LIU Ling¹, LI Yin-shan¹, LUO Han¹, AO Dang¹, CAI Na-li¹, LIN Shao-zhu¹, XIANG Min^{2*} (1. Department of Pediatrics, 2. Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, China)

Abstract: **Objective** To investigate the characteristics of gut microbiota dysbiosis in hypothermia among infants with very low low birth weight (VLBW). **Methods** In this prospective cohort study, preterm infants with gestational age<32 weeks and weight<1.5 kg were enrolled. Additionally, fecal samples were collected within 0 days after admission to the intensive care unit. Based on rectal temperatures upon admission, the VLBW infants were divided into the hypothermia group (body temperature<36℃) and the normothermia group (body temperature≥36.5℃). 16S rRNA gene sequencing was utilized to evaluate the gut microbial diversity, composition and biomarker. **Results** A total of 19 patients with hypothermia were enrolled from April 2022 to December 2022, alongside an additional cohort of 15 normothermic patients who were admitted during the same study period. Compared to the normothermia group, the hypothermia group exhibited a significant increase in the abundance of p_Bacteroidota, c_Clostridia and c_Bacteroidia in the hypothermia group ($P=0.031$, 0.042, 0.031, respectively). Furthermore, the relative abundances of *Faecalibaculum*, *Dubosiella*, *Blautia* and *Faecalibaculum_rodentium* were significantly higher in the hypothermia group ($P=0.008$, 0.008, 0.005, and 0.008, respectively). The overall microbial diversity exhibited a notable disparity between the hypothermia and normothermia groups. CCA results showed that the r^2 value of cesarean section was the largest ($r^2=0.4484$, $P=0.001$), and cesarean section had the greatest impact on the structure of gut microbiota. **Conclusion** VLBW in the hypothermia group has imbalance in the diversity and composition of gut microbiota, which suggest that the dominant genus *Faecalibaculum* is a potential a biomarker for hypothermia group.

Key words: gut microbiota; 16S RNA sequencing; very low birth weight; hypothermia; *Faecalibaculum*

肠道微生物群拥有数万亿微生物,是人类最大的生态系统和“第二基因组”,对维持免疫系统和人体健康

起着至关重要的作用^[1]。肠道菌群的平衡是维持肠道功能和机体稳态的关键。然而,肠道菌群的组成和多

收稿日期: 2024-04-10

基金项目: 广东医科大学培育项目(GDMUQ2021023),广东医科大学附属医院临床研究项目(LCYJ2020DL01)

作者简介: 刘玲(1988–),女,博士,主治医师, E-mail: liul37@163.com

通信作者: 向旻(1987–),男,硕士,主治医师, E-mail: 306782910@qq.com

样性是不稳定的,极易受到食物、生活环境、药物(尤其是抗生素)、疾病的影响^[2]。肠道菌群多样性的减少,以及肠道微生物种类、数量、比例和位置的改变,也被称为菌群失调,在多种疾病的发病机制中起着重要作用^[2-3]。肠道菌群失调在早产儿中很常见,早产儿发育不成熟,抗生素的使用、多种有创操作、长期住院治疗等原因,改变了肠道菌群正常定植过程,其肠道菌群与健康新生儿不同。早产儿肠道潜在致病菌的定植增加,菌群多样性减少,严格厌氧菌水平降低和相对丰富的变形菌门^[4-5]。

尽管已经采取了一系列预防措施,但在新生儿重症监护病房中,入院低体温仍然是一种普遍现象,特别是在极低出生体重儿(very low birth weight, VLBW)中,入院低体温的发生率为31%~78%^[6-7]。国内文献报道,早产儿入院时的低体温发生率高达86.1%~89.3%^[8-9]。Bi等^[10]通过极低出生体重新生儿的中心质量改进项目成功将入院时低体温发生率从95.9%降低到71.3%,但发生率仍然很高。入院时低体温可能导致早产儿代谢紊乱,对循环、呼吸、神经和泌尿系统等多个系统造成损伤,随着体温的降低,早产儿死亡风险逐渐增加^[11-13]。

我们的前期研究发现极低出生体重儿低体温的发生率为52.1%,使用相关性分析热图发现低体温与肠道菌群失调显著相关^[14]。温度是调控微生物生长的关键因素,然而低体温对极低出生体重儿肠道菌群组成的影响尚待深入研究。本研究使用高通量16S rRNA基因测序,对极低出生体重儿低体温和正常体温的患者肠道微生物组的组成进行了比较,结果报道如下。

1 资料和方法

1.1 研究对象与分组

本研究经广东医科大学附属医院机构审查委员会批准(PJ2021-097)。在向所有参与者的监护人提供完整的研究描述后,并获得他们的书面知情同意。研究期限为2022年4-12月。纳入标准:(1)出生胎龄<32周;(2)出生身体质量<1.5 kg;(3)入院日龄≤24 h;(4)家属签署知情同意书。排除标准:(1)死亡;(2)产后已使用抗生素治疗;(3)合并先天性染色体异常或遗传代谢病者;(4)已使用微生态制剂;(5)小于胎龄儿。根据世界卫生组织(WHO)的规定,新生儿正常体温范围为36.5~37.5℃;轻度低温为36.0~36.5℃;中度低体温则指32~36℃^[15]。本研究低体

