

医学参考报

儿科学专刊

Pediatrics

第五期 NO.05

临床外显子组测序用于 NICU 患儿遗传性疾病检测

复旦大学附属儿科医院 杨琳 周文浩

专家介绍



杨琳 副研究员

国家自然科学基金课题及多项省部级、市局级课题。

博士，复旦大学附属儿科医院内分泌遗传代谢科副研究员，硕士研究生导师。从事儿科遗传性疾病的遗传学检测结果分析及临床诊治。担任中华医学会儿科学分会，内分泌遗传代谢，青年学组副组长；《中国临床案例成果数据库》学术委员会罕见病专业组委员；《中国循证儿科杂志》编委。发表中英文论文 125 篇。主持 2 项

精准医疗时代，高通量测序技术（next generation sequencing, NGS）为新生儿遗传病的检测提供了高效的手段，在新生儿人群中开展基因测序的相关研究将为构建新生儿基因组数据库、制定出生缺陷基因检测和遗传咨询标准提供有力支持。2016 年 8 月，由中国遗传学会遗传咨询分会联合复旦大学附属儿科医院发起的“中国新生儿基因组计划（China Neonatal Genomes Project, CNGP）”启动（图 1）。截至目前 CNGP 已完成入组 3 万例，并计划在接下来的 3 年内建立 10 万新生儿的精准大型队列。

尚缺乏 NGS 应用于较小表型筛选的新生儿队列的研究

既往研究显示，遗传相关疾病占新生儿重症监护室（neonatal intensive care unit, NICU）入院人数的 13%，约占新生儿死亡率的 1/3。对 NICU 患儿的快速基因诊断是针对性治疗的关键。NGS 可以在短时间内，进行部分基因编码区/全部基因编码区/全部基因全部序列的分析检测，除了单核苷酸变异（single nucleotide variants, SNVs）和小插入和缺失（insertions and deletions, Indel）外，基于 NGS 数据的拷贝数变异（copy number variants, CNVs）分析的成熟，使 NGS 成为鉴定绝大多数遗传性疾病的一站式检测。

在 NGS 发展起来的近 10 年中，其在临床的广泛应用使得高度怀疑遗传性疾病的 NICU 患儿大幅受益。然而，由于新生儿患儿表型的特异性较低、某些遗传性疾病的特征性表型尚未出现等特点，本研究聚焦于在 NICU 患儿中，进行较小的表型筛选条件下，NGS 的诊断率和对临床决策的影响。

较小表型筛选下遗传性疾病的诊断率

本研究纳入了 CNGP 中 2 303 名进入 NICU 住院治疗的，临床表现中存在主要脏器结构或功能异常的新生儿，采用临床全外显子组检测，对 SNVs、Indel、CNVs 进行综合分析。该 NICU 队列的诊断率为 12.3%（284），其中 190 例患儿通过 SNVs/Indel 分析获得分子诊断（66.9%），94 例患儿通过基于 NGS 的 CNVs 分析诊断为非整倍体/CNV（33.1%），1 例患儿同时携带 SNV 和 CNV。

表型和诊断率的相关性分析显示，当新生儿存在多器官受累、颅面畸形、或皮肤受损时，遗传性疾病的诊断率较高，即存在上述表型的患儿，高度建议进行遗传学检测分析。但是分析也发现，对于新生儿更为常见的神经系统功能结构异常、呼吸

系统功能结构异常，并未在是否得到遗传学明确诊断中有差异。所以我们再进行更为精细化的表型区分，将表型细化到更小的亚组，希望针对不同的器官系统，均能够找到对于遗传性疾病有指向性的临床表现。

对临床决策的影响

值得指出的是，在 191 例明确诊断单基因疾病的患儿中，93 例（48.7%）患儿因明确的分子诊断可影响临床决策。其中 23.6%（45/191）患儿有针对性的治疗药物/方案；11.0%（21/191）可采用特殊配方奶粉治疗；12.6%（24/191）已进入多学科治疗随访团队；2 例 WAS 和 ILIORA 致病变异患儿行造血干细胞移植；1 例 FBPI 基因缺陷患者限制性饮食及避免诱发因素。

意外发现的分析及结果

针对大规模新生儿人群的 NGS，本研究也针对意外发现进行了分析。关于意外发现中报告基因的筛选，本研究参考 ACMG 指南，并纳入具有如下特点的变异：①满足 ACMG 指南的达到致病/可疑致病标准的 SNVs、Indel 或 CNVs；②充分证据证明变异所在基因与疾病的相关性和高外显率；③可在新生儿、婴儿或儿童期发病，且临床后果严重的疾病；④存在早期干预的可能。在本队列中，2.3%（54/2 303）的患儿有可报告的意外发现，包括 25 个单基因变异和 29 个 CNVs 变异。

总结

基于新生儿基因组计划，我们建立了新生儿危重症高通量数据快速分析流程，在数据分析过程中整合人工智能实现变异的自动筛选，成功应用于 NICU 场景下的遗传学诊断；在此基础上，先后开启了包括新生儿危重症、新生儿脑病等在内的九大新生儿队列研究，已构建了较为完善的精细化表型基因型数据库。

我们目前正在致力于通过总结归纳海量临床数据、基因检测数据，形成基于精细化基因型的诊疗流程，通过广义线性模型实现基于表型基因型的远期预后预测，实现真正意义上的精准医疗。

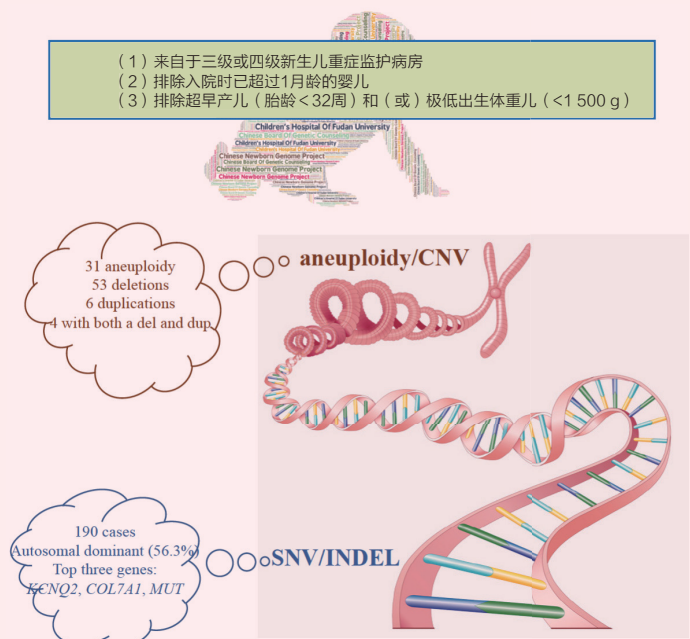


图 1 中国新生儿基因组计划 2016-08

执行主编简介



周文浩 教授

主任医师，博士研究生导师。现任复旦大学附属儿科医院副院长。从事新生儿危重症及遗传性疾病的临床评估及诊疗。任中华医学会儿科分会新生儿学组组长，中国医师协会新生儿神经专委会副主委，上海医学会罕见病专委会委员、秘书，上海围产医学学会委员，上海医学遗传学会委员。获得中华医学科技奖二等奖，教育部科学技术进步二等奖，上海市医学科技二等奖。研究成果在国内外期刊发表学术论文 300 余篇。先后主持国家自然科学基金重点项目、国际合作项目、自然科学基金面上项目 10 余项。已培养毕业研究生 37 人。

导读

新生儿非结合性高胆红素血症的临床及遗传病因分析

2版

宫内感染产妇产抗生素治疗的新生儿肠道微生物群及代谢组学研究

4版

复旦儿科新生儿科团队抗击新冠肺炎疫情工作经验分享

6版

TLR4介导肠上皮细胞程序性坏死参与 NEC 的机制研究

8版

抗生素诱导的肠道菌群失调对支气管肺发育不良的影响及相关机制研究

10版

新生儿非结合性高胆红素血症的临床及遗传病因分析



梅红芳 住院医师

【据《The Journal of Pediatrics》2021年12月报道】
题：新生儿非结合性高胆红素血症的临床及遗传病因分析（中国复旦大学附属儿科医院 作者梅红芳，杨琳，周文浩等）

新生儿非结合性高胆红素血症（neonatal unconjugated hyperbilirubinemia, NUCHB）是新生儿期常见的一种疾病，发病率为5%~6%。大部分患儿预后良好，其中严重NUCHB患儿可出现多种神经系统不良预后。导致NUCHB的临床病因众多，包括感染、溶血性疾病、母乳性黄疸、喂养不足等。

既往研究发现，仍有18.4%~50.7%的患儿未发现明确的临床病因。目前已有多个与NUCHB相关的致病基因被明确，以往研究多侧重于某个具体基因在NUCHB中的作用，但对于NUCHB人群中的整体遗传诊断情况仍缺乏研究。因此本研究通过纳入1412例于2016—2019年期间参与中国新生儿基因组计划的NUCHB患儿（胎龄≥35周、出生体重≥2000g、无颌面部畸形或先天性多发畸形且无致病拷贝数变异），通过分析病史及采用临床外显子组检测，对其临床病因和遗传因素进行分析，从而更全面地了解遗传因素在NUCHB中的作用。

一、整体临床病因分析

纳入的1412例患儿中，68%（959例）的患儿存在明确的临床病因，另有32%（453例）的患儿无明确临床病因。最常见的前五位临床病因为混合病因、感染、母乳性黄疸、血管外出血及新生儿溶血病。在存在混合病因的患儿中，以感染合并出血最为常见，其次为感染合并新生儿溶血病，感染合并喂养不足，以及出血合并喂养不足。

以换血线为界，将纳入的患儿分为轻度NUCHB组886例（63%）和重度NUCHB组526例（37%）。其中，轻度NUCHB患者中，前三位的临床病因为感染、混合病因和母乳性黄疸；重度NUCHB患者中，前三位的临床病因为混合病因、新生儿溶血病和血管外出血。相对于重度NUCHB，轻度NUCHB中的临床病因不明情况更为常见。

二、整体遗传因素分析

纳入的1412例患儿中，共55例（4%）患儿在18个基因上检测到致病或可疑致病变异。其中45例（3%）患儿检测到与NUCHB相关基因上的变异，包括34例（76%）患儿检测到2个与肝酶缺陷相关基因（*UGT1A1*和*G6PD*）上的变异，

6例（13%）患儿检测到6个与代谢性疾病相关基因（*GCDH*、*MMACHC*、*MUT*、*DUOX2*、*DUOX2A2*和*MOCSI*）上的变异，5例（11%）患儿检测到2个与红细胞膜异常相关基因（*ANK1*和*SPTB*）上的变异；另10例患儿检测到8个非NUCHB相关基因上的变异（视为次要发现），包括5例患儿检测到综合征性疾病相关基因（*CREBBP*、*TSC1*、*USH2A*、*NFI*和*CBL*）上的变异，3例患儿检测到胆汁淤积相关基因上的变异（*ABCC2*、*JAG1*），以及2例患儿检测到与血液系统疾病相关基因（*F8*）上的变异。本研究中最常见的基因分类为肝酶缺陷相关基因，而最常见的前三位基因为*G6PD*（26例）、*UGT1A1*（8例）及*ANK1*（3例）。

