

· 实验研究 ·

干眼患者与非干眼患者眼表微生物菌群差异分析

宋瑜 齐赞 张明 康前雁 黎黎

西安交通大学第一附属医院眼科, 西安 710061

通信作者: 康前雁, Email: kangqy@mail.xjtu.edu.cn; 黎黎, Email: eyelili@126.com

【摘要】 目的 研究干眼患者与非干眼患者眼表微生物菌群的差异。 **方法** 纳入 2020 年 6—11 月于西安交通大学第一附属医院确诊的干眼患者 42 例 42 眼作为干眼组, 纳入同期在眼科门诊查体的非干眼患者 37 例 37 眼作为非干眼组, 采集结膜囊拭子并测序。纳入符合标准单眼, 若双眼符合纳入标准, 则右眼入组。采用 Miseq PE301+8+301 平台进行细菌 16S rRNA 基因 V3-V4 区双端测序, 对微生物菌群进行可操作分类种属 (OTUs) 聚类, 分析和比较 2 个组间微生物菌群 Alpha 和 Beta 多样性, 并进行物种注释分析以及微生物标志物分析。 **结果** 共获得 18 586 个 OTUs, 干眼组与非干眼组共有 OTUs 为 3 674 个。Alpha 多样性分析结果显示, 2 个组间 observed species 指数、Chao 指数、Ace 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数比较差异均无统计学意义 (均 $P>0.05$), 表明 2 个组间菌群丰富度无明显差异。而主成分 (PCoA) 分析显示 2 个组间菌群构成差异有统计学意义 ($R^2=0.039$, $F=3.100$, $P=0.022$)。2 个组眼表优势菌群构成相似, 在门水平以变形菌、放线菌、厚壁菌、拟杆菌、蓝藻菌等为主, 在属水平以嗜糖假单胞菌、棒状杆菌、丙酸杆菌、假单胞菌、草螺菌等为主。LESe 分析显示干眼组优势菌属的标志菌为泰氏菌属、栖水菌属、芬戈尔德菌, 非干眼组为柄杆菌属、弯钩菌属。 **结论** 干眼组和非干眼组眼表微生物菌群构成存在差异。

【关键词】 干眼; 眼表微生物菌群; 16S rRNA 基因扩增测序**基金项目:** 陕西省重点产业链项目 (2020ZDLSF02-06); 陕西省科技攻关项目 (2017SF-028)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20211228-00718

Comparison of ocular microbiomes between patients with and without dry eye

Song Yu, Qi Yun, Zhang Ming, Kang Qianyan, Li Li

Department of Ophthalmology, The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China

Corresponding authors: Kang Qianyan, Email: kangqy@mail.xjtu.edu.cn; Li Li, Email: eyelili@126.com

[Abstract] Objective To explore the difference in ocular surface microbiota between patients with and without dry eye. **Methods** Forty-two patients (42 eyes) diagnosed with dry eye were enrolled as dry eye group in the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University from June to November 2020, and 37 controls without dry eye (37 eyes) were enrolled as control group in the same period. One eye was selected as the study eye, and the right eye was included when both eyes met the inclusion criteria. Swab samples from the conjunctival sac were obtained and sequenced. Sequencing of the V3-V4 region of the bacterial 16S rRNA gene was performed with Miseq PE301+8+301 platform. Operational taxonomic species (OTUs) clustering of microflora, comparison of alpha and beta diversity analysis of microflora between the two groups, annotation analysis of species and analysis of microbial markers were performed. The study protocol was approved by the Ethics Committee of The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University (No. XJTU1AFCRC2018SJ-014). Written informed consent was obtained from each subject before any medical examination. **Results** A total of 18 586 OTUs were obtained, and 3 674 OTUs were shared between the two groups. Alpha diversity analysis showed that there was no significant difference in observed species index, Chao index, Ace index, Shannon index and Simpson index between the two groups (all at $P>0.05$), suggesting there was no difference in microbiota richness between them. The PCoA analysis showed that the microbial compositions of the two groups were significantly different ($R^2=0.039$, $F=3.100$, $P=0.022$). The dominant flora of the two groups was similar, with *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* and *Cyanobacteria* as the top 5 abundant bacterial phyla, with *Pelomonas*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas* and *Herbaspirillum* as the top 5 bacterial

genera. LEfSe analysis identified *Tissierellaceae*, *Enhydrobater* and *Finegoldia* as dominant bacterial genera in dry eye group, and *Caulobacter* and *Curvibacter* in control group. **Conclusions** The composition of ocular surface microbiomes is different between dry eye patients and controls.