温组(Hypothermia)为肛温<36.5℃,正常体温组(Control)为肛温36.5~37.5℃。

1.2 粪便收集与保存

取样时使用无菌棉拭子,从粪便的3个不同位置采样,每管约0.2 g(黄豆大小),将粪便放入样品管中,贮存于-80℃冰箱保存至标本送检。采集和运送样本过程严格按照无菌操作规程进行。

1.3 临床资料收集

分娩方式、单或多胎、胎膜早破、产前激素使用情况、产前抗生素使用情况、妊娠期高血压和妊娠期糖尿病等。出生胎龄、出生体质量、性别、是否为试管婴儿、出生时体温、Apgar评分等。

1.4 研究方法

1.4.1 DNA提取和PCR扩增 根据E.Z.N.A.® soil DNA kit (Omega Bio-tek, Norcross, GA, U.S.)说明书进行微生物群落总基因组DNA抽提,使用1%的琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组DNA的质量,使用NanoDrop2000(美国Thermo Scientific公司)测定DNA浓度和纯度。以上述提取的DNA为模板,使用携带Barcode序列的上游引物338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')和下游引物806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')^[16]对16S rRNA基因V3-V4可变区进行PCR扩增,反应体系:5×TransStart FastPfu 缓冲液4 μL, 2.5 mmol/L dNTPs 2 μL,上游引物(5 μmol/L) 0.8 μL,下游引物(5 μmol/L) 0.8 μL, TransStart FastPfu DNA聚合酶0.4 μL,模板DNA 10 ng,补足至20 μL。使用NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit对纯化后的PCR产物进行建库:(1)接头链接;(2)使用磁珠筛选去除接头自连片段;(3)利用PCR扩增进行文库模板的富集;(4)磁珠回收PCR产物得到最终的文库。

1.4.2 Illumina Miseq 测序 利用Illumina公司的Miseq PE300/NovaSeq PE250平台进行测序(上海美吉生物医药科技有限公司)。

1.4.3 高通量测序数据分析 使用UPARSE^[17]软件(<http://drive5.com/uparse/>, version 7.1),根据97%的相似度对质控拼接后的序列进行操作分类单元OTU(Operational taxonomic unit)聚类并剔除嵌合体。通过单样本的多样性(alpha多样性)分析反映微生物群落的丰富度和多样性,包括一系列统计学分析指数估计菌群的物种丰度和多样性。采用Wilcoxon秩和检验进行alpha多样性的组间差异分析。使用基于Bray-Curtis距离算法的PCoA分析检验不同分组样本间菌

群组成的相似性或差异性,并结合PERMANOVA非参数检验(Adonis方法)分析样本组间菌群结构差异是否显著。根据分类学分析结果,可以得到不同分组在各分类水平(如门、纲、目、科、属、种等)上的物种组成情况。两组之间显著性差异分析采用Wilcoxon秩和检验(Wilcoxon rank-sum test)。采用线性判别分析效应量(Linear discriminant analysis Effect Size, LEfSe)软件(<http://huttenhower.sph.harvard.edu/LEfSe>)($LDA>4$, $P<0.05$)确定不同组间从门到种水平丰度显著差异的菌群,用于发现各组之间的高生物标志物的菌群。使用RDA/CCA分析用来反应临床指标对肠道菌群结构的影响。

1.5 统计学处理

所有的统计分析使用IBM SPSS Statistics 26和R语言(v3.5.3)。正态分布计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用 t 检验;计量资料不符合正态分布(如alpha多样性、细菌相对丰度)以中位数(四分位数间距)[M(P25, P75)]表示,采用非参数检验(Mann-Whitney U 检验或Wilcoxon秩和检验);计数资料以例数、发生率或构成比(%)表示,采用皮尔逊卡方检验或Fisher精确概率法。采用LDA截断值为4的LEfSe分析并寻找差异具有统计学意义的生物标志物。所有统计检验均为双侧检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

2022年4月至12月,广东医科大学附属第一医院共收治的研究对象74例,其中死亡1例,家属放弃治疗1例,遗传代谢病1例,使用抗生素37例,最后纳入34例,即19例低体温组(15例VLBW,4例超低出生体重儿)和15例正常体温组(14例VLBW,1例超低出生体重儿)。两组患儿的出生身体质量、性别、孕母产前激素使用情况、孕母产前抗生素使用情况、Apgar评分等差异均无统计学意义(均 $P>0.05$),见表1。