三、不同患儿的遗传诊断阳性率

在959例有明确临床病因的患儿中，29例（3%）患儿检测到遗传变异；在453例无明确临床病因的患儿中，16例（4%）患儿检测到遗传变异；两组的遗传诊断阳性率无明显差异。在无明确临床病因的453例患儿中，326例为轻度NUCHB患儿，其中15例检测到遗传变异；另127例为重度NUCHB患儿，其中仅1例检测到遗传变异，两组的遗传诊断阳性率无明显差异。提示无论NUCHB的严重程度如何及有无明确的临床病因，均因警惕其存在遗传因素的可能性。

四、基因检测有助于NUCHB病因识别

本研究中，肝酶缺陷是NUCHB中最常见的遗传因素。在26例携带*G6PD*基因变异的患儿中，23例患儿行基因检测前已检测到*G6PD*酶缺乏，另3例患儿在基因检测后明确*G6PD*酶活性异常。在8例检测到*UGT1A1*基因变异的患儿中，仅1例在基因检测前怀疑存在肝酶缺陷。第二类常见的遗传因素为代谢性疾病相关基因缺陷，在检测到变异的6例患儿中，仅1例患儿在基因检测前怀疑存在代谢异常，其余5例均在基因检测后确诊为代谢性疾病。本研究的第三类遗传因素为红细胞膜异常相关基因缺陷，检测到变异的5例患儿均在基因检测后确诊为遗传性球形红细胞增多症。

五、总结

本研究对引起NUCHB的病因从临床和遗传两方面进行了分析，发现仅约2/3的NUCHB患儿存在明确的临床病因，另将近1/3的患儿无明确临床病因。本研究在3%的患儿中发现了与NUCHB相关的遗传因素，其中以*G6PD*和*UGT1A1*变异最为常见，检测到的其他基因则主要与代谢性疾病及红细胞膜异常相关。尽管NUCHB患儿的遗传诊断阳性率并不高，但检测结果大部分可对临床干预起到指导作用，同时，明确遗传因素也为部分无法经临床其他检查确诊的疾病提供了早期确诊的机会。

（梅红芳 编译）

整合 mNGS 和 WES 检测优化新生儿疑似中枢神经系统感染的诊断



葛萌萌 主治医师

复旦大学附属儿科医院新生儿科主治医师。主要擅长新生儿常见病及危重新生儿救治。曾荣获复旦大学附属儿科医院最佳住院医师及最佳总住院医师。以第一作者共发表SCI 3篇，中文核心期刊1篇。

【据《Frontiers in Cellular and Infection Microbiology》2021年6月报道】题：整合mNGS和WES检测优化新生儿疑似中枢神经系统感染的诊断（中国复旦大学附属儿科医院 作者葛萌萌，周文浩等）

由于新生儿血脑屏障及免疫系统发育不成熟，中枢神经系统感染是不同年龄段的人群中发病率最高的，约为0.22/1000~5/1000，病死率为10%~25%。

早期快速诊断病原微生物对制定有效的治疗策略具有非常重要的作用。除了感染因素外，先天性的遗传性疾病以类似于中枢神经感染的临床表现为起病方式的情况同样不容忽视。已发表的评估mNGS在中枢神经系统感染诊断临床有效性的工作主要集中在成人或者大龄儿童中，尚缺乏新生儿人群中的数据。

一、mNGS可提高病原检测阳性率

本研究分析了2019年9月到2020年5月NICU收治的疑似中枢神经系统感染的88名新生儿的101例脑脊液样本，传统方法检测的阳性率为4.95%（5/101），而mNGS检测的阳性率为19.8%（20/101）。mNGS检测阳性的样本中，5.0%（1/20）的样本为多重感染，而传统方法并未检测到多重感染。与传统方法相比，mNGS检测的灵敏度达到100%，特异度达到84.4%，阳性预测值为25.0%，阴性预测值为100%。

二、mNGS可拓宽病原检测范围

mNGS的检测范围更广，在20个阳性样本中，mNGS检测到13种病原，包括10种细菌和3种病毒。并检测到一种中枢神经系统感染的罕见病原，人型支原体。

下转第4版

医学参考报

理事长兼总编辑：巴德年
副理事长兼副总编辑：曹雪涛等
理事会秘书长：周赞

社长：魏海明
副社长：吕春雷
副社长：周赞

社址：北京市西城区红莲南路30号红莲大厦B0403
邮编：100055 总机：010-63265066
网址：www.yxckb.com

儿科学专刊

名誉主编：张金哲
主编：倪鑫
副主编：王天有 黄国英 杜军保 孙宁 黄松明
常务编委：（按姓氏笔画排序）
邓力 孙银 李龙 李廷玉 邹丽萍 沈颖
宋红梅 陈强 陈博文 赵正言 钱渊
编委：（按姓氏笔画排序）
王玉 巩纯秀 任少敏 任晓旭 刘智胜 刘翠青

米杰 许春娣 孙军 杜立中 李梅 李亚蕊
李志辉 陈艳妮 尚云晓 封志纯 赵顺英 侯广军
唐锁勤 黄燕 焦传家
编辑部主任：卢璐
编辑：谷奕 韩彤立 李凯菲 刘春艳 韩书婧
投稿邮箱：yxckb_ek@163.com

基于血清和脑脊液代谢组学的机器学习方法 揭示新生儿败血症合并脑膜脑炎的精氨酸代谢变化



张鹏 主治医师

【据《Computational and Structural Biotechnology Journal》2021年5月报道】题：基于血清和脑脊液代谢组学的机器学习方法揭示新生儿败血症合并脑膜脑炎的精氨酸代谢变化（中国复旦大学附属儿科医院作者张鹏，程国强等）

一、背景及研究目的

败血症合并脑膜脑炎是新生儿败血症的常见并发症，是导致新生儿死亡和神经功能障碍的主要原因。早期识别败血症合并脑膜脑炎对减少新生儿脑损伤尤为重要。本研究的目的是利用无偏代谢组学技术和基于机器学习的人工智能分析方法，以期挖掘与败血症合并脑膜脑炎可能相关的代谢标志物，为进一步开发新生儿败血症合并脑膜脑炎预测模型提供科学依据。

二、方法

本研究招募了70例新生儿败血症患儿（42例合并脑膜脑炎，28例未合并脑膜脑炎），同步采

集脑脊液和血清标本进行液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)检测，并进行代谢组相关分析，鉴定败血症合并脑膜脑炎组与无脑膜脑炎组代谢物的差异。研究采用机器学习方法，根据测定的血清样本中代谢物的浓度来预测脑脊液中相应代谢标志物的浓度。

三、结果

LC-MS/MS在脑脊液和血清样品中共检测到91种代谢物，其中55种为电喷雾+模式，36种为电喷雾-模式。线性判别分析(LDA)显示，脑脊液和血清的代谢组在LD1维度上有明显的区别，表明脑脊液和血清的整体代谢物有很大的不同。此外，研究者还对脑脊液和血清进行了NMDS分析，结果表明，脑脊液和血清代谢物数据可以清楚地区分两组患儿。

为了发现新生儿败血症合并脑膜脑炎的生物标志物，研究者使用DESeq2（一种基于弥散和折叠变化收缩估计的温和差异分析方法）并结合Wilcoxon秩和检验在败血症合并脑膜脑炎和未合并脑膜脑炎的败血症患儿的脑脊液样本中鉴定差异较大的代谢物。研究者在合并脑膜脑炎组共检测到13种差异显著的代谢物，其中吡哆醛、犬尿酸、高香草酸、吡咯烷、丙酮酸、L-脯氨酸、多巴胺、酚醛酸、甘氨酸9种

代谢物在合并脑膜脑炎组显著升高，而L-高精氨酸、尿素、磷酸等4种代谢物在合并脑膜脑炎组显著降低。同样，合并脑膜脑炎组和未合并脑膜脑炎组血清代谢物的差异分析显示，两组间有23种代谢物有显著性差异。合并脑膜脑炎组牛磺酸、甘氨酸、意大利酸、阿糖次黄嘌呤、马尿酸、L-脯氨酸、孕三醇、甜菜碱、棕榈酸等9种代谢物显著高于未合并脑膜脑炎组，而合并脑膜脑炎组中的2-甲氧基对乙酰氨基酚硫酸盐、硬脂酰肉碱、尿酸、肌酸等14种代谢物较未合并脑膜脑炎组显著降低。研究者比较发现合并脑膜脑炎组脑脊液和血清中L-脯氨酸和甘氨酸浓度显著升高，L-高精氨酸和肌酐浓度显著降低。

代谢物途径富集分析发现与未合并脑膜脑炎组相比，合并脑膜脑炎组脑脊液样本中的尿素循环、维生素B₆代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、糖酵解和半胱氨酸代谢途径显著增强。有趣的是，尿素循环、精氨酸和脯氨酸代谢途径都与磷酸有关。

应用机器学习方法根据血清代谢物标记物的浓度来预测脑脊液代谢物标记物的浓度，并将预测结果与已鉴定的合并脑膜脑炎组的相关标记物进行比较。本研究比较了不同线性模型的预测结果，发现

套索回归模型的预测效果最好。在代谢物标志物中，套索模型预测的脑脊液L-高精氨酸浓度最接近真实脑脊液浓度($R^2=0.811$)。使用套索模型评估了影响脑脊液目标代谢物浓度的血清代谢物标志物，发现血清L-高精氨酸、十六碳二酸单L-肉碱酯和尿酸浓度与脑脊液L-高精氨酸浓度呈正相关。本研究将XGBoost和套索算法结合起来预测脑脊液中代谢物的组成，发现根据血清中L-高精氨酸浓度预测的脑脊液浓度与实际血清浓度呈显著正相关。

综上所述，合并脑膜脑炎组的脑脊液和血清中的L-高精氨酸浓度显著低于未合并脑膜脑炎组；合并脑膜脑炎组脑脊液中L-高精氨酸浓度与血清中的L-高精氨酸和十六碳二酸单-L-肉碱酯的浓度显著正相关。

本研究进一步分析这些代谢物的ROC曲线，发现血清代谢物标志物的AUC为76.19%，随机森林模型显示肌酐最高，L-高精氨酸排在前十。脑脊液代谢物标志物的AUC较高(83.33%)，随机森林模型显示丙酮酸排名第一，L-高精氨酸排名第三。这四种差异丰富的代谢物是鉴别新生儿败血症合并脑膜脑炎的潜在生物标志物。

四、结论

血清和脑脊液代谢物分析

专家简介



程国强 教授

博士研究生导师，复旦大学附属儿科医院新生儿科主任医师。主要从事新生儿缺氧缺血性脑病的基础和临床研究。中华医学会儿科专业委员会围产学组组长、上海医学会新生儿分会生物医学工程组副组长、中国医师协会新生儿专业委员会呼吸学组委员、上海市医学工程学会新生儿专业委员会秘书、委员。获得中华医学、教育部科技进步二等奖等奖项。获得国家自然科学基金2项，国家重点研发项目子课题1项。上海市科委及复旦大学基金6项。发表论文80余篇。主编新生儿专著4部，参编专著10余部。

结合机器学习确定了新生儿败血症合并脑膜脑炎的相关代谢标志物。新生儿败血症合并脑膜脑炎的特点主要表现为精氨酸代谢的改变和与之相关的肌酐代谢改变。

(张鹏 编译)

专家简介



吴丹 研究员

博士研究生导师，现任浙江大学生物医学工程系系主任。国家“千人计划”青年项目入选者，国际磁共振协会Junior Fellow（领域内青年科学家最高荣誉），美国霍华德休斯医学研究所(HHMI)国际学生奖学金，国际磁共振协会卓越论文奖。近五年发表SCI期刊论文34篇（第一作者/通讯作者20余篇），会议论文40余篇，特邀报告10余次，申请美国、中国专利8项。