[Key words] Dry eye; Ocular microbiomes; 16S rRNA gene amplicon sequencing

Fund program: Key Industrial Chain Project of Shaanxi Province (2020ZDLSF02-06); Shaanxi Science and Technology Research Project (2017SF-028)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20211228-00718

干眼是影响视觉和生活质量的常见眼表疾病, DEWS II 报道指出干眼的患病率为 5%~50%^[1]。2020 年中国干眼专家共识提出,干眼为多因素引起的慢性眼表疾病,并明确提出眼表微环境失衡是造成干眼的原因之一^[2]。研究眼表微环境的改变对于探索干眼的发病机制以及治疗具有重要意义^[3-5]。2011 年, Dong 等^[6]首次使用 16S rRNA 高通量测序技术确定健康人群眼表微生物菌群,发现假单胞菌属、丙酸菌属、棒状杆菌、葡萄球菌、水杆菌、链球菌等在人结膜囊普遍存在,并且核心菌群由共生菌、环境致病菌和机会致病菌共同组成。通过高通量测序技术(宏基因组或 16S rRNA)对正常人群和眼表疾病患者眼表微生物菌群进行对比研究发现,眼表微生物菌群对于维持眼表及视功能的健康起着重要作用,并参与部分眼部疾病的发生和发展,如真菌性角膜炎、结膜炎、睑缘炎、眼内炎、视网膜炎^[7-13]。眼表微生物菌群是眼表微环境的重要组成部分,可能在干眼的发病中发挥重要作用,但是目前该领域研究很少。本研究拟探讨干眼与非干眼患者结膜拭子微生物菌群差异,为深入了解眼表菌群在干眼发病和治疗中的作用及机制提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本来源 纳入 2020 年 6—11 月于西安交通大学第一附属医院确诊的干眼患者 42 例 42 眼作为干眼组,其中男 16 例 16 眼,女 26 例 26 眼,平均年龄(47.5±15.3)岁,屈光不正患者占 7.1%;同期纳入在眼科门诊查体的非干眼患者 37 例 37 眼作为非干眼组,其中男 14 例 14 眼,女 23 例 23 眼,平均年龄(41.4±15.5)岁,屈光不正患者占 8.1%。双眼均符合纳入标准时,右眼入组。干眼组与非干眼组患者年龄、性别构成以及屈光不正患者比例差异均无统计学意义($t=-1.615$, $P=0.111$; $\chi^2=3.457$, $P=0.063$; $\chi^2=0.026$, $P=0.872$)。干眼的诊断依据 2020 年中国干眼专家共识^[14]。所有患者均由同一位有经验的眼表专家进行检查和评估。干眼组纳入标准:(1)年龄≥18

岁;(2)具有眼部烧灼感、异物感、畏光、眼干、眼痒等不适症状,眼表疾病指数评分(Ocular Surface Disease Index, OSDI)≥13 分;(3)泪液分泌试验 Schirmer 试验 I (无麻醉)≤5 mm,或荧光素染色泪膜破裂时间(fluorescein tear film breakup time, FBUT)≤5 s,或非侵入泪膜破裂时间(non-invasive tear film breakup time, NIBUT)<10 s;若 5 mm/5 min<Schirmer 试验 I (无麻醉)≤10 mm/5 min, 5 s<FBUT≤10 s 或 NIBUT 为 10~12 s,需同时符合角膜荧光素染色阳性(≥5 个点)。非干眼组纳入标准:(1)年龄≥18 岁;(2)无任何眼表疾病(如眼睑病变、结膜病变、角膜病变), OSDI<13, Schirmer 试验 I (无麻醉)>10 mm/5 min 或 FBUT>10 s 或 NIBUT≥13 s。排除标准:(1)近 4 周内眼局部应用抗生素者;(2)有配戴角膜接触镜史者;(2)近 4 周内眼表及眼周炎症病史者;(3)近 3 个月内有眼科手术史者;(4)妊娠或有自身免疫性疾病者。本研究方案经西安交通大学第一附属医院医学伦理委员会审核批准(批文号: XJTU1AFCRC2018SJ-014),所有受检者均了解本研究目的和方法并自愿签署知情同意书。