2.2 OTU分析

利用Illumina Miseq平台进行质控后,原始序列数据聚类为3123个OTU,平均每个样本有92个OTU。各组OTU数量及共同OTU用Venn图表示(图1)。Venn图直观地显示了2组间OTU的重叠:低体温组和正常体温组共享778个OTUs,低体温组有1357个独有的OTUs而正常体温组仅有210个独有的OTUs(图1)。结果表明,低体温组生物样本多样性高于正常体温组。

表1 研究人群特征

特征	低体温组 ($n=19$)	正常体温组 ($n=15$)	P
胎龄/周	29.47 $\pm$ 1.69	29.52 $\pm$ 1.73	0.899
出生身体质量/kg	1.19 $\pm$ 0.2	1.33 $\pm$ 0.23	0.866
男性/例(%)	9 (47.3%)	10 (66.6%)	0.314
剖宫产/例(%)	11 (57.8%)	5 (33.3%)	0.185
试管婴儿/例(%)	3 (15.7%)	4 (26.6%)	0.672
窒息/例(%)	11 (57.8%)	7 (46.6%)	0.730
胎膜早破/例(%)	4 (21.0%)	4 (26.6%)	0.702
足疗程产前激素/例(%)	9 (47.3%)	7 (46.6%)	0.968
产前抗生素/例(%)	4 (21.0%)	4 (26.6%)	0.702
妊娠期糖尿病/例(%)	2 (10.5%)	1 (6.6%)	0.694
妊娠期高血压/例(%)	5 (26.3%)	0	0.053

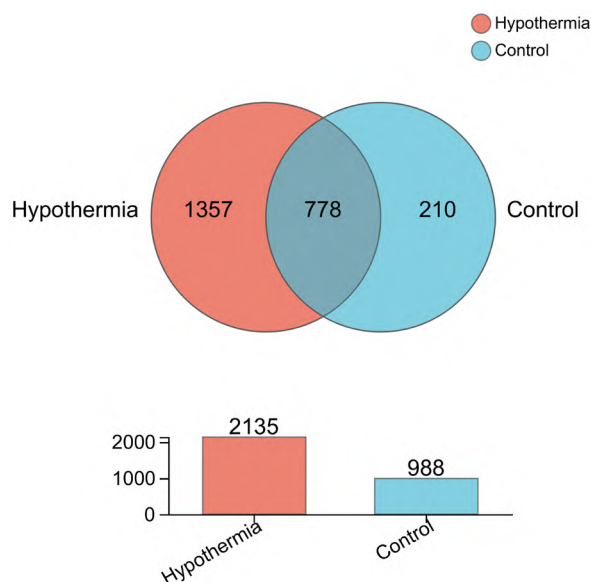


图1 低体温组和正常体温组 OTUs 数量及共享 OTUs 的 Venn 图

2.3 稀释曲线

稀释曲线利用各组在不同测序深度时的微生物 alpha 多样性指数构建曲线,以此反映各组在不同测序数量时的微生物多样性。图2为此次研究各组样本构建的稀释曲线,如图所示,稀释曲线趋于平坦,说明测序量能够覆盖样本中的绝大部分物种,可以反映样本中绝大多数的微生物多样性信息,证明所有样品的测序都达到了良好的序列深度和丰富度。

2.4 多样性分析

首先,采用 alpha 多样性分析反映微生物群落丰富度和群落均匀度。本研究使用4个指标进行评估,分别为:ACE指数、Chao指数、Shannon指数和Simpson指数。反映菌群丰富度的指数有:Chao、Ace;反映菌群多样性的指数有:Shannon、Simpson。Wilcoxon秩和检验显示,低体温组的Ace、Chao指数显著高于正

常体温组(P 值分别为 0.0039、0.0055,图 3A、B),差异均有统计学意义,而 Shannon 和 Simpson 指数没有差异(图 3C、D)。综上所述,低体温组的菌群丰富度高于正常体温组。

使用基于 Bray-Curtis 距离算法的 PCoA 分析检验不同分组样本间菌群组成的相似性或差异性,并结合 PERMANOVA 非参数检验(Adonis 方法)分析样本组间菌群结构差异是否显著。基于 Bray-Curtis 距离的

PCoA 显示,在属水平上,低体温组和正常体温组结构明显分离($R=0.088$, $P=0.036$,图 3E), PC1 轴和 PC2 轴对结果的解释度分别为 26.29%和 15.14%。在样本分组分析中,非参数检验 Adonis($r^2=0.061$, $P=0.029$)也显示低体温组与正常体温组两组间 beta 多样性有显著差异。NMDS 分析进一步证实,低体温组与正常体温组的总体微生物多样性存在显著差异($R=0.088$, $P=0.036$,图 3F)。