振荡梯度和脉冲梯度弥散磁共振成像评估 新生儿缺氧缺血性脑病的可行性分析

【据《Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism》2020年8月报道】题：振荡梯度和脉冲梯度弥散磁共振成像评估新生儿缺氧缺血性脑病的可行性分析（中国浙江大学 作者沈晓霞，吴丹等）

新生儿缺氧缺血性脑病(HIE)是新生儿神经发育障碍和死亡的主要原因。全球约有1.5%的新生儿受到不同程度的缺氧缺血性脑损伤。超过40%的中重度HIE新生儿患有脑瘫、癫痫等神经系统并发症。HIE治疗的时间窗口非常短，已知的亚低温治疗对中重度HIE婴儿在发病后6小时内具有脑保护作用。较短的时间窗口强调了早期诊断的重要性。磁共振成像(MRI)作为一种无创医

学影像技术，在新生儿HIE的诊断中发挥着重要作用。HIE患儿的常规MRI检查包括T1加权(T1WI)、T2加权(T2WI)、弥散加权成像(DWI)及光谱学。这些图像提供了有关受伤部位、程度和时间的信息；然而，它们的敏感性和特异性并不能完全满足临床需要。为了提高诊断能力和支持临床决策，有必要开发早期标志物，以提供有关神经元微结构病理变化及整体损伤的特定信息。

一、弥散磁共振成像的发展和挑战

弥散磁共振成像(dMRI)在早期发现缺血性损伤(包括HIE)方面具有很高的敏感性。弥散成像定量的表现扩散

系数(ADC)在缺血性卒中后数分钟内下降。基底核(又称基底神经节)和腹外侧丘脑的ADC减少是急性损伤期间新生儿HIE的标志。ADC能反映细胞形状、细胞大小和细胞密度，细胞内外液体的弥散系数与渗透性等微结构的综合特性，如能从弥散成像中提取出新生儿HIE特定的病理特征谱信息，将为新生儿HIE的精准诊断及预后评估提供有力技术支持。

二、振荡梯度(OG)与脉冲梯度(PG)弥散成像技术在正常新生儿中的应用

本研究评估了OG-和PG-dMRI技术在6例正常新生儿大脑成像中的应用。OG-ADC在前部和后部大脑皮质



沈晓霞 主治医师

下白质、基底神经节和丘脑这四个感兴趣区域(ROI)均高于PG-ADC，增加的百分比分别为16%±1%、15%±2%、13%±2%、11%±5%。△ADC(OG-ADC-PG-ADC)在前部和后部大脑皮质下白质显著高于基底神经节和丘脑区域。

三、OG和PG弥散成像技术HIE新生儿中的应用

本研究对5例轻度、6例中度、7例重度HIE新生儿进行T1WI、T2WI、DWI常规序

下转第6版

宫内感染产妇经抗生素治疗的新生儿肠道微生物群及代谢组学研究



李辉桃 副主任医师

【据《Frontiers in Cellular and Infection Microbiology》2022年3月报道】题:宫内感染产妇经抗生素治疗的新生儿肠道微生物群及代谢组学研究(中国南方医科大学深圳妇幼保健院 作者李辉桃,杨传忠等) 新生儿出生时肠道细菌的多样性和丰度较低,容易受到干扰。研究表明早期肠道微生物区系的扰动具有长期影响,可能会增加晚年肥胖、免疫功能障碍和神经系统异常等疾病的风险。了解宫内感染产妇的新生儿肠道菌群和肠道代谢功能对了解肠道健康状况具有重要意义。

一、研究对象

本研究招募了3组新生儿,23例宫内感染产妇娩出的应用抗生素治疗的新生儿(宫内感染组),16例非宫内感染产妇娩出的应用抗生素治疗的新生儿(抗生素组),30例健康产妇娩出的未治疗的新生儿(对照组)。对所有新生儿的69份粪便样本进行非靶向代谢组检测,并对符合测序要求的60份扩增产物(宫内感染组18份,抗生素组12份,对照组30份)进行16S rRNA测序。3组在产妇年龄、孕前体重指数、胎龄、新生儿性别、分娩方式、出生体重和喂养方式方面没有差异。宫内感染组和抗生素组之间的抗生素治疗时间没有差异。

二、宫内感染产妇娩出的新生儿经抗生素治疗后肠道微生物群失衡

宫内感染组 Shannon 指数低于健康对照组($P=0.0465$)。宫内感染组与抗生素组之间、抗生素组与对照组之间的 Shannon 指数、PD_Whole_TREE 和 Observed_species 指数均无差异。

比较3组的肠道微生物群 β -多样性。宫内感染组和对照组之间以及抗生素组和对照组之间的 β -多样性存在显著差异,表明抗生素的使用对出生后第1周的 β -多样性有明显的影 响。宫内感染组和抗生素组之间肠道微生物区系的 β -多样性没有显著差异。在门水平上,3组之间的菌落和变形杆菌的相对丰度有显著差异。宫内感染组菌落较对照组丰富,而变形杆菌较对照组少。在属水平上,肠球菌、葡萄球菌、未分类肠杆菌科、梭状芽胞杆菌和红球菌的相对丰度在3组间存在差异。肠球菌相对丰度在宫内感染者和对照组之间差异最明显(46.08% vs 2.45%),在抗生素组和对照组之间有差异,在宫内感染组和抗生素组之间无差异。葡萄球菌、未分类肠杆菌科细菌和红球菌的相对丰度在宫内感染组与对照组、抗生素组与对照组之间也有差异,而在宫内感染组与抗生素组之间无差异。抗生素组和对照组的梭状芽胞杆菌相对丰度不同。这些结果可能提示抗生素对宫内感染组细菌相对丰度的影响。进一步计算抗生素治疗时间与丰度前10位的菌属相对丰度之间的关系,没有发现相关性。

三、肠球菌与新生儿感染和炎症有关

Spearman 相关检验显示新生儿肠道菌群与新生儿感染和炎症相关。在前十名中,肠球菌与新生儿中性粒细胞和白细胞计数呈正相关,葡萄球菌和未分类肠杆菌科细菌与新生儿中性粒细胞和白细胞计数呈负相关。

四、宫内感染产妇娩出的新生儿应用抗生素治疗后肠道代谢及代谢途径的影响

所有样品中共检测到364种代谢物。对宫内感染组和对照组的代谢物进行 OPLS-DA 分析,表明宫内感染组和对照组的粪便代谢物有显著差异。宫内感染组和对照组共检测到304种代谢物。在 OPLS-DA 中产生的变量重要性投影(VIP)反映了宫内感染组和对照组的区别代谢物。在最具判别性的代谢物中,N-甲酰-L-甲硫氨酸的VIP值最高(VIP=5.7699)。宫内感染组N-甲酰-L-甲硫氨酸丰

度显著高于对照组。表明对于宫内感染的产妇经抗生素治疗的新生儿,应筛选这种代谢物。此外,N-甲酰-L-甲硫氨酸与新生儿中性粒细胞和白细胞计数呈正相关。宫内感染组较对照组有129种代谢物的丰度明显增加,包括维甲酰b-葡萄糖醛酸苷、DL-甲硫氨酸亚砷、N-甲酰-L-甲硫氨酸等。相比之下,167种代谢物的丰度降低,包括甘氨酸、视黄醇、泛酸、N-乙酰-L-谷氨酸等。KEGG 代谢通路分析表明,这些代谢物涉及多个途径,包括初级胆汁酸生物合成、次级胆汁酸生物合成、胆固醇代谢、半胱氨酸和甲硫氨酸代谢、精氨酸生物合成等。

抗生素组和对照组之间的代谢物在负离子模式下显著不同,在正离子模式下没有差异。在抗生素组和对照组之间检测到负离子模式的109种代谢物显著不同,其中两组之间92种代谢物的差异趋势与宫内感染组和对照组之间的差异趋势一致,包括牛磺胆酸3-硫酸盐,甘氨酸盐,和脱氢胆酸。这一结果表明宫内感染组中这些代谢物的差异可能是由抗生素使用引起的。在109个差异代谢物中,抗生素组增加了26种代谢物的丰度,包括牛磺胆酸3-硫酸盐;而抗生素组减少了83种代谢物,包括茉莉酸、溶菌素PC(17:0)、溶菌素PC(15:0)、N-乙酰-L-谷氨酸和甘氨酸。这六种代谢物涉及的代谢途径包括胆固醇代谢和精氨酸生物合成。这些结果表明,某些代谢过程的改变可能是由抗生素诱导的肠道微生物群的变化引起的。

五、代谢物与主要细菌属的相关性

计算了已鉴定的代谢物丰度与前10个属的相对丰度之间的相关性。FDR调整后,肠球菌和红球菌与N-甲酰-L-甲硫氨酸呈正相关,葡萄球菌和未分类肠杆菌科与N-甲酰-L-甲硫氨酸呈负相关。发现红球菌与牛磺胆酸3-硫酸盐、甘氨酸和牛磺胆酸呈正相关,与甘氨酸呈负相关。表明红球菌在胆汁酸的生物合成过程中发挥了作用。

六、总结

本研究结果显示,宫内感染产妇所生新生儿经抗生素治疗与非宫内感染产妇所生新生儿肠道菌群相似,但与健康对照组新生儿肠道菌群有显著差异。抗生素的使用可能有显著影响。宫内感染产妇的新生儿肠道胆汁酸和胆盐异常可能会造成不良影响。N-甲酰-L-甲硫氨酸与新生儿中性粒细胞和白细胞计数水平呈正相关,提示其参与了炎症反应。N-甲酰-L-甲硫氨酸还与肠球菌、红球菌呈正相关,与葡萄球菌、未分类肠杆菌科呈负相关。提示应该对接受抗生素治疗的新生儿进行N-甲酰-L-甲硫氨酸的筛查。

(李辉桃 编译)

专家简介



杨传忠 主任医师

主任医师,博士,博士研究生导师;现任南方医科大学深圳妇幼保健院新生儿科主任。中华医学会围产分会常委兼新生儿复苏学组副组长、中华医学会儿科分会新生儿学组秘书、中国医师协会新生儿科医师分会副会长兼新生儿复苏专家委员会主委、中国优生科学协会早产与早产儿管理分会副主委、广东省医学会围产医学分会副主任委员、深圳医学会围产医学专业委员会主任委员,深圳市新生儿质量控制中心主任等。《中国小儿急救医学》《中国新生儿科杂志》等杂志编委、审稿专家。新加坡KK妇儿医院、美国迈阿密大学杰克逊儿童医院新生儿科访问学者等,第九届“宋庆龄儿科医学奖”获得者。发表论文百余篇、获得中国和德国发明专利各1项,主持各级科研课题十余项。

上接第2版

传统方法只检测到4种病原微生物,1例大肠埃希菌,1例表皮葡萄球菌,1例单纯疱疹病毒1型,2例单纯疱疹病毒2型。

三、mNGS 受抗生素应用的影响小

根据送检标本前是否应用抗生素将收集的脑脊液样本分为两组,经验性使用抗生素治疗组和未使用过抗生素治疗组,分别占62.4%和37.6%。两组中mNGS的检测阳性率均高于传统方法,尤其是经验性治疗组中,mNGS的检测阳性率显著高于未使用抗生素治疗组(27.0% vs 6.3%, $P=0.002$)。