1.1.2 主要试剂及仪器 盐酸奥布卡因滴眼液(日本参天制药株式会社); QIA Stool Mini Kit (德国 QIAGEN 公司); 异丙醇、醋酸钠(美国 Sigma-Aldrich 公司)。超微量分光光度计(美国 Multiskan SkyHigh 公司); PCR 仪(美国赛默飞公司)。

1.2 方法

1.2.1 样品采集与保存 严格按照无菌方式取材。采样前用盐酸奥布卡因滴眼液点受检眼进行表面麻醉,点眼后 3 min 嘱受检者向上注视,向下拉开下眼睑,用无菌干棉签拭子,轻微按压擦拭下方的球结膜表面 3 次,擦拭时避免棉签拭子接触眼睑和睫毛。将结膜拭子置于 1.5 ml 无菌管中,迅速转至-80℃冰箱冻存备用。

1.2.2 DNA 提取、扩增和 16S rRNA 基因扩增测序 按照华大基因公司的标准实验流程进行(参照文献[15-16]中方法),根据 QIA Stool Mini Kit 试剂盒说明

书将棉签拭子前端转移至 EP 管中,研磨 5 min, 65 ℃ 裂解 13 min, 室温下离心力 14 000×*g* 离心 10 min。取上清液至离心管中,加入 -20 ℃ 预冷的异丙醇和 100 g/L 醋酸钠 3 ml 混匀,于 -20 ℃ 冰箱中过夜;离心力 14 000×*g* 离心 3 次,晾干后溶于适量缓冲液。采用 10 g/L 琼脂糖凝胶检测样本中 DNA 提取的质量。取 30 ng DNA 样品,用 341F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R(5'-GGACTACHVGGGT WTCTAAT-3') 通用区引物对 16S rRNA 基因 V3-V4 可变区进行 PCR 扩增;采用 Agencount AMPure XP 磁珠进行纯化并溶于洗脱缓冲液,完成建库。采用 Agilent 2100 Bioanalyzer 软件检测文库的片段范围及浓度,采用 Illumina 的 MiseqPE301+8+8+301 平台对检测合格的文库进行双端测序。

1.2.3 测序数据的生物信息学分析 设定 Cut off 值,过滤采集数据,清除低质量数据,将过滤后数据用于后期分析。采用 FLASH 软件对测序数据进行拼接、过滤及嵌合体去除,采用 USE-ARCH(v7.0.1090) 软件进行种属分类,进行可操作分类种属 (operational taxonomic species, OTUs) 聚类分析,相似性 >97% 的标签聚集成 1 个 OTUs。根据 OTUs 聚类分析结果以及物种注释结果进行各组间物种差异分析和样品物种复杂度分析。采用 R(v3.2.1) 软件的 mixOmics 包对样本进行 Alpha 多样性分析,包括 observed species 指数、Chao 指数、Ace 指数、Shannon 指数、Simpson 指数等,以评估单个样本的物种丰富度;基于 bray-curtis 矩阵分析 Beta 多样性,在门水平上评估菌群构成的差异性。采用 GreenGene 数据库对测序数据进行注释。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 18.0 统计学软件与 R 语言软件进行统计分析。计量资料采用 Shapiro-Wilk 方法进行正态性检验,满足正态分布的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 个组各指标比较采用独立样本 *t* 检验;不满足正态分布的数据以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示,2 个组各指标比较采用 Wilcoxon 秩和