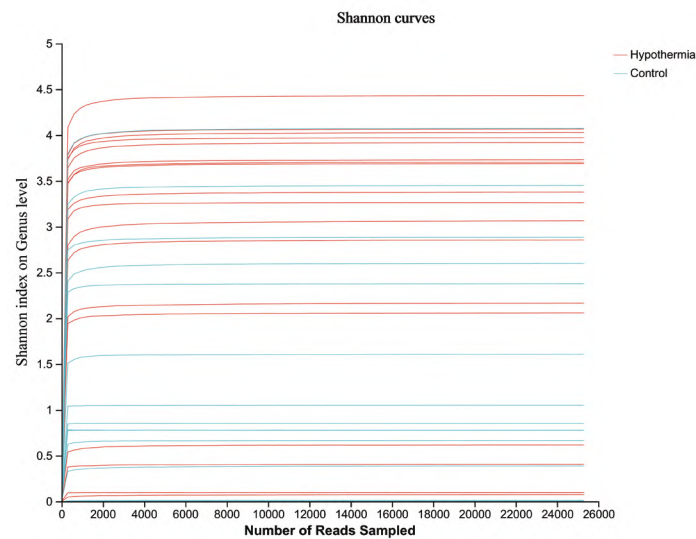
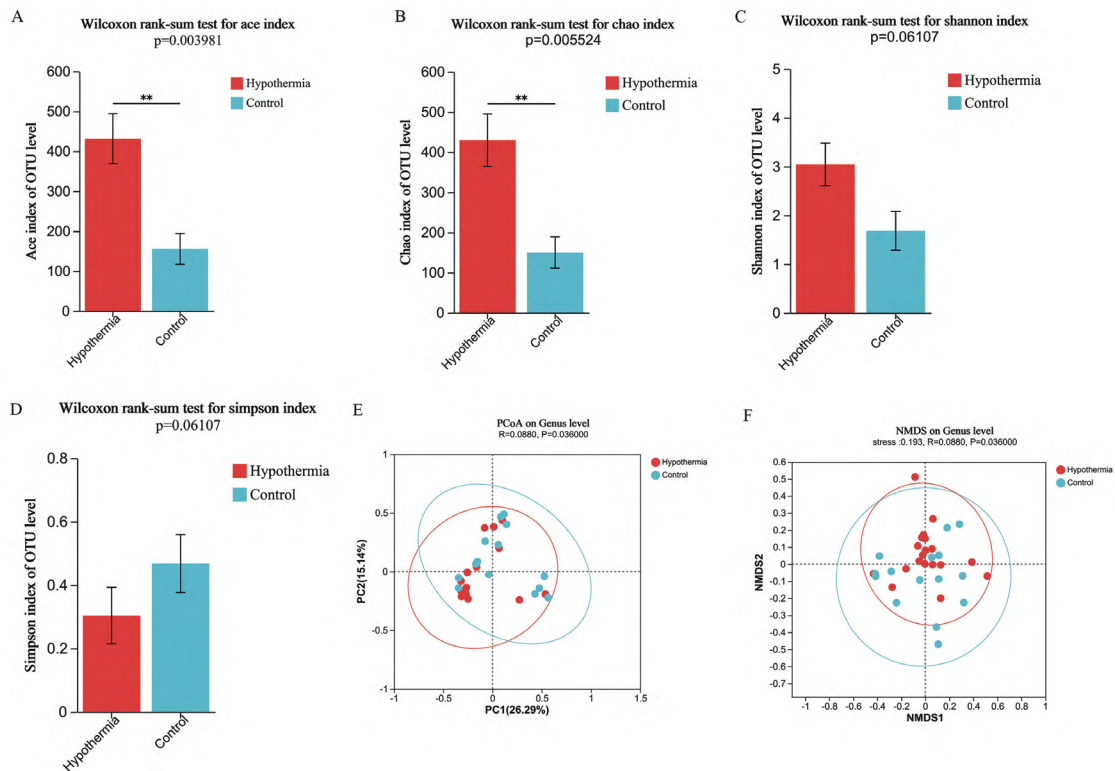


图2 稀释曲线



A. Ace; B. Chao; C. Shannon; D. Simpson; E. PcoA 分析; F. NMDS 分析; ** $P<0.01$

图3 菌群 alpha 多样性指数比较

2.5 微生物群落结构分析

为进一步确定低体温对肠道菌群关键微生物的影响,本研究比较了低体温组和正常体温组在门、纲、属和种的物种相对丰度差异。结果显示,从门到种水平,各组之间细菌的组成均有显著变化。

选取所有样品在门水平上最大丰度排名前10的物种,生成物种相对丰度柱形累加图(图4A),以便直观查看相对丰度较高的物种及其比例。从图4A可看出,低体温组和正常体温组粪便中以厚壁菌门(Firmicutes)和变形菌门(Proteobacteria)为主,其次是拟杆菌门(Bacteroidetes)和放线菌门(Actinobacteria)。对低体温组和正常体温组粪便样本进行优势门的组间差异显著性检验分析,结果表明,低体温组拟杆菌门、帕特西细菌(Patescibacteria)、酸细菌门(Acidobacteriota)、疣微菌门(Verrucomicrobia)和Campilobacterota均显著高于正常体温组(Wilcoxon秩和检验, P 值分别为0.03105、0.03837、0.02136、0.03833、0.006584,图4B)。