四、mNGS 可有效指导临床决策

在88例患者中,16例患儿为病原诊断中枢神经系统感染。在这16例患儿中,3例通过mNGS和传统方法共同确诊,13例仅由mNGS诊断。仅根据mNGS诊断的13例患儿中,12例的诊断具有指导临床决策的作用。而且mNGS测序Reads具有半定量的作用,具有指导抗生素使用的可能。由于病情需要,临床医生对9例患儿进行了多次脑脊液mNGS检测,基于这9例患儿mNGS的多次检测结果,可以观测mNGS检测Reads数和脑脊液白细胞计数、蛋白和葡萄糖定量间的关系。在患儿接受抗生素治疗后,mNGS检出Reads显著减少或者变为阴性,而脑脊液参数

(包括白细胞计数,蛋白和葡萄糖)的变化趋势和Reads数并不一致。

五、mNGS 联合 WES 可提高疑似中枢神经系统感染的病因诊断率

共有43例患儿通过WES检测进行了遗传诊断。最终,有6例患儿被诊断,除了1例具有感染症状外,其余5例均具有惊厥或其他神经系统的异常表现。这些患儿一旦被确诊,可以给予除抗生素以外的更精准的治疗,遗传诊断的结果有利于更准确地遗传咨询、随访和管理。mNGS联合WES检测可提高病因诊断率,进一步提示对于新生儿疑似中枢神经系统感染应当结合多种方法进行精准诊断,以提高患儿预后。

六、总结

本研究通过将mNGS应用到疑似中枢神经系统感染的新生儿人群中,分析总结出mNGS在新生儿中枢神经系统感染中的应用可提高病原阳性检出率,拓宽病原检出种类,受抗生素的影响小,具有良好的诊断效能。同时mNGS结果可以有效指导临床抗感染治疗决策,mNGS检测Reads数具有半定量的作用,具有指导抗感染治疗程序的潜力。新生儿期明确中枢神经系统感染患儿或疑似中枢神经系统感染且诊断不明确患儿,应及时进行WES检测,可提高患儿的病因确诊率,为遗传性疾病患儿制定精准的治疗方案,提供遗传咨询,改善预后。

(葛萌萌 编译)

KIF5C 基因缺陷影响小鼠皮质神经元迁移、树突分支和树突棘形态

【据《Pediatric Research》2021年12月报道】题：KIF5C 基因缺陷影响小鼠皮质神经元迁移、树突分支和树突棘形态（中国复旦大学附属儿科医院作者李宛星，周文浩等）

一、研究背景

在大脑皮质发育过程中，精确调控的神经元迁移、树突和树突棘的形态发育确保了神经网络结构的完整性和功能性神经环路的形成。神经元突起形态异常及神经元迁移定位的紊乱导致先天性皮质发育异常（malformation of cortical development, MCD），包括无脑/厚脑回、多微脑回和小头畸形，常伴有癫痫发作、智力残疾、雷特综合征和自闭症谱系障碍。因此，寻找在皮质发育早期调控神经元生长和迁移的蛋白分子是探究 MCD 发病机制的重要基础。近年，多项临床研究发现 MCD 患者携带 KIF5C 基因缺陷，提示其在大脑皮质发育中的关键作用。

二、研究结果

1. 病例分析

自 2013 年以来，全球已报告了 11 例 KIF5C 突变相关的 MCD。通过表型-基因型分析，本研究发现所有患者存

在大脑皮质发育畸形和小头畸形，其中 5 例为厚脑回畸形，2 例为多微脑回畸形。6 例有脑电图数据患者中，5 例 1 岁之前出现癫痫发作，4 例出现全身性癫痫发作，其中 2 例进展为难治性癫痫。6 例出现严重的精神运动和认知障碍，5 例出现异常行为。

2. 大脑皮质发育过程中 Kif5c 高表达

回顾公开的单细胞数据，发现 KIF5C 在小鼠、人类早期发育的脑组织中高表达（GSE156793 和 GSE132044）。通过定量 PCR，研究者验证了围生期小鼠皮质组织中的 Kif5c mRNA 水平。E14.5 时期后 Kif5c 表达量开始增加；E16.5 和 P0 之间检测到表达高峰，P0 之后表达逐渐降低至低水平。

研究者进一步检测了人类大脑早期发育过程中的 KIF5C 表达情况。采用人类诱导多能干细胞（iPSC）生成前脑类器官作为研究模型。前脑类器官的分层过程模拟了人类大脑皮质由内而外的发育模式。KIF5C 表达随着类器官的成熟显著增加，并在大约第 30 天（类器官的第 V 层形成时）达到峰值水平。

3. 敲低 Kif5c 基因导致皮质神经元迁移异常

研究者通过胚胎电转技术敲减小鼠皮质神经祖细胞中的 Kif5c 表达，来研究其在皮质神经元迁移中的作用。选择出具有最高敲减效率的 shKif5c-#2 小鼠，在 E13.5 时期将 shKif5c-#2 和 shDsred（对照）导入胚胎小鼠皮质神经祖细胞中，并在 E18.5 分离皮质进行固定染色。在 E18.5 时，对照组和实验组两组中大多数表达 GFP 的神经元都已离开脑室区并到达中间区和皮质板（CP）。然而，与表达 shKif5c 的神经元相比，表达 shDsred 的神经元中到达 CP 表面的细胞数量更多。但是在 P30 时，两组所有 GFP 标记神经元均到达 CP 表面，这表明早期 Kif5c 敲减只会导致皮质迁移的短暂延迟。这些结果表明，Kif5c 是精确控制皮质神经元迁移所必需的。

4. 敲低 Kif5c 基因导致树突分支、树突棘发育异常

通过电转技术，在 1DIV 时将 shDsred 和 shKif5c-#2 转染体外小鼠原代皮质神经元，然后在 10DIV 时固定染色。本研究发现用 shKif5c-#2 转染的神经元具有更少的初级树突，

但在实验组和对照之间没有发现总树突长度的显著差异。因此，在早期神经元形态发生过程中，Kif5c 缺乏会干扰体外的树突生长。

在 E13.5 行胚胎电转后，在 P30 收集大脑皮质组织以分析不同形态的树突棘的密度。本研究发现表达 shKif5c 的神经元比对照神经元具有更多的瘦长型树突棘。两组之间的蘑菇型树突棘则没有显著差异。树突棘发育异常可能导致神经元兴奋性增加并诱发癫痫发作。在前文描述中，6 例具有脑电图数据的患者中，83%（5/6）的患者在 1 岁前有癫痫发作。基于这些结果，KIF5C 缺乏可能通过影响早期树突棘的发育而导致癫痫发作。

5. 神经元发育相关基因集在 shKif5c 和对照组之间的差异表达

研究者收集了含有 shKif5c 和 shDsred 的慢病毒转染的两组神经元的总 RNA 进行测序，以确定两组之间的转录组差异。与对照神经元相比，Kif5c 缺陷神经元中 204 个基因的 mRNA 水平发生了改变，其中 49 个基因被上调，155 个基因被下调。

三、总结

研究者发现 Kif5c 是神经

编译者简介



李宛星 博士

复旦大学附属儿科医院新生儿科住院医师，从事神经系统罕见病基因组学的相关研究，以第一作者在 Pediatric Research、JCI insight、Clinical Biochemistry、《中国循证儿科》等杂志上发表研究工作。

元正常形态发育所必需的，并且敲低 Kif5c 基因会导致神经元迁移延迟。此外，在皮质神经元中敲低 Kif5c 后，一组与神经元形态和迁移密切相关的基因的表达发生了改变。这些发现提示，KIF5C 在早期发育阶段对皮质神经元的生长和功能至关重要，并为 KIF5C 相关先天性皮质发育不良的神经病理学提供了新的见解。

（李宛星 编译）

抑制 TLR4 减轻新生大鼠缺氧缺血诱导的海马神经元铁死亡

专家简介



黑明燕 教授

博士，教授，主任医师，博士研究生导师，现任首都医科大学附属北京儿童医院新生儿中心主任。从事新生儿危急重症的临床诊治、新生儿脑损伤的保护策略及机制研究。任中华医学会儿科分会新生儿学组委员、中国医师协会新生儿分会常委，海峡两岸医药促进会新生儿专业委员会副主任委员，中国妇幼保健协会医院感染控制专业委员会常委，北京市医学会儿科学分会委员及新生儿学组副组长等。先后主持国家自然科学基金面上项目、美国中华医学会公开竞标课题、加拿大健康卫生研究院母婴团队建设课题、北京市自然科学基金面上项目、首都发展特色专项课题等 9 项。研究成果在国内外期刊以第一作者或通讯作者发表学术论文 66 篇，其中 SCI 科研论著 19 篇。已培养毕业硕士及博士研究生共 17 人。

【据《Experimental Neurology》2021年11月报道】题：抑制 TLR4 减轻新生大鼠缺氧缺血

诱导的海马神经元铁死亡（中国首都医科大学附属北京儿童医院 作者朱凯驿，黑明燕等）

一、HIBD 导致 TLR4 通路的激活和海马神经元铁死亡的发生

为了检测 HIBD 中 TLR4 通路是否参与铁死亡的发生，采用 7 日龄新生大鼠缺氧缺血

（hypoxic-ischemic, HI）模型。与对照组相比，HI 组损伤侧海马区的 TLR4、P53 表达升高，SLC7A11 和 GPX4 的表达降低；透射电镜显示：海马神经元细胞膜结构浓缩、肿胀出泡或断裂，线粒体皱缩、线粒体嗜消失或减少，符合神经元铁死亡的形态学改变；证明 HI 诱导海马神经元细胞发生铁死亡并伴有 TLR4 通路的激活。

二、抑制 TLR4 可减轻 HIBD 诱导的海马神经元铁死亡的发生

用 TLR4 的特异性抑制剂 TAK-242 预处理经 HI 的大鼠幼崽，将实验分为对照组、HI 组和 HI+TAK-242 组（HI+TAK 组）。结果显示，与 HI 组相比，HI+TAK 组显著降低了海马中 TLR4 和 p53 的蛋白表达水平，促进 SLC7A11 和 GPX4 的蛋白表达水平。



朱凯驿 主治医师

GPX4 的免疫组化显示抑制 TLR4 明显增加了损伤侧海马 CA1 中 GPX4+ 细胞的数量。免疫荧光证实，与 HI 组相比，HI+TAK 组中 p53+ 细胞的数量显著减少。

三、抑制 TLR4 可抑制 HIBD 后铁死亡相关基因和神经炎症因子的表达

检测 ATP 合酶 F0 复合亚基 C3、前列腺素-内过氧化物合酶 2、柠檬酸合酶、铁反应元件结合蛋白和核糖体蛋白

下转第 7 版

复旦儿科新生儿科团队抗击新冠肺炎疫情工作经验分享

专家简介



周文浩 教授

主任医师，现任复旦大学附属儿科医院副院长。2022年4-6月上海交通大学附属仁济医院南部院区新冠肺炎定点医院，儿科医疗队领队。

专家简介



曹云 主任医师

现任复旦大学附属儿科医院新生儿科主任。2022年3-6月，统筹安排，带领新生儿科团队开展临床和抗击疫情工作。

专家简介



周建国 副主任医师

现任复旦大学附属儿科医院新生儿科NICU副主任。2022年4-6月上海交通大学附属仁济医院南部院区新冠肺炎定点医院，儿科医疗队医务部主任。

专家简介



陆春梅 主管护师

现任复旦大学附属儿科医院新生儿科病区护士长。2022年4-6月上海交通大学附属仁济医院南部院区新冠肺炎定点医院，儿科医疗队护理部主任。

自2020年以来，新型冠状病毒肺炎（简称“新冠肺炎”）全球肆虐。2022年3-5月，上海新冠肺炎流行期间，由于Omicron病毒株传染性强、容易发生免疫逃逸和疫苗突破性感染，新冠肺炎病例骤增。复旦大学附属儿科医院新生儿科