检验。计数资料以频数和百分数表达,组间差异比较采用 χ^2 检验;采用 R(v3.2.1) 软件的 mixOmics 包进行偏最小二乘判别分析,进行 Alpha 多样性、Beta 多样性(基于 bray-curtis 矩阵)主成分 (PCoA) 分析,并进行置换多元方差分析检验;采用 LEfSe 软件对 LDA 分析的 *P* 值设定,以 3.0 作为判断显著差异菌落的阈值。找出各组间差异的微生物种类,两样本间的差异分析及多样性比较采用 R 软件的 Wilcoxon 秩和检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组眼表微生物菌群 OTUs 比较

干眼组和非干眼组受检眼中共获得 18 586 个 OTUs,其中干眼组 13 310 个 OTUs,非干眼组 8 950 个 OTUs,2 个组共有 OTUs 为 3 674 个(图 1)。

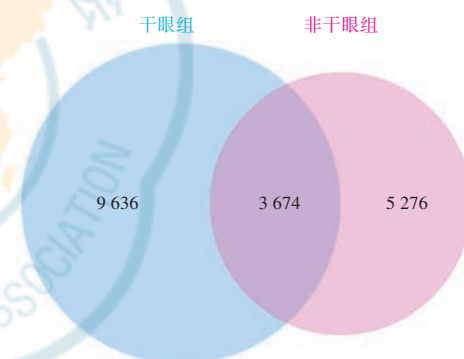


图 1 OTUs 聚类分析维恩图

Figure 1 Venn diagram showing the number of bacterial OTUs shared between the two groups

2.2 各组眼表微生物菌群多样性分析

2.2.1 2 个组间 Alpha 多样性比较 干眼组与非干眼组间 observed species 指数、Chao 指数、Ace 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数比较,差异均无统计学意义(均 *P* > 0.05)(表 1)。

表 1 2 个组间 Alpha 多样性相关指标比较
Table 1 Comparison of alpha diversity indices between two groups

组别	样本量	observed species 指数* [$M(Q_1, Q_3)$]	Chao 指数* [$M(Q_1, Q_3)$]	ace 指数* [$M(Q_1, Q_3)$]	shannon 指数# ($\bar{x} \pm s$)	simpson 指数* [$M(Q_1, Q_3)$]
非干眼组	37	439.5(277.0, 598.2)	439.5(277.0, 598.2)	439.5(277.0, 598.2)	5.418 ± 1.453	0.905(0.766, 0.955)
干眼组	42	473.0(345.5, 736.5)	473.0(345.5, 736.5)	473.0(345.5, 736.5)	5.537 ± 1.429	0.911(0.863, 0.951)
<i>t</i> / <i>Z</i> 值		943.000	943.000	943.000	0.589	791.000
<i>P</i> 值		0.097	0.097	0.097	0.558	0.871

注:(*:Wilcoxon 秩和检验;#:独立样本 *t* 检验)

Note:(*:Wilcoxon rank sum test;#:Independent samples *t*-test)



2.2.2 2 个组间 Beta 多样性比较 Beta 多样性 PCoA 分析显示,2 个组的距离矩阵置换多元方差分析,差异有统计学意义 ($R^2 = 0.039$, $F = 3.100$, $P = 0.022$) (图 2)。

2.3 各组眼表微生物菌群的分类

2 个组样本鉴定出细菌隶属 40 门 473 属。

2.3.1 2 个组菌门水平比较 干眼组与非干眼组检出的相对丰度较高的前 10 位细菌门种类相似,干眼组和非干眼组检出的变形菌、放线菌、厚壁菌、拟杆菌、热流杆状菌、酸杆菌、绿弯菌、梭杆菌、TM 菌门相对丰度比较差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$),干眼组蓝藻菌相对丰度低于非干眼组,差异有统计学意义 ($Z = 1\ 062.50$, $P = 0.020$) (表 2)。

2.3.2 2 个组菌属水平比较 干眼组和非干眼组检出的噬糖假单胞菌、棒状杆菌、丙酸杆菌、假单胞菌、草螺菌、葡萄球菌、不动杆菌、栖水菌、链球菌、普雷沃菌相对丰度比较差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。干