选取所有样品在纲水平上最大丰度排名前10的物种,生成物种相对丰度柱形累加图(图4C)。从图4C可看出,各组样本在纲水平上的菌群结构以杆菌纲(Bacilli)、丙型变形菌纲(Gammaproteobacteria)、梭状芽胞杆菌(Clostridia)和拟杆菌纲(Bacteroidia)为主。通过Wilcoxon秩和检验分析低体温组的梭状芽胞杆菌、拟杆菌纲、科里杆菌(Coriobacteriia)、阴性菌纲(Negativicutes)和糖单胞菌(Saccharimonadia)的相对丰度均高于正常体温组,差异有统计学意义(P 值分别为0.04228、0.03105、0.0124、0.04039、0.03838,见图4D)。

选取所有样品在属水平上最大丰度排名前15的物种,生成物种相对丰度柱形累加图(图4E)。从图4E看出,各组样本在属水平上的菌群结构以埃希-志贺菌属(*Escherichia-Shigella*)、链球菌属(*Streptococcus*)、肠球菌属(*Enterococcus*)、脲原体属(*Ureaplasma*)和乳杆菌属(*Lactobacillus*)为主。Wilcoxon秩和检验,与正常体温组相比,低体温组粪口菌属(*Faecalibaculum*)、杜博塞拉属(*Dubosiella*)和布劳特菌属(*Blautia*)的相对丰度明显增加,差异有统计学意义(P 值分别为0.00857、0.00834、0.005371,图4F);而类杆菌属(*Parabacteroides*)的相对丰度明显降低,差异有统计学意义($P=0.00847$)。

选取所有样品在种水平上最大丰度排名前15的物种,生成物种相对丰度柱形累加图(图4G)。从

图4G看出,大肠埃希菌(*Escherichia coli*)、微小脲原体(*Ureaplasma parvum*)、粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)是两组的优势种。Wilcoxon秩和检验,与正常体温组相比,低体温组*Faecalibaculum rodentium*、约翰不动杆菌(*Acinetobacter johnsonii*)和约氏乳酸杆菌(*Lactobacillus johnsonii*)的相对丰度明显增加,差异有统计学意义(P 值分别为0.00857、0.04661、0.01512,图4H);而*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*和*Parabacteroides distasonis* ATCC_8503的相对丰度明显降低,差异有统计学意义($P=0.04517$ 和0.04299)。

2.6 生物标志物分析

通过LEfSe分析(LDA阈值为4)发现,低体温组患者样本中,c_Clostridia、o_Erysipelotrichales、f_Erysipelotrichaceae、p_Bacteroidota、c_Bacteroidia、o_Bacteroidales、o_Oscillospirales和g_Faecalibaculum显著富集(图5);正常体温组患者样品中,g_Parabacteroides和f_Tannerellaceae显著富集(图5)。

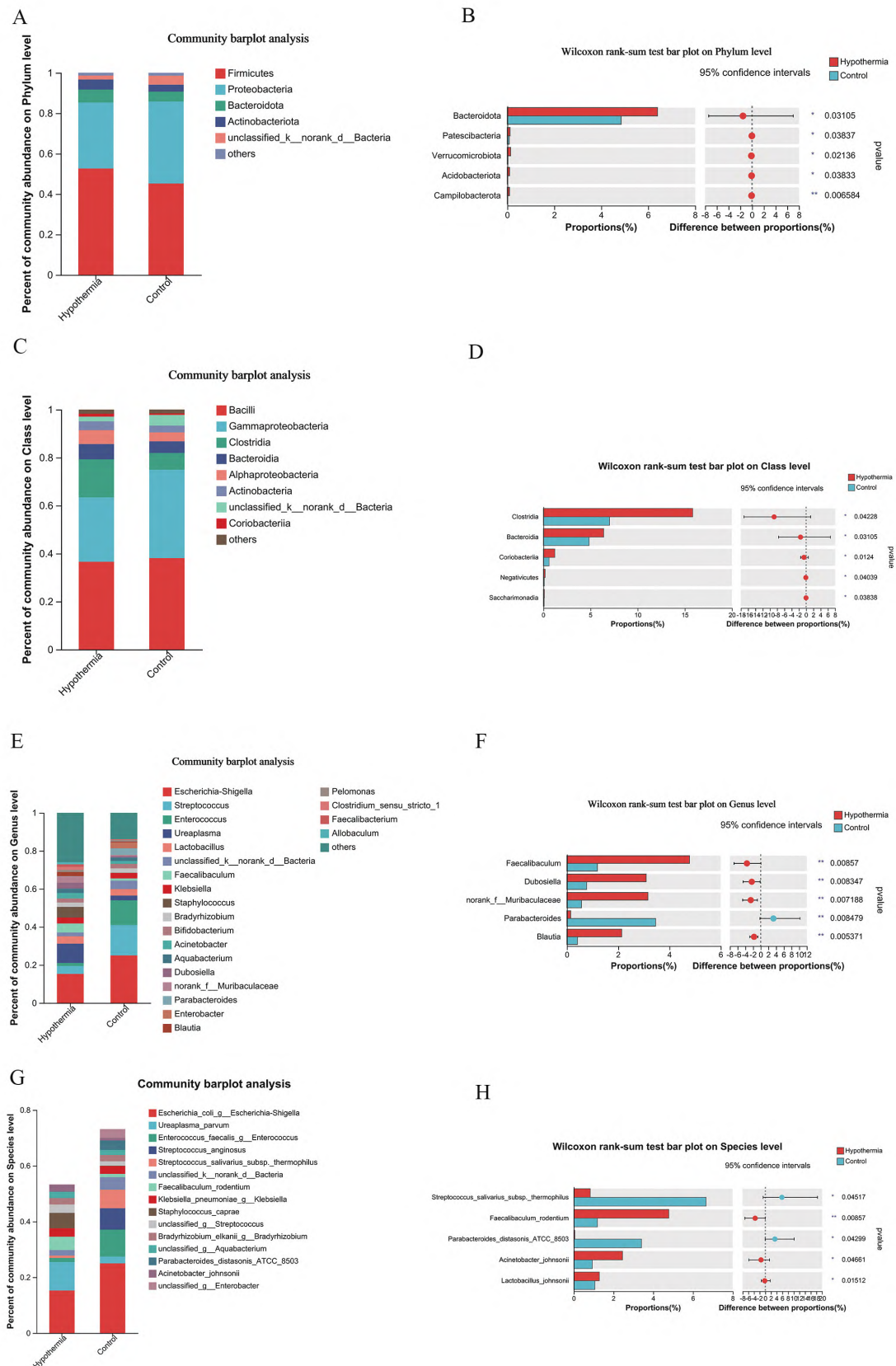
2.7 环境因子关联分析(肠道菌群与临床指标的关系)