团队在常规医疗工作外还接收新冠肺炎母亲和婴儿，并外驻上海公共卫生中心对新冠感染新生儿病例开展救治工作。此外，新生儿科团队还临危受命，受复旦大学附属儿科医院派遣，在周文浩副院长的带领下，和上海儿童医学中心、上海儿童医院及仁济医院协作，组建儿科医疗队，进驻上海交通大学医学院附属仁济医院南部院区新冠肺炎收治定点医院，开展儿童新冠肺炎病例的救治工作。相关经验分享如下。

一、率先建立新生儿隔离病区气泡管理模式

复旦大学附属儿科医院作为新生儿的定点收治医院，面对本轮疫情的复杂性，院内疫情防控和医疗救治面临挑战，率先建立了模块化气泡管理策略和高危新生儿转运、救治和随访措施。

新生儿中气泡包括2个小气泡。①隔离病房（设置于医院内单独楼）小气泡，收治具有高危流行病学史新生儿的隔离区域（负压和非负压病室），负压和非负压病室工作人员分别为二级和一级防护（+4），进入隔离病房的新生儿均需完成7d的医学隔离和观察，每日行核酸检测，负压病室新生儿连续3d核酸检测均阴性可转入非负压病室。②过渡病房（普通病房楼）小气泡，收治低危流行病学史新生儿的区域（单间和普通病室），单间和普通病室工作人员分别为二级和一级防护（+4），单间病室需完成3d医学观察，入院时及24h的2次核酸阴性可转入普通病室，再连续2d核酸阴性可结束医学观察。负压和非负压病室、单间和普通病室均设置独立的物品放置点，物品和标本的运送由专人完成。

疫情期间，我院共收治新生儿677例，其中158例进入

隔离病房小气泡管理，519例新生儿进入过渡病房小气泡管理。1例新生儿在隔离病房诊断复杂性先天性心脏病，在完成医学观察后转入CCU。2例在隔离病房负压病室期间核酸检测阳性。317名医护工勤人员参与上海市公共卫生中心儿科病房、隔离病房小气泡和过渡病房小气泡工作，均未发生新型冠状病毒医院感染。

二、优化新冠病毒感染母亲高危新生儿诊疗综合管理策略

此次疫情中复旦大学附属儿科医院隔离病房收治确诊新型冠状病毒Omicron变异株感染产妇分娩的158例新生儿的母婴病例，系统分析产妇及新生儿的临床特征、有无垂直传播、新生儿近期临床结局及防疫隔离措施。数据分析显示孕母晚期感染新型冠状病毒Omicron变异株未通过胎盘垂直传播引起胎儿宫内感染；新冠感染产妇分娩的密接新生儿在出生时及出生后给予全程严格的防疫隔离措施可有效避免新生儿感染；孕晚期母亲新冠感染的新生儿近期结局良好。

三、建立新冠肺炎定点医院，总结救治管理经验

儿童新冠肺炎定点医院的设立，在儿童专科医院和方舱医院之间，起到承上启下的关键作用。2022年4月7日至2022年6月2日，上海交通大学医学院附属仁济医院南部院区儿童新冠肺炎病例定点医院，共计收治871例儿童病例，收治病例以低龄婴幼儿病例和伴有基础疾病的轻型和普通型病例为主。管理关键点包括：构建病例入院流程，强化多学科为基础的规范化诊疗，优化重症管理预警和救治体系，实施以家庭为中心的“亲子”护

理策略，落实“一人一策”中医治疗方案，优化出院流程、加强床位周转，严格全轨迹防控、降低院感风险，构建结构化病历系统、借助信息平台、适应大流量病例工作模式，开展科学研究、分析诊疗经验等。立足当下疫情态势，为优化临床医疗流程、提高医疗救治质量提供了可参考的经验总结。

四、开展临床研究，探索儿童新冠病毒感染病例的治疗新策略

定点医院收治儿童病例，在疫情高峰期，床位供不应求，为降低儿童病例重症化风险，缩短住院时间，救治团队还对新冠肺炎儿童病例的诊治方案进行研究。以Paxlovid为例，既往研究认为Paxlovid在成人中使用能够有效降低重症病例发生，缩短病毒转阴时间；然而，其在儿科病例中使用的可行性、安全性尚不明确。疫情期间团队还对Paxlovid在6~14岁儿童病例中使用的可行性、安全性和疗效开展了前瞻性临床研究。纳入5例具有基础疾病的新冠肺炎儿童病例，给予Paxlovid治疗，以30名接收常规治疗、年龄匹配且具有基础疾病的患者作为对照。结果发现基于目前的小样本研究，Paxlovid是治疗6~14岁有基础疾病新冠儿童病例的可行方案。然而，Paxlovid的安全性和疗效仍需进一步大规模研究。

总结，2022年3-6月期间，复旦大学附属儿科医院新生儿科医疗团队，在上海市、医院及科室的统一调控下，参与如火如荼的抗疫之中，不辱儿科人“一切为了孩子”的崇高使命，为抗疫工作贡献力量，为守护儿童健康付出了艰苦努力。

（复旦大学附属儿科医院 周文浩 报道）

上接第3版

列扫描以及OG-和PG-dMRI扫描，同时与正常6例新生儿（对照组）相比较。结果发现，与对照组相比，重度HIE患者基底神经节中PG-ADC降低，而OG-ADC没有表现出任何明显变化。与对照组相比，重度HIE组基底神经节 Δ ADC显著增加，在相同区域中度HIE新生儿也发现 Δ ADC略有增加。

在所有重度HIE新生儿中都有基底神经节区局灶性或弥漫性ADC降低。因此，重点关注基底神经节区，三因素方差分析发现，只有分组效应（对照、轻度、中度和重度）对PG-ADC具有显著性影响，而分组、低温和扫描时日龄对 Δ ADC结果有影响。重度HIE组的PG-ADC显著低于对照组，但和轻度、中度HIE组无差异。OG-ADC在各组之间没有显示出任何显著差异。与对照组相比，在重度和中度HIE新生儿的基底神经节观察到ADC显著升高，且HIE三个分组中观察到 Δ ADC逐渐增加。此外，重度HIE患者和对照组之间 Δ ADC差异的程度（增加

23.7%）大于PG-ADC（减少12.6%）。在本研究的其他区域，包括丘脑、前部和后部大脑皮质下白质，没有观察到显著变化。

根据T2W图像，4例HIE新生儿，包括3例重度HIE和1例中度HIE，在前部大脑皮质下白质区域表现出白质水肿。与对照组相比，PG-和OG-dMRI未显示白质水肿区域的ADC差异，而这些区域的 Δ ADC显著增加。

四、总结

本研究证实了将振荡梯度和脉冲梯度弥散磁共振成像应用到HIE新生儿的可行性。以 Δ ADC为特征的弥散时间依赖性在检测中重度HIE新生儿的缺血性损伤方面提高了敏感度，且对白质水肿相关病理敏感。受时间限制，本研究无法进行多频率多梯度扫描检查，通过生物物理模型来量化HIE的微观结构变化，然而作为第一次尝试，我们的研究证明了时间依赖的弥散磁共振成像在新生儿HIE中的临床可行性和价值。（沈晓霞 编译）

IL-27 在 NEC 和 HSEO-FPIES 鉴别诊断中的应用价值评价

专家简介



胥文春 教授

博士，教授，博士研究生导师。就职于重庆医科大学检验医学院。从事疾病标志物、过敏性哮喘防治及肺炎链球菌疫苗研究。重庆市生化学会会员、重庆市免疫学会会员。主持和参与国家863子课题、国家自然科学基金、重庆市自然科学基金等10余项。获四川省科技进步三等奖1项、重庆市科学技术奖二等奖1项，发明专利授权2项。以第一作者和通讯作者发表学术论文50余篇，其中SCI论文20余篇。

【据《EBioMedicine》2021年10月报道】题：IL-27作为一种潜在的生物标志物用于区分坏死性小肠结肠炎和高度疑似早发性食物蛋白诱导的伴有腹部积气体征的小肠结肠炎综合征（中国重庆医科大学作者齐玉红，胥文春等）

一、研究背景

新生儿坏死性小肠结肠炎（necrotizing enterocolitis, NEC）和食物蛋白诱导的小肠结肠炎综合征（food protein-induced enterocolitis syndrome, FPIES）是新生儿常见的胃肠道疾病。其中，NEC是一种极具破坏性

的肠道疾病，目前的诊断标准是修正后的贝尔分期，主要诊断依据是临床表现和放射学特征。FPIES是一种非IgE介导的胃肠道食物超敏反应，诊断主要基于病史、临床表现，以及规避致敏食物后症状的缓解情况。

X线或超声检查显示有腹部积气体征，即高度疑似早发性FPIES（highly suspected early onset-FPIES, HSEO-FPIES），其临床症状和腹部影像学表现与NEC患儿相似，难以区分。但NEC和FPIES的预后和治疗大不相同。NEC往往进展迅速，预后较差，需要抗生素治疗和更长的禁食时间，而FPIES只需规避致敏食物。医生在回顾病程后，可在疾病晚期对NEC和FPIES进行鉴别，但早期鉴别诊断困难。NEC和FPIES的实验室鉴别诊断指标鲜有学者研究。亟待一种新的生物标志物对二者进行鉴别诊断，这有助于临床决策并改善新生儿预后。

白细胞介素-27（IL-27）是一种由EB病毒诱导基因3和IL-27 p28组成的异源二聚体细胞因子，主要由抗原呈递细胞产生。Toll样受体4（TLR4）激活后IL-27表达增加，而TLR4在NEC的发病机制中起关键作用。作者推测IL-27可能具有鉴别NEC和FPIES的潜能。

二、研究方法

1. 纳入与排除标准

纳入标准：血便、呕吐或腹胀且需要行放射或超声检查的患儿。

排除标准：①在任何影

像学检查中患儿均没有肠壁积气、门静脉积气或气腹的迹象。②先天性胃肠道疾病，例如赫氏弹簧病患者。③外科手术中发现自发性肠穿孔的患者。④腹泻是唯一的临床表现，粪便中检测到肠病毒。⑤缺少重要信息的患儿。

2. 分组

该临床研究包括一项病例对照研究和一项验证队列研究。在病例对照研究中，纳入了黄疸新生儿（n=8），HSEO-FPIES患儿（n=9）和NEC患儿（n=13）。在队列研究中，NEC组（n=87），HSEO-FPIES组（n=62）和轻度黄疸对照组（n=54）。

3. 诊断

首先根据修正后的贝尔分期Ⅱ或Ⅲ期标准判断患儿是否患有NEC。NEC组除有便血、呕吐或腹胀等肠道体征外，应接受抗生素治疗并禁食至少7天，有腹部体征（如肠鸣音减退、腹部压痛）和全身体征（发热及呼吸暂停）。然后根据国际共识指南，要求满足至少一个主要标准加上至少三个次要标准，判断其余患者是否符合HSEO-FPIES标准。不符合NEC或HSEO-FPIES标准的患者被归类为患有其他疾病，出于伦理考虑，选择只有轻度黄疸的新生儿作为对照组。