眼组丙酸杆菌属的相对丰度低于非干眼组,差异有统计学意义 ($Z = 1\ 027.50$, $P = 0.047$) (表 3)。

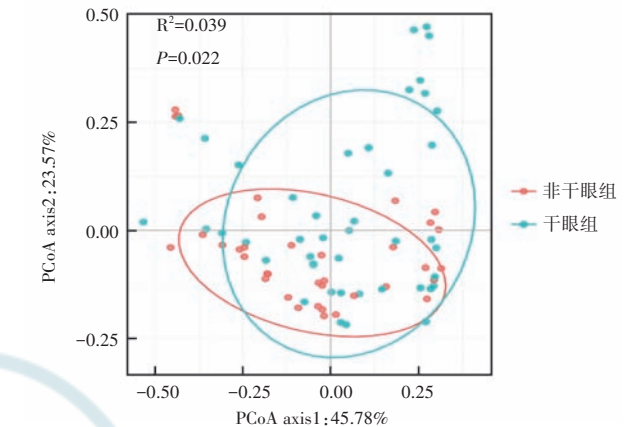


图 2 基于 Bray-Curtis 矩阵的 Beta 多样性 (PCoA 分析) 结果 圆圈代表 95% 置信区间,每个坐标轴百分数代表解释变量百分比
Figure 2 Beta diversity (PCoA analysis) results based on Bray-Curtis array The circles were 95% confidence intervals. The two percentages represented the percent of explanatory variable

表 2 2 个组间相对丰度前 10 位的细菌门比较 [$M(Q_1, Q_3)$, %]						
Table 2 Comparison of top 10 abundant bacterial phyla between two groups [$M(Q_1, Q_3)$, %]						
组别	样本量	变形菌门	放线菌门	厚壁菌门	拟杆菌门	蓝藻菌门
非干眼组	37	48.363 (34.444, 58.355)	18.044 (5.051, 27.415)	8.066 (3.985, 12.927)	2.900 (0.696, 6.432)	1.006 (0.105, 3.170)
干眼组	42	42.982 (31.132, 63.800)	5.993 (2.712, 27.109)	7.073 (1.694, 14.920)	2.299 (0.466, 5.528)	0.296 (0.033, 0.700)
Z 值		836.00	959.00	888.00	901.00	1 062.50
P 值		0.862	0.182	0.507	0.431	0.020
组别	样本量	热流杆状菌门	酸杆菌门	绿弯菌门	梭杆菌门	TM 菌门
非干眼组	37	0.172 (0.012, 0.411)	0.000 (0.000, 0.866)	0.007 (0.000, 0.421)	0.000 (0.000, 0.058)	0.113 (0.000, 0.335)
干眼组	42	0.069 (0.015, 0.181)	0.000 (0.000, 0.036)	0.000 (0.000, 0.035)	0.014 (0.000, 0.132)	0.037 (0.000, 0.131)
Z 值		963.50	962.00	974.00	719.00	982.00
P 值		0.165	0.107	0.104	0.320	0.113
注: (Wilcoxon 秩和检验)						
Note: (Wilcoxon rank sum test)						

表 3 2 个组间相对丰度前 10 位的细菌菌属比较 [$M(Q_1, Q_3)$, %]						
Table 3 Comparison of top 10 abundant bacterial genera between two groups [$M(Q_1, Q_3)$, %]						
组别	样本量	嗜糖假单胞菌	棒状杆菌	丙酸杆菌	假单胞菌	草螺菌
非干眼组	37	1.780 (0.272, 28.367)	3.671 (0.902, 13.652)	3.162 (1.139, 8.106)	0.830 (0.375, 3.913)	2.043 (0.000, 6.456)
干眼组	42	16.681 (0.658, 28.939)	1.671 (0.371, 12.496)	1.441 (0.510, 3.399)	0.520 (0.191, 2.742)	3.578 (0.000, 6.183)
Z 值		700.50	939.50	1027.50	926.00	733.50
P 值		0.272	0.248	0.047	0.306	0.424
组别	样本量	葡萄球菌	不动杆菌	栖水菌	链球菌	普雷沃菌
非干眼组	37	2.165 (0.457, 4.609)	1.507 (0.687, 3.493)	0.204 (0.050, 0.797)	0.294 (0.098, 1.048)	0.089 (0.033, 0.270)
干眼组	42	1.236 (0.448, 3.014)	1.245 (0.583, 3.640)	0.267 (0.080, 1.221)	0.261 (0.033, 2.075)	0.153 (0.030, 0.701)
Z 值		928.00	863.00	751.00	841.50	750.00
P 值		0.300	0.668	0.535	0.820	0.528
注: (Wilcoxon 秩和检验)						
Note: (Wilcoxon rank sum test)						