CCA是基于单峰模型,反映菌群与临床因子之间关系,结果显示剖宫产、产前抗生素使用、性别与菌群明显相关($P<0.05$,图6)。图6显示,剖宫产的 r^2 值最大($r^2=0.4484$, $P=0.001$),说明剖宫产对肠道菌群结构的影响最大,剖宫产与群落和物种分布呈负相关。

3 讨论

本研究首次为极低出生体重儿低体温对肠道菌群的影响提供了新的见解。众所周知,温度可以直接调节胃肠道病原体的生长和毒性,并且对宿主因素如食欲、免疫力以及微生物群产生间接影响。在不同环境中,例如发烧和气候变化等条件下,温度可能调节微生物群的功能^[18]。然而,入院低体温是否与肠道菌群失调有关尚未明了。本研究使用16S rRNA基因测序技术,对早产儿低体温组和正常体温组患儿的肠道菌群进行了比较,从分类谱与临床指标的关系等方面进行了分析。这项前瞻性队列研究揭示了入院时低体温的极低出生体重儿存在明显的菌群失调。

Lee等^[19]在涉及70个韩国新生儿重症监护病房(NICUs)参与的新生儿网络中发现,约有74.1%的VLBW入院时体温低于36.5℃。其主要病因是非感染性因素,并且这种情况可能对新生儿的存活率产生影响^[20]。导致新生儿体温过低的常见原因包括环境温度较低、热量摄入不足、早产或出生体质量较轻以及患



A. 柱形图显示两组在门水平排名前 10 名的优势物种; B. 柱形图显示低体温组和正常体温组在门水平的差异; C. 柱形图显示两组在纲水平排名前 10 名的优势物种; D. 柱形图显示低体温组和正常体温组在纲水平的差异; E. 柱形图显示两组在属水平排名前 15 名的优势物种; F. 柱形图显示低体温组和正常体温组在属水平的差异; G. 柱形图显示两组在种水平排名前 15 名的优势物种; H. 柱形图显示低体温组和正常体温组在种水平的差异; * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