三、结果

1. 病例对照研究初步探究血清IL-27鉴别NEC和HSEO-FPIES的能力

与HSEO-FPIES和对照组相比，NEC组的胎龄较小，出生体重较低，住院时间更长。但是，3组之间患儿的Apgar 1

min和5 min得分、性别组成、分娩方式和辅助通气均差异无统计学意义。与HSEO-FPIES和对照组相比，NEC组的血清IL-27水平显著升高，HSEO-FPIES组的IL-27水平高于对照组。这些结果表明IL-27具有鉴别NEC和HSEO-FPIES的潜能。

2. 前瞻性队列研究验证IL-27对NEC和HSEO-FPIES的鉴别诊断价值

IL-27的血清水平：首先观察血清IL-27水平是否与性别、出生后年龄、胎龄或出生体重有关。对照组IL-27水平与胎龄和出生体重没有显著相关性。NEC组的IL-27水平从发病第1天到第3天呈上升趋势，然后下降，但仍显著高于HSEO-FPIES组。而HSEO-FPIES组的IL-27水平从出生后第0天到第7天无显著变化。

IL-27与其他诊断指标的相关性分析：检测患儿血液中IL-6、CRP、WBC、中性粒细胞（N）、淋巴细胞（L）、N/L和PLT的水平，同时对X线评分进行分析。与HSEO-FPIES组和对照组相比，NEC组的PLT、WBC及L水平显著降低，而其他标志物水平均显著升高。此外，IL-27水平与IL-6、CRP、WBC、PLT和X线评分显示出较弱的相关性，但与N、L及N/L无相关性。

IL-27对NEC和HSEO-FPIES的鉴别诊断价值：在检测的标志物中IL-27具有最大的AUC值（0.878），即IL-27为鉴别NEC和HSEO-FPIES提供了最大的诊断效能，其



齐玉红 住院医师

CUT-OFF值为1 055.17 pg/ml，此时灵敏度和特异度分别为88.37%和75.81%。

IL-27与其他指标联合后对NEC和HSEO-FPIES的鉴别诊断价值：IL-27与IL-6、CRP和N/L的组合得到的AUC值分别达到0.898、0.903和0.893，所有这些AUC值均显著大于单独的IL-27。IL-27和CRP的组合可获得最佳诊断效能。

四、结论

NEC和FPIES患儿的早期临床表现和腹部影像学表现相似，临床上难以区分。本研究发现IL-27是鉴别NEC与HSEO-FPIES的潜在生物标志物，其在检测指标中AUC最大，为0.878，敏感性为88.37%，特异性为75.81%。与单独的IL-27相比，IL-27与IL-6、CRP或N/L联合可获得更大的AUC。与CRP的联合获得最佳AUC。这可能是由于炎症早期的CRP水平升高不明显，但如果炎症持续，CRP水平会不断升高。而IL-27水平在NEC发病的第1~3天升高。早期标志物IL-27和晚期炎症标志物CRP联合使用增加了诊断价值。

（齐玉红 编译）

上接第5版

L8等铁死亡相关基因表达。与对照组相比，HI组中这些基因的mRNA表达水平明显增高；与HI组相比，在HI+TAK组中这些基因的mRNA的表达水平显著降低。相关神经炎症因子的mRNA水平显示：与对照组相比，HI组中IL-1 β 、IL-6、IL-18和TNF- α 的表达水平都显著增加；而与HI组相比，HI+TAK组中的神经炎症因子的mRNA表达显著降低。

四、抑制TLR4可减轻HIBD后氧化应激和线粒体损伤

为了明确TLR4是否通过增加体内氧化应激水平来诱导神经元细胞铁死亡，检测损伤侧海马组织中GSH、SOD和MDA水平。与对照组相比，GSH和SOD活性在HI组中急剧下降，但在HI+TAK组中有显著恢复。与对照组相比，HI组中脂质过氧化产物MDA的水平显著增加，TAK-242处理降低了HI+TAK组的MDA浓度，这表明在HI+TAK组中抑制TLR4可以抑制组织的氧化应激水平。透射电镜证明，与HI组相比，HI+TAK组海马神经元中的线粒体收缩程度明显改善，线粒体嵴数量显著增加。因此，TAK-242可以通过抑制TLR4来抑制HIBD诱导的氧化应激和线粒体损伤，最终挽救海马神经元铁死亡的发生。

在体外构建了氧糖剥夺（oxygen-glucose deprivation, OGD）模型来模拟体内HIBD模型。结果显示，与对照组相比，OGD组中TLR4和p-p38MAPK蛋白表达水平显著升高，而抑制TLR4可明显抑制p-p38MAPK蛋白表达水平，表明p-p38MAPK可能是TLR4下游的信号蛋白。使用p38的抑制剂SB203580进一步验证，结果表明抑制p-p38MAPK，可改善OGD诱导HT22细胞中的铁死亡相关蛋白的变化，例如导致p53蛋白表达降低，促进SLC7A11和GPX4蛋白表达的恢复。因此TAK-242可能通过抑制TLR4-p38MAPK信号通路减轻OGD诱导的HT22细胞铁死亡的发生。

五、总结

本研究通过建立体内HIBD和体外OGD模型，联合应用TLR4抑制剂TAK-242和p38抑制剂SB203580，证明HIBD和OGD后通过激活TLR4-p38MAPK信号通路引起神经元铁死亡发生，而抑制TLR4可通过减轻氧化应激水平、抑制神经炎症反应、改善海马区神经元细胞铁死亡的发生，最终减轻HIBD诱导的海马神经元损伤。本研究阐明TLR4-p38MAPK信号通路在HIBD诱导的海马神经元铁死亡的作用和机制，为临床中HIBD的防治提供了新的治疗靶点。

（朱凯驿 编译）

TLR4 介导肠上皮细胞程序性坏死参与 NEC 的机制研究

专家简介



石永言 副教授

中国医科大学附属盛京医院新生儿科副教授、副主任医师，硕士研究生导师。主要从事新生儿感染与坏死性小肠结肠炎的基础与临床研究。任中华医学会儿科学分会第九届全国青年委员会委员，辽宁省医学会围产医学分会第六届青年委员会主任委员，中国医药教育协会新生儿影像学会常委兼秘书长。主持国家自然科学基金2项、辽宁省自然科学基金项目等。近五年以第一作者或通讯作者发表论文17篇，其中SCI收录10篇。

【据《Pediatric Research》2021年3月报道】题：TLR4介导肠上皮细胞程序性坏死参与 NEC 的机制研究（中国医科大学附属盛京医院 作者刘天婧，石永言等）

新生儿坏死性小肠结肠炎（NEC）是早产儿最常见且最严重的急性肠道坏死性病变。2019年“中国新生儿协作网”统计了全国52家NICU数据显示：出生体重<1500g的早产儿中，Ⅱ级及以上 NEC 发生率为5.5%，需手术的比例为42.3%。与 NEC 相关的死亡率为20%~30%，25%的存活者患有短肠综合征、生长受限、远期神经发育不良等严重不良后遗症。但目前 NEC 的确切发病机制仍未阐明，研究表明，Toll样受体4（TLR4）在 NEC 发病机制中起着至关重要的作用。TLR4可与β干扰素TIR结构域接头蛋白（TRIF）及受体互作蛋白激酶3（RIPK3）结合，诱导程序性坏死。肠上皮细胞（IEC）高表达 TLR4 可能介导其程序性坏死，引起肠上皮屏障受损及炎症反应，继而导致 NEC 的发生。

一、IEC 程序性坏死参与 NEC 的发病

NEC 患儿手术切除回肠组织的 TLR4 及程序性坏死蛋白 pRIPK3 水平显著高于非 NEC 患儿；NEC 新生鼠肠黏膜 TLR4 及程序性坏死相关蛋白 pRIPK1、pRIPK3 和 pMLKL 表达随 NEC 进程显著增加；免疫荧光显示存在大量 IEC 程序性坏死—提示 NEC 患儿及新生鼠存在 IEC 程序性坏死。

给予程序性坏死小分子抑制剂 Necrostatin-1s（Nec-1s）处理 NEC 新生鼠，发现 Nec-1s 能够降低 NEC 新生鼠的死亡率、抑制肠道炎症因子和促炎因子表达、改善肠道结构。进一步检测肠黏膜程序性坏死相关蛋白的表达，Nec-1s 显著降低程序性坏死相关蛋白 pRIPK1、pRIPK3、pMLKL、cleaved caspase-8 表达；免疫荧光染色显示，Nec-1s 显著减少 IEC pRIPK3 染色的阳性细胞数量，

表明 Nec-1s 能够减轻 NEC 新生鼠的 IEC 程序性坏死。

二、TLR4 敲除抑制 IEC 程序性坏死、显著改善 NEC

与野生型小鼠（WT）相比，TLR4 敲除（TLR KO）小鼠显著降低 NEC 新生鼠的死亡率、抑制肠道炎症因子和促炎因子的表达、改善肠腔结构；显著降低程序性坏死相关蛋白 pRIPK1、pRIPK3、pMLKL、cleaved caspase-8 的表达；免疫荧光染色显示，TLR4 敲除总体上减少 IEC TUNEL 染色阳性细胞数，但 Caspase-3 阳性细胞数有所增加，从而表明 TLR4 敲除减轻 IEC 程序性坏死，而非凋亡。

三、TLR4 通过 TRIF 和 TNFR1 途径调控 IEC 程序性坏死

进一步构建 siRNA TRIF 和 siRNA TNFR1 的 HCT-116 细胞系，LPS 干预增加程序性坏死相关蛋白 pRIPK1、pRIPK3 和 pMLKL 的表达，而 siRNA TRIF 和 siRNA TNFR1 分别降低其蛋白表达，siRNA TRIF 和 siRNA TNFR1 双敲低细胞系，程序性坏死相关蛋白水平显著降低至接近未干预的水平，提示 TLR4 可能通过 TRIF 和 TNFR1 介导 IEC 程序性坏死。

四、总结

本研究通过检测 NEC 患儿及新生鼠模型的回肠组织，证实存在显著的 IEC 程序性坏死，给予程序性坏死抑制剂可以抑制 IEC 程序性坏死、减轻 NEC 新生鼠肠道炎症、改善肠道结构。进一步建立 TLR4 敲除 NEC 新生鼠模型，发现 TLR4 敲除抑制 IEC 程序性坏死、显著改善 NEC 肠炎。构建 siRNA TRIF 和 siRNA TNFR1 细胞系，发现 TLR4 通过 TRIF 和 TNFR1 靶向调控 RIPK1-RIPK3-MLKL 介导的 IEC 程序性坏死。这些结果表明 NEC 多重致病因素相互促进，共同活化 TLR4 通路，经由 TRIF 和 TNFR1 介导 IEC 程序性坏死途径，最终导致 NEC 的发生。

（刘天婧 编译）

RNA m⁶A 甲基化在出生后低氧所致肺动脉高压中的作用

专家简介



杜立中 教授

浙江大学医学院附属儿童医院教授，主任医师，博士生导师。现任中华医学会儿科学分会常委，美国儿科学会会员，浙江省医师学会儿科学分会会长，《中华儿科杂志》副总编，《The Journal of Pediatrics》编委。