2.4 2 个组微生物标志物分析

LEfSe 分析显示,干眼组的优势菌群为泰氏菌属、栖水菌属和芬戈尔德菌属;非干眼组的优势菌群为柄杆菌属和弯钩菌属(图 3,表 4)。

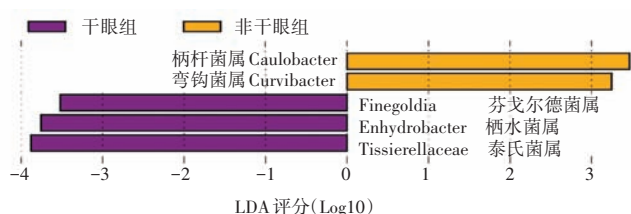


图 3 干眼组与非干眼组菌属水平优势菌群 LEfSe 分析 (LDA>3)

LDA:线性判别分析

Figure 3 Comparison of dominant bacterial genera between two groups by LEfSe analysis (LDA > 3) LDA: linear discriminant analysis

表 4 优势菌属 LEfSe 分析
Table 4 LEfSe analysis result of dominant bacterial genera

种属	组别	LDA 值	P 值
柄杆菌属 <i>Caulobacter</i>	非干眼组	3.470	0.003
弯钩菌属 <i>Curvibacter</i>	非干眼组	3.249	0.018
芬戈尔德菌属 <i>Finegoldia</i>	干眼组	3.519	0.004
栖水菌属 <i>Enhydrobacter</i>	干眼组	3.755	0.017
泰氏菌属 <i>Tissierellaceae</i>	干眼组	3.878	0.015

注:LDA:线性判别分析

Note:LDA:linear discriminant analysis

3 讨论

眼表微生物菌群参与眼表微环境的调节,因此探讨干眼患者眼表组织中细菌菌群的变化对于探索干眼的发病机制有潜在的临床意义。研究发现,干眼患者眼表微生物菌群较非干眼者发生一定程度的改变^[4],但是该领域研究有限,且因所用的测序方法学不同(宏基因组与 16S rRNA 技术)、取材环境不统一等,造成研究结果不一致。本研究对干眼及非干眼患者结膜囊拭子样本进行 16S rRNA 基因测序,对比 2 个组受检眼眼表细菌的 Alpha 多样性、Beta 多样性,探索干眼与非干眼患者的优势菌群区别,拟寻找可能对干眼诊断有提示作用的眼表菌群。

本研究结果显示,干眼组和非干眼组受检眼眼表菌群 Alpha 多样性相关指标无统计学差异,而 Beta 多样性 PCoA 分析结果存在不同,提示干眼眼表菌群的丰度无明显变化而菌群的构成发生了改变。Li 等^[3]

针对中国人群的研究发现干眼组与非干眼组眼表菌群在 Alpha 与 Beta 多样性上均具有显著性差异,可能与研究入组标准、受试人群差异有关。

本研究发现干眼组与非干眼组眼表微生物菌群中相对丰度排名前 3 位菌门分别是变形菌、放线菌和厚壁菌,三者为构成眼表菌群的核心菌门,与 Zhang 等^[17]研究发现变形菌、厚壁菌、放线菌是糖尿病干眼患者眼表菌群中丰度排名前 3 位菌群的结果基本相同。然而, Li 等^[3]研究显示,干眼及非干眼眼表菌门水平排名前 3 位微生物菌群分别是变形菌、厚壁菌和拟杆菌,与本研究结果存在部分差异,可能与研究所用的干眼诊断标准不同有关。