图 4 16S rRNA 基因测序粪便菌群组成

- the effects of gut microbiota composition on neurotransmitter metabolic pathways in children with attention deficit hyperactivity disorder[J]. *Front Neurosci*, 2020, 14: 127.
- [2] HO K M, KALGUDI S, CORBETT J M, et al. Gut microbiota in surgical and critically ill patients[J]. *Anaesth Intensive Care*, 2020, 48(3): 179-195.
- [3] HE Y, WEN Q, YAO F, et al. Gut-lung axis: The microbial contributions and clinical implications[J]. *Crit Rev Microbiol*, 2017, 43(1): 81-95.
- [4] TIRONE C, PEZZA L, PALADINI A, et al. Gut and lung microbiota in preterm infants: Immunological modulation and implication in neonatal outcomes[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2910.
- [5] CONG X, HENDERSON W A, GRAF J, et al. Early life experience and gut microbiome: The brain-gut-microbiota signaling system[J]. *Adv Neonat Care*, 2015, 15(5): 314-323; quiz E311-312.
- [6] AUDEH S, SMOLKIN T, BENTAL Y, et al. Does admission hypothermia predispose to intraventricular hemorrhage in very-low-birth-weight infants?[J]. *Neonatology*, 2011, 100(4): 373-379.
- [7] BHATT D R, WHITE R, MARTIN G, et al. Transitional hypothermia in preterm newborns[J]. *J Perinatol*, 2007, 27(Suppl 2): S45-47.
- [8] 早产儿入院低体温质量改进临床研究协作组. 基于证据的质量改进方法降低极低出生体重儿入院低体温发生率的多中心研究方案[J]. *中国循证儿科杂志*, 2019, 14(2): 139-142.
- [9] 袁瑞琴, 杨传忠, 熊小云, 等. 极/超低出生体重儿入院即刻核心温度与颅内出血等并发症发生的关系研究[J]. *护理研究*, 2018, 32: 112-114.
- [10] BI S Y, YU Y H, LI C, et al. A standardized implementation of multicenter quality improvement program of very low birth weight newborns could significantly reduce admission hypothermia and improve outcomes[J]. *BMC Pediatr*, 2022, 22(1): 281.
- [11] 余章斌, 程佳, 邱玉芳, 等. 系统评价入院体温分布情况及其对早产儿结局的影响[J]. *中华新生儿科杂志*, 2019, 34(1): 51-57.
- [12] BALLOT D E, AGABA F, COOPER P A, et al. A review of delivery room resuscitation in very low birth weight infants in a middle income country[J]. *Matern Health Neonatol Perinatol*, 2017, 3: 9.
- [13] CORDEIRO R C O, FERREIRA D, REIS H D, et al. Hypothermia and neonatal morbimortality in very low birth weight preterm infants[J]. *Rev Paul Pediatr*, 2021, 40: e2020349.
- [14] LIU L, XIANG M, CAI X, et al. Multi-omics analyses of gut microbiota via 16S rRNA gene sequencing, LC-MS/MS and diffusion tensor imaging reveal aberrant microbiota-gut-brain axis in very low or extremely low birth weight infants with white matter injury[J]. *BMC Microbiol*, 2023, 23(1): 387.
- [15] APANOVITCH A R, MCGRATH J M, MCGLOTHEN-BELL K, et al. Neonatal intensive care unit admission temperatures of infants 1, 500 g or more: The cold truth[J]. *Adv Neonatal Care*, 2021, 21(3): 214-221.
- [16] LIU C, ZHAO D, MA W, et al. Denitrifying sulfide removal process on high-salinity wastewaters in the presence of *Halomonas* sp[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2016, 100(3): 1421-1426.
- [17] EDGAR R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. *Nat Methods*, 2013, 10(10): 996-998.
- [18] HUUS K E, LEY R E. Blowing hot and cold: Body temperature and the microbiome[J]. *mSystems* 2021, 6(5): e0070721.
- [19] LEE N H, NAM S K, LEE J, et al. Clinical impact of admission hypothermia in very low birth weight infants: Results from Korean neonatal network[J]. *Korean J Pediatr*, 2019, 62(10): 386-394.
- [20] 刘亚丽, 许丽, 魏克伦. 出生早期新生儿低体温及防治现状[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2017, 32(2): 158-160.
- [21] DE ALMEIDA M F, GUINSBURG R, SANCHO G A, et al. Hypothermia and early neonatal mortality in preterm infants[J]. *J Pediatr*, 2014, 164(2): 271-275.
- [22] 朱凤娜, 吴梓琪, 彭斯聪, 等. 入院低体温质量改进项目对胎龄 ≤ 34 周早产儿近期结局的影响[J]. *中国小儿急救医学*, 2023, 30(3): 118-193.
- [23] BIEDERMANN L, ROGLER G. The intestinal microbiota: Its role in health and disease[J]. *Eur J Pediatr*, 2015, 174(2): 151-167.
- [24] ZHAO W, REN Z, LUO Y, et al. Metagenomics analysis of the gut microbiome in healthy and bacterial pneumonia forest musk deer[J]. *Genes Genom*, 2021, 43(1): 43-53.
- [25] LITVAK Y, BYNDLOSS M X, TSOLIS R M, et al. Dysbiotic proteobacteria expansion: A microbial signature of epithelial dysfunction[J]. *Curr Opin Microbiol*, 2017, 39: 1-6.
- [26] NAVARRO-TAPIA E, SEBASTIANI G, SAILER S, et al. Probiotic supplementation during the perinatal and infant period: Effects on gut dysbiosis and disease[J]. *Nutrients*, 2020, 12(8): 2243-2293.
- [27] GALA A A D, KUMAR H, SEDANI S, et al. Alterations in the stool microbiome in newborns undergoing mild therapeutic hypothermia after hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. *Dev Neurosci*, 2022, 44(4-5): 373-383.
- [28] LUKIW W J. *Bacteroides fragilis* lipopolysaccharide and inflammatory signaling in Alzheimer's disease[J]. *Front Microbiol*, 2016, 7: 1544.
- [29] NIU Z F, WU L, KANG J, et al. Regulation of sleep disorders in patients with traumatic brain injury by intestinal flora based on the background of brain-gut axis[J]. *Front Neurosci*, 2022,