【据《Respiratory Research》2021年4月报道】题：RNA m⁶A 甲基化在出生后低氧所致肺动脉高压中的作用（中国浙江大学医学院附属儿童医院 作者徐珊珊，杜立中等）

肺动脉高压是一个复杂的由多种分子和信号通路调控的肺血管疾病，常会引起右心室衰竭甚至会导致死亡。DOHaD 学说提出生命早期的不良环境因素与成年期的多种慢性疾病间存在紧密联系。已有证据表明，生命早期暴露于缺氧环境会影响肺血管的功能并导致肺动脉高压。而环境因素常通过表观遗传修饰在疾病的发生发展中发挥重要作用。RNA 甲基化修饰作为表观遗传修饰的一分子近年来受到多方关注，其参与了多种生理过程和疾病的发生发展，但是目前 m⁶A 修饰在肺发育和肺部疾病中的作用鲜有报道。本文在大鼠中研究了 m⁶A 修饰在肺发育和肺动脉高压中的作用。

一、出生后低氧可影响大鼠肺发育导致肺动脉高压

出生后低氧组大鼠的肺湿重/体重、右心肥厚指数和右心室压均显著高于健康对照组，提示出生后低氧可引起肺水肿和心脏重塑，并导致肺动脉高压。此外，出生后低氧组也出现肺泡发育延迟和肺动脉内膜增厚。蛋白水平上，肺组织中 eNOS 和 VEGF 均在出生后低氧组的肺组织中高表达。

二、出生后低氧可下调 m⁶A 相关蛋白的表达水平

研究发现出生后低氧会引起 m⁶A 甲基转移酶 METTL3 和 METTL14 表达量减少，同时 m⁶A 去甲基转移酶 FTO 和 ALKBH5 表达量也降低，但 WTAP 表达量及肺组织中总 RNA 的 m⁶A 含量在低氧后无明显差异。

三、出生后低氧可改变大鼠肺组织中 m⁶A 甲基化

利用 MeRIP 测序技术来评估出生后缺氧对肺组织 m⁶A 甲基化的影响。测序结果显示在正常 2 周大鼠肺组织中一共检测出了 9 488 个 m⁶A 修饰峰，而在出生后低氧组大鼠肺组织中检测出了 9 842 个 m⁶A 修饰峰，同时出生后低

氧组出现 21 个高甲基化峰及 5 个低甲基化峰。GO 分析显示这些差异峰相关基因在器官形态发生和发育等许多生物过程中发挥作用，比如 Nog、Vangl2 和 Gli3 参与了肺发育、呼吸管发育和呼吸系统发育。本研究利用 qPCR 进一步证实出生后低氧可导致 Nog、Vangl2 和 Gli3 的 mRNA 水平降低，此外差异峰相关基因 *Rras2*、*Till12* 和 *Trps1* 的 mRNA 水平变化与各自 m⁶A 修饰水平变化相一致。结果表明 m⁶A 甲基化参与调控出生后低氧所致肺血管相关基因表达改变。

四、出生后低氧对大鼠肺血管的远期影响

实验结果显示出生后低氧组大鼠成年后的肺湿重/体重、右心肥厚指数和平均肺动脉压均显著高于对照组，而两组肺动脉内膜厚度无差异，提示出生后低氧所致肺动脉高压可以持续至成年，且肺血管平滑肌细胞的增殖可能不是肺动脉压长期升高的主要原因。出生后低氧组肺组织中 eNOS 表达量无明显差异，但 VEGF 和 p-eNOS 及 PVEC 中 eNOS 的表达量均低于对照组，提示肺血管功能障碍在出生后低氧大鼠成年后仍持续存在。

五、出生后低氧对大鼠肺组织 m⁶A 甲基化的远期影响

结果显示出生后低氧组大鼠成年后仅 METTL3 的表达水平仍低于对照组。MeRIP 测序结果显示出生后低氧组大鼠成年后与对照组相比，肺组织中只有 7 个高甲基化峰和 13 个低甲基化峰，但 GO 分析结果显示 Tc1 参与了 Notch 信号通路的调节和内皮细胞的激活。同样在 mRNA 水平上，数据显示出生后低氧组大鼠成年后 Tc1 和 Trps1 的 mRNA 表达量均较对照组升高。

六、总结

此研究验证了出生后低氧引起的肺动脉高压可持续至成年期，并首次证实了 RNA 甲基化修饰作为表观遗传修饰（m⁶A 修饰）在肺发育和肺动脉高压中的作用。研究表明伴随着 METTL3 表达量的持续降低，肺动脉高压相关基因的 RNA m⁶A 水平发生改变；RNA m⁶A 参与调节出生后低氧所致肺动脉高压，这为研究胎儿或新生儿期起源的肺血管疾病的分子机制提供了新的视角，并且为未来治疗的研究发展提供了新的方向。

（徐珊珊 编译）



徐珊珊 住院医师

肠道菌群及其代谢产物丁酸通过调控 Treg 细胞影响新生儿坏死性小肠结肠炎发展

专家简介



余加林 教授

南方科技大学医院儿科医学部教授，主任医师，博士生导师。擅长于新生儿感染的临床诊疗和研究。曾任中华医学会围产分会副主任委员，中华医学会儿科分会新生儿学组副组长，重庆医学会围产专委会主任委员，中国医师协会新生儿感染专委会副主委。获重庆市科技奖二等奖、全国卫生系统先进工作者、中国新生儿医师奖等。先后主持国家自然科学基金面上项目、国际（地区）合作与交流项目8项。在国内外期刊发表学术论文251篇（其中SCI 62篇）。已培养研究生169人次。

【据《Journal of Translational Medicine》2021年12月报道】题：肠道菌群及其代谢产物丁酸通过调控 Treg 细胞影响新生儿坏死性小肠结肠炎发展（中国重庆医科大学附属儿童医院，南方科技大学医院等 作者贺雨，余加林等）

新生儿坏死性小肠结肠炎（neonatal necrotizing enterocolitis, NEC）是新生儿最常见、最严重的急腹症，多发于早产儿。NEC已成为新生儿期进行急诊手术的首要疾病，同时也是极早产儿产后15~60天的首要死因，其死亡率可高达20%~40%，存活者常常在后期发生短肠综合征等后遗症。NEC是个多因素疾病，肠道菌群的定植及微生态改变与 NEC 的发生关系密切，相关问题已成为研究热点。然而，肠道菌群与 NEC 发生是否具有因果关联，细菌的代谢产物又是如何变化，其变化又是如何引起 NEC 的发生，具体机制如何都是亟待解决的问题。

一、NEC 患儿肠道菌群及其代谢产物变化

研究共纳入81例 NEC 患儿及81例匹配对照患儿，其中包含19例手术 NEC 患者及19例手术对照患儿。通过高通量测序技术分析患儿粪便和（或）肠道灌洗液菌群组成，结果显示 NEC 患儿菌群多样性明显下降。在门水平上，NEC 患儿变形菌门明显增加，厚壁菌门及拟杆菌门明显减少。在属水平上，两组间差异最大的菌属为肠球菌属，克雷伯杆菌属，大肠杆菌志贺菌属以及肠杆菌属。进一步采用气相色谱法分析肠道菌群代谢产物组成差异，发现 NEC 组中患儿粪便肠道菌群代谢产物丁酸含量显著低于对照组，其结果与 KEGG 功能及代谢通路预测结果基本一致。

二、NEC 患儿肠道局部炎症反应水平分析

通过流式分析技术进一步分析19例手术患儿肠道固有层炎症反应情况，结果显示两组间 CD3⁺T 细胞/淋巴细胞以及 CD4⁺T/CD3⁺T 细胞比例没有明显差距，NEC 患儿 Treg/CD4⁺T 细胞比例下降明显（3.86% vs 8.95%，P=0.01）。本研究对切除肠段组织炎症因子 RNA 表达进行对比分析发现，两组之间 IL-6 表达未见统计

学差异，但是 NEC 组 IL-1 β 、IL-8、TNF- α 等炎症因子表达明显升高；此外，与 Treg 功能密切相关的炎症因子 IL-10、TGF- β 在 NEC 中表达明显降低。

三、粪菌移植建立 NEC 小鼠模型

研究分别随机选取5份 NEC 患儿粪便及5份对照组患儿粪便分别进行混合后移植给无菌小鼠，观察 NEC 模型建立情况。NEC 粪便菌群移植小鼠较对照组菌群移植小鼠肠道损伤更为严重，NEC 病理评分更高。分析移植菌群后 NEC 模型小鼠与对照组菌群构成发现，其菌群变化与人体类似，NEC 小鼠肠道菌群变形菌门增加，厚壁菌门及拟杆菌门减少，其差异最大的10种 OTU 与人体标本相似。两组菌群差异明显，且 NEC 模型小鼠肠道菌群中丁酸含量下降。此外，NEC 小鼠肠道固有层 Treg 细胞较对照组下降。

四、丁酸干预 NEC 模型小鼠研究

在前述粪菌移植 NEC 模型小鼠基础上，进一步采用丁酸进行干预，观察丁酸是否可减轻 NEC 肠道炎症情况，并探讨其机制。结果显示，丁酸可减轻 NEC 模型小鼠病理损伤，丁酸不会改变小鼠肠道菌群组成结构，但可上调 Treg 细胞表达，提示丁酸可能通过诱导 Treg 细胞表达缓解肠道炎症。

五、总结

本研究通过粪菌移植技术首次提出肠道菌群变化在 NEC 中所起的具体作用及病理生理机制；通过代谢产物丁酸对 Treg 调控作用将肠道菌群改变与机体免疫反应相结合，阐明肠道菌群改变在致病过程中的作用。

（贺雨 编译）



贺雨 副主任医师

外源性自诱导分子 -2 调节新生小鼠坏死性小肠结肠炎模型的肠道菌群失调和肠道炎症



季艳春 硕士研究生在读

【据《Frontiers in Cellular and Infection Microbiology》2021年8月报道】题：外源性自诱导分子-2调节新生小鼠坏死性小肠结肠炎模型的肠道菌群失调和肠道炎症（中国重庆医科大学附属儿童医院 作者季艳春，李禄全等）

新生儿坏死性小肠结肠炎（neonatal necrotizing enterocolitis, NEC）是一种严重肠道疾病。在极低出生体重儿中 NEC 发生率为5%~12%，病死率在20%~30%之间。目前 NEC 病因不完全清楚，可能与肠道中异常的微生物定植和过度免疫反应有关。研究发现肠道微生物群不是孤立存在的，而是相互之间有“交流”，这一“交流”系统称为群体感应系统（quorum sensing, QS）。QS 中的细菌通过分泌产生自诱导因子（autoinducer, AI）感知周围细菌浓度变化，来调节细菌相应生理功能。前期研究发现 AI-2 在急性期 NEC 患儿显著降低，而恢复期 AI-2 水平逐步升高。因此本研究建立 NEC 动物模型，用外源性 AI-2 干预，以阐明外源性 AI-2 对肠道菌群组成和 NEC 发生发展的影响。

一、NEC 与肠道菌群失调的关系

肠道菌群在 NEC 的发病机制中占据重要地位，多种细菌被报道与 NEC 发病有关。本研究发现 NEC 中存在肠道菌群失调。与对照组和 NEC+AI-2（NA）组相比：在门水平上，NEC 组变形菌门相对丰度增加，而拟杆菌门相对丰度降低；在属水平上，NEC 组狭窄梭菌属 1 丰度显著增加，乳酸菌属丰度水平表现出显著降低。