本研究发现,各组患者菌属水平排名前 10 位眼表微生物菌群分别为嗜糖假单胞菌、棒状杆菌、丙酸杆菌、假单胞菌、草螺菌、葡萄球菌、不动杆菌、栖水菌、链球菌、普雷沃菌,干眼患者眼表丙酸杆菌相对丰度较非干眼患者显著下降。但一项针对干燥综合征患者口腔微生物菌群的研究显示,丙酸杆菌在干燥综合征患者中的相对丰度显著升高,与本研究结果不一致,推测可能由于不同部位微生物菌群存在差异,同时也证明丙酸杆菌可能是关键的差异菌属^[18]。

干眼组的优势菌群为泰氏菌属、栖水菌属和芬戈尔德菌属,非干眼组的优势菌群为柄杆菌属和弯钩菌属。本研究中 LEfSe 分析干眼组优势菌群中栖水菌属相对丰度较高,与 Andersson 等^[19]采用 16S rRNA 测序技术发现德国水样缺乏型干眼患者眼表的优势菌属为栖水菌属的研究结果一致。同样, Lee 等^[10]研究发现,睑缘炎患者眼表微生物菌群中栖水菌属丰度较正常对照组显著升高。因此推测,栖水菌属在干眼中的作用可能与炎症相关,但其具体机制还需要进一步研究证实。

本研究基于我国最新干眼专家共识的标准^[14]纳入干眼患者,与既往以 DEWS 或者日本干眼诊断标准有所不同。本研究发现干眼与非干眼患者之间眼表微生物菌群构成存在差异,为眼表微生物标志物的探索研究提供数据支持,同时为进一步研究干眼发病机制提供了新的角度。但本研究也存在一定的局限性:(1) 16S rRNA 与宏基因组测序的原理与物种鉴定深度不同,16S rRNA 基因测序在细菌种水平分析和功能学分析上都不占优势^[20];(2) 本研究未考虑干眼的类型和严重程度,未来需要进一步扩大样本量,并针对干眼性质和严重程度进行分层研究;(3) 本研究未排除全身药物、免疫疾病程度和环境等混杂因素,可能导致结果受到一定影响;(4) 由于样本量较小,可能会存在一

定程度的选择偏倚;(5)本研究在纳入干眼组及非干眼组患者时,并未将屈光不正作为排除标准,仅 2 个组内屈光不正患者占比保持可比性。

综上所述,本研究结果表明干眼和非干眼受检者眼表微生物菌群构成具有一定差异,为干眼的发病机制研究提供了新的线索。未来需进一步研究特定菌属是否可作为生物标志物用于干眼诊断。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 宋瑜:参与研究实施、数据采集、分析、论文撰写;齐赞:参与患者招募、研究实施;张明:参与研究实施、数据采集及分析;康前雁:参与实验设计、患者诊断及招募、数据验证及论文修改;黎黎:参与实验设计、对文章智力性内容的审阅和修改及论文最终定稿