- 16: 934822.
- [30] LARSEN N, VOGENSEN F K, VAN DEN BERG F W, et al. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults[J]. PLoS One, 2010, 5(2): e9085.
- [31] SCHONHERR-HELLEC S, AIRES J. Clostridia and necrotizing enterocolitis in preterm neonates[J]. Anaerobe, 2019, 58: 6-12.
- [32] LI C, WANG N, ZHENG G, et al. Oral administration of resveratrol-selenium-peptide nanocomposites alleviates alzheimer's disease-like pathogenesis by inhibiting Aβ aggregation and regulating gut microbiota[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2021, 13(39): 46406-46420.
- [33] WANG S, ISHIMA T, QU Y, et al. Ingestion of *Faecalibaculum rodentium* causes depression-like phenotypes in resilient Ephx2 knock-out mice: A role of brain-gut-microbiota axis via the subdiaphragmatic vagus nerve[J]. J Affect Disord, 2021, 292: 565-573.
- [34] DAHL C, STIGUM H, VALEUR J, et al. Preterm infants have distinct microbiomes not explained by mode of delivery, breastfeeding duration or antibiotic exposure[J]. Int J Epidemiol, 2018, 47(5): 1658-1669.
- [35] LIU L, AO D, CAI X, HUANG P, et al. Early gut microbiota in very low and extremely low birth weight preterm infants with feeding intolerance: A prospective case-control study[J]. J Microbiol, 2022, 60(10): 1021-1031.
- (责任编辑: 刘建滔)

基于增强 T1 加权图像构建不同模型鉴别胶质母细胞瘤与单发脑转移瘤

陈佩仪, 黄海涛* (茂名市人民医院核磁共振科, 广东茂名 525000)

摘要: **目的** 探讨基于增强 T1 加权图像构建的不同模型鉴别胶质母细胞瘤 (GBM) 与单发脑转移瘤 (SBM) 的应用效果。**方法** 227 例患者 (GBM 120 例和 SBM 107 例) 随机分为训练集 ($n=159$) 与验证集 ($n=68$)。将增强 T1 加权图像导入 3D-Slicer 软件并手动勾画感兴趣区 (ROI), 然后进行影像组学特征提取并使用 t 检验、递归消除特征法及最小绝对收缩选择算子筛选特征。基于最佳特征, 分别运用逻辑回归 (LR)、支持向量机 (SVM) 及随机森林 (RF) 算法建立模型 (影像组学模型、临床模型、临床-影像组学模型), 通过绘制受试者工作特征曲线 (ROC) 及曲线下面积 (AUC) delong 检验评价各模型鉴别 GBM 与 SBM 诊断效能。**结果** GBM 与 SBM 病灶是否出血坏死及病灶分布情况 (幕上或幕下) 的比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)。根据组内相关系数 (>0.75) 初步获取 965 个稳定性影像特征, 最终筛选得到 5 个最优影像特征构建模型, 影像组学模型和临床-影像组学模型 AUC 均大于 0.8, 其中 LR 模型鉴别效能最优 ($P<0.05$)。决策曲线分析显示在整个阈值概率范围内, 影像组学模型和临床-影像组学模型有相当的总体净效益。**结论** 基于增强后 T1 加权图像构建的影像组学模型和临床-影像组学模型对 GBM 与 SBM 具有较高的鉴别诊断效能。

关键词: 机器学习; 影像组学; 胶质母细胞瘤; 脑转移瘤; 列线图

中图分类号: R 739

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610 (2024) 03-0266-07

Application of enhanced T1-weighted images to distinguish glioblastoma and solitary brain metastases

CHEN Pei-yi, HUANG Hai-tao* (MRI Department, Maoming People's Hospital, Maoming 525000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the application effect of different models for distinguishing glioblastoma (GBM) from solitary brain metastases (SBM) based on enhanced T1-weighted images. **Methods** A total of 227 patients were included (107 cases of solitary brain metastasis) and were randomly divided into a training set ($n=159$) and a validation set ($n=68$) in a 7:3 ratio. The enhanced T1-weighted images were imported into the 3D-Slicer software, and the regions of interest (ROI) were manually delineated. Then, radiomics features were extracted and feature selection was performed using t -tests, recursive feature elimination, and least absolute shrinkage and selection operator. Based on the optimal features, logistic regression (LR), support vector machines (SVM), and random forest (RF) algorithms were used to establish models. The diagnostic performance

收稿日期: 2023-12-24

基金项目: 茂名市科技计划项目 (210414114551211)

作者简介: 陈佩仪 (1988-), 女, 本科, 主治医师, E-mail: 13423521692@163.com

通信作者: 黄海涛 (1988-), 男, 硕士, 主治医师, E-mail: 285668249@qq.com