肠道菌群失调可能会破坏机体的免疫平衡并摧毁肠道屏障功能，造成肠道组织产生过度炎症，导致肠壁局部或弥漫性坏死。

二、补充外源性 AI-2 部分逆转了肠道菌群失调变化

研究发现 NEC 组小鼠粪便 AI-2 水平显著低于对照组和 NA 组，并且伴随着粪便 AI-2 浓度下降观测到肠道微生物群失调现象；外源性 AI-2 补充增加 NEC 新生鼠体内 AI-2 浓度，同时减轻肠道内炎症反应。补充外源性 AI-2 后，部分肠道菌群失衡得到缓解。因此，我们推测导致肠道微生物群失调的多种因素综合作用显著降低 AI-2 浓度，从而导致 QS 系统异常调节，以维持肠道微生物群稳定，最终导致 NEC 发生。此外，补充 AI-2 可以增加其在肠道中的水平，这有助于 QS 系统调节肠道内环境稳定，恢复肠道微生物群正常结构。

三、AI-2 可能通过调控 TLR4/NF- κ B 信号通路影响炎症反应

本研究发现补充外源性 AI-2 促进抗炎因子 IL-10 表达并降低促炎因子表达。同时，在添加外源性 AI-2 后，观察到 TLR4 和 NF- κ B 低表达。目前尚未发现类似报道。我们推测这种肠道保护作用一方面可能是 AI-2 是通过纠正肠道菌群紊乱，间接减轻肠道上皮炎症，从而实现保护作用；另一方面 AI-2 可能直接作用于肠道上皮，减轻肠道上皮炎症反应从而直接发挥保护作用。同时菌群和肠道免疫存在复杂的交互作用：一方面是肠道菌群与 TLR4 的直接识别作用；另一方面可能是在菌群“公共语言”AI-2 调控下 QS 信号分子与免疫系统直接的交互作用。AI-2 可能通过调控 QS 系统作用于 TLR4/NF- κ B 通路抑制宿主肠道过度免疫反应。故外源性 AI-2 是否通过抑制 TLR4/NF- κ B 通路或者其他通路来减轻新生鼠 NEC 模型中肠道炎症是很值得深入探索的。

（季艳春 编译）

专家简介



李禄全 教授

主任医师，硕士研究生导师，现任重庆医科大学附属儿童医院新生儿科副主任。重庆市妇幼保健学会儿童健康专业委员会生命支持学组副组长，重庆市新生儿围产医学专委会副主任委员，重庆市围产医学专委会第六届委员会新生儿窒息复苏学组组长。主持重庆市科委、卫生健康委员会、人力资源和社会保障局等课题7项。获得重庆市政府三等奖、重庆市卫生局二等奖各1次。已培养毕业研究生20余人。

抗生素诱导的肠道菌群失调对支气管肺发育不良的影响及相关机制研究

专家简介



史源 教授

医学博士，国家临床重点专科学术带头人，现任重庆医科大学附属儿童医院新生儿诊疗中心主任，教授，博士研究生导师，美国佛罗里达大学访问学者，重庆英才创新领军人才，中华医学会儿科学分会新生儿学组副组长，中国医师协会新生儿科医师分会副会长。担任SCI期刊 *Frontiers in Pediatrics*、*BMC Pediatrics*、*BMC Neurology*、*Trials*、*Current Neuropharmacology* 编辑，以第一或通讯作者在 *JAMA Pediatrics*、*Lancet Infectious Disease*、*Lancet Child & Adolescent Health*、*Advanced Science*、*Chest*、*Pediatrics* 等发表论著、述评60余篇。

【据《Journal of Translational Medicine》2021年4月报道】题：

抗生素诱导的肠道菌群失调对支气管肺发育不良的影响及相关机制研究（中国重庆医科大学附属儿童医院 作者冉晓，史源等）

支气管肺发育不良 (bronchopulmonary dysplasia, BPD) 是常发生于早产儿的长期应用高浓度氧气和辅助机械通气后的一种慢性呼吸系统疾病。BPD常导致极低出生体重儿的并发症甚至死亡。目前BPD的发病机制不明确，早产儿不成熟的免疫系统伴随早产因素造成的免疫调节，可能是肺部炎症异常调节的原因。BPD患儿在新生儿重症监护室常需接受抗生素治疗，抗生素使用会改变肠道菌群，然而，由于早产儿的免疫系统仍在成熟，单纯的细菌定植可能足以驱动炎症反应，破坏肺部发育并促进BPD的病程。本研究从肠道微生物群入手，通过抗生素诱导肠道菌群失调，然后观察其对支气管发育不良发病的影响，并探讨免疫反应在其中的作用机制。

一、抗生素诱导肠道菌群失调及支气管肺发育不良动物模型建立

将小鼠随机分组，新生小

鼠接受7天抗生素治疗以诱导小鼠肠道菌群失调，对照组采用生理盐水处理。抗生素处理的新生小鼠连续暴露于高氧14天（O₂浓度85%）以建立支气管肺发育不良的动物模型，对照组置于空气环境中（O₂浓度21%）。根据以上过程，实验分为4组，包括：生理盐水+空气组即Saline/Air组、抗生素+空气组即ABX/Air组，生理盐水+高氧组即Saline/O₂组、抗生素+高氧组即ABX/O₂组。

抗生素治疗7天后，在门水平，变形菌门比例升高，厚壁菌门和拟杆菌门比例降低。在属水平，柠檬酸杆菌的比例升高，而拟杆菌属的比例降低。抗生素处理成功地导致肠道菌群失调。

二、抗生素处理对BPD小鼠死亡率和肺泡数的影响

我们接下来研究了抗生素处理对BPD发病的影响。高氧小鼠（Saline/O₂组）有嗜睡，食物和水的摄入减少，活动能力降低，但经抗生素处理的BPD小鼠（ABX/O₂组）表现更为严重，生存率组显著低于Saline/O₂组，表明抗生素治疗降低了BPD小鼠的存活率。用生理盐水和抗生素

处理的小鼠的肺泡结构完整；通高氧小鼠的肺泡数量减少，间质充血，水肿和炎性细胞浸润；与Saline/O₂组相比，ABX/O₂组小鼠肺泡壁增厚，肺泡数量进一步减少，肺组织紊乱，辐射状肺泡计数显著降低，另外，ABX/O₂组小鼠的肺平均内衬间隔值显著高于Saline/O₂组，提示抗生素处理加重了高氧暴露引起的肺部损伤导致的肺泡数减少。

三、抗生素处理对BPD小鼠肺巨噬细胞M1/M2极化的影响

巨噬细胞具有高度专业化，但其耐受性的下降会导致疾病发生。抗生素的使用会导致巨噬细胞对细菌刺激反应过度，从而产生过量的炎症细胞因子。既往研究表明巨噬细胞M1/M2极化可能在BPD的发展中起重要作用。Western blot显示，Saline/O₂组小鼠肺iNOS的水平升高，抗生素处理后，iNOS水平进一步升高。免疫荧光发现ABX/O₂组小鼠肺巨噬细胞iNOS的染色进一步增加。提示抗生素处理后促进M1巨噬细胞极化。Saline/O₂组小鼠肺Arg-1水平降低，抗生素处



冉晓 住院医师

理后，Arg-1水平进一步降低，提示抗生素处理后抑制M2巨噬细胞极化。

四、总结

我们对新生小鼠进行了抗生素治疗以诱导肠道菌群失调，结果表明抗生素的使用可显著改变新生小鼠肠道菌群的组成。抗生素诱导的肠道菌群失调会增加小鼠BPD的易感性。抗生素处理促进巨噬细胞向促炎性M1表型的转化，并抑制巨噬细胞向抗炎性M2表型的转化，通过调节巨噬细胞的M1/M2极化状态，促进炎症反应并抑制抗炎作用。关于肠道微生物群和免疫细胞之间的作用的研究希望为支气管肺发育不良的治疗靶点提供理论依据。

（冉晓 编译）

大脑转录调控网络分析揭示早期人脑发育的隐藏驱动因子 SYTL3

专家简介



熊曼 教授

复旦大学附属儿科医院教授。长期从事干细胞治疗脑损伤策略及机制研究。获省部级地方人才项目2项、国家自然科学基金3项、获地方人才“科技启明星”“医学优秀青年人才培养计划”等称号。在 *Cell Stem Cell* 等高水平期刊发表多篇干细胞相关高影响力论文。

【据《Cell Reports》2021年3月报道】题：大脑转录调

控网络分析揭示早期人脑发育的隐藏驱动因子 SYTL3（中国复旦大学附属儿科医院 作者董欣然，熊曼，周文浩等）

人类大脑的发育是一个复杂的过程，包括神经细胞的增殖、分化、迁移、成熟及神经网络的建立等。在大脑发育的不同阶段受到各种不同关键基因的调控，这些关键基因功能的异常会导致多种神经系统疾病如巨脑回畸形、小头畸形、自闭症等。然而，许多重要转录因子、信号蛋白（例如：蛋白激酶）可能不会出现DNA变异或mRNA或蛋白质表达水平差异，但它们可能通过蛋白质合成及降解、翻译后修饰、复合体形成或亚细胞定位等过程对其下游调控的靶标基因的表达产生影响（即该基因的活性），很难被传统方法所识别（这类基因被称为隐藏驱动因子）。

一、通过生物信息学算法挖掘得到早期人脑发育的隐藏驱动因子 SYTL3

董欣然博士与美国Jiyang Yu实验室合作开发了NetBID算法 (<https://github.com/jyyulab/NetBID/>)。该算法通过构建大脑组织特异性转录调控网络，可计算推断调控基因在不同大脑发育时期的调控活性。利用该算法，作者分析了Brainspan数据库中发育不同阶段人脑RNAseq数据，成功找到了调控早期人脑发育的隐藏驱动因子 SYTL3（该基因表达变化较小，但基因活性最高），发现 SYTL3 基因在人脑发育早期有最显著的活性峰值。

二、通过神经生物学实验验证隐藏驱动因子在神经发育中的功能

为了验证这一现象，研究者在体外将人胚胎干细胞定向分化至不同发育阶段的神经细

胞（神经前体细胞、终末神经元）进行RNAseq测序，发现 SYTL3 在神经元阶段表达水平最低，但其基因的活性却在这一阶段显著上升；敲除 SYTL3 基因显著影响了神经元的基因表达网络，而对其他发育阶段（胚胎干细胞、神经前体细胞）基因的表达影响较小。该结果进一步证明在神经发育过程中 SYTL3 作为隐藏驱动因子对基因的调控作用。功能试验结果发现，SYTL3 基因敲除不仅影响该胚胎干细胞系分化的类脑器官皮质神经前体细胞的分布及分化终末神经元神经递质的释放，还可通过上调基质金属蛋白酶（MMP）的表达调节细胞外基质的重塑从而促进神经元的迁移。

三、总结

通过NetBID系列生物信息学算法可寻找DNA/RNA表达未出现异常，但对于大脑发



董欣然 助理研究员

育或疾病发生有重要作用的隐藏驱动因子。此外，人胚胎干细胞系的神经元/类人脑器官定向分化可很好地模拟大脑发育过程，该方法结合基因编辑可对基因在发育或疾病发病机制中的重要作用进行深入研究。通过开发生物信息学算法结合人胚胎干细胞/患者来源可诱导多能干细胞的实验验证，为寻找疾病的发病机制及潜在治疗靶点提供了新的思路和方法。

（董欣然 编译）