参考文献

- [1] Stapleton F, Alves M, Bunya VY, et al. TFOS DEWS II epidemiology report[J]. Ocul Surf, 2017, 15(3): 334-365. DOI: 10.1016/j.jtos.2017.05.003.
- [2] 亚洲干眼协会中国分会, 海峡两岸医药卫生交流协会眼科学专业委员会眼表与泪液病学组, 中国医师协会眼科医师分会眼表与干眼学组. 中国干眼专家共识: 定义和分类(2020 年)[J]. 中华眼科杂志, 2020, 56(6): 418-422. DOI: 10.3760/cma.j.cn112142-20200316-00190.
- [3] Li Z, Gong Y, Chen S, et al. Comparative portrayal of ocular surface microbe with and without dry eye[J]. J Microbiol, 2019, 57(11): 1025-1032. DOI: 10.1007/s12275-019-9127-2.
- [4] Liang Q, Li J, Zou Y, et al. Metagenomic analysis reveals the heterogeneity of conjunctival microbiota dysbiosis in dry eye disease[J/OL]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 731867 [2022-06-18]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34900990>. DOI: 10.3389/fcell.2021.731867.
- [5] Okonko A, Rimmer V, Walkden A, et al. Next-generation sequencing of the ocular surface microbiome: in health, contact lens wear, diabetes, trachoma, and dry eye[J]. Eye Contact Lens, 2020, 46(4): 254-261. DOI: 10.1097/ICL.0000000000000697.
- [6] Dong Q, Brulc JM, Iovieno A, et al. Diversity of bacteria at healthy human conjunctiva[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011, 52(8): 5408-5413. DOI: 10.1167/iovs.10-6939.
- [7] JAP G, Frizon L, Demeda VF. Ocular surface microbiome in health and disease[J]. Asia Pac J Ophthalmol (Phila), 2020, 9(6): 505-511. DOI: 10.1097/APO.0000000000000330.
- [8] Ge C, Wei C, Yang BX, et al. Conjunctival microbiome changes associated with fungal keratitis: metagenomic analysis[J]. Int J Ophthalmol, 2019, 12(2): 194-200. DOI: 10.18240/ijo.2019.02.02.
- [9] Mohamed YH, Uematsu M, Morinaga Y, et al. Conjunctival sac microbiome in infectious conjunctivitis[J/OL]. Microorganisms, 2021, 9(10): 2095 [2022-06-22]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34683416>. DOI: 10.3390/microorganisms9102095.
- [10] Lee SH, Oh DH, Jung JY, et al. Comparative ocular microbial communities in humans with and without blepharitis[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53(9): 5585-5593. DOI: 10.1167/iovs.12-9922.
- [11] 安娜, 刘先宁. 眼表菌群的研究进展[J]. 中华实验眼科杂志, 2018, 36(9): 714-718. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.09.012.
An N, Liu XN. Research progress on the microbiota of ocular surface[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2018, 36(9): 714-718. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.09.012.
- [12] Kirstahler P, Bjerrum SS, Friis-Møller A, et al. Genomics-based identification of microorganisms in human ocular body fluid[J/OL]. Sci Rep, 2018, 8(1): 4126 [2022-06-26]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29515160>. DOI: 10.1038/s41598-018-22416-4.
- [13] Arunasri K, Mahesh M, Sai Prashanthi G, et al. Comparison of the vitreous fluid bacterial microbiomes between individuals with post fever retinitis and healthy controls[J]. Microorganisms, 2020, 8(5): 751 [2022-06-26]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32429503>. DOI: 10.3390/microorganisms8050751.
- [14] 亚洲干眼协会中国分会, 海峡两岸医药卫生交流协会眼科学专业委员会眼表与泪液病学组, 中国医师协会眼科医师分会眼表与干眼学组. 中国干眼专家共识: 检查和诊断(2020 年)[J]. 中华眼科杂志, 2020, 56(10): 741-747. DOI: 10.3760/cma.j.cn112142-20200714-00477.
- [15] Qi Y, Wan Y, Li T, et al. Comparison of the ocular microbiomes of dry eye patients with and without autoimmune disease[J/OL]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11: 716867 [2022-06-26]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34631599>. DOI: 10.3389/fcimb.2021.716867.
- [16] 安娜, 刘先宁, 兰雅娴, 等. 16S rRNA 基因序列法对 30 例泪囊炎致病细菌的鉴定[J]. 中华实验眼科杂志, 2013, 31(9): 867-869. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.09.015.
An N, Liu XN, Lan YX, et al. Identification of the genus and species of the dacryocystitis-causing bacteria by 16S rRNA gene[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2013, 31(9): 867-869. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.09.015.
- [17] Zhang Z, Zou X, Xue W, et al. Ocular surface microbiota in diabetic patients with dry eye disease[J/OL]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2021, 62(12): 13 [2022-06-26]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34524384>. DOI: 10.1167/iovs.62.12.13.
- [18] Singh M, Teles F, Uzel NG, et al. Characterizing microbiota from Sjögren's syndrome patients[J]. JDR Clin Trans Res, 2021, 6(3): 324-332. DOI: 10.1177/2380084420940623.
- [19] Andersson J, Vogt JK, Dalgaard MD, et al. Ocular surface microbiota in patients with aqueous tear-deficient dry eye[J]. Ocul Surf, 2021, 19: 210-217. DOI: 10.1016/j.jtos.2020.09.003.
- [20] Shah N, Tang H, Doak TG, et al. Comparing bacterial communities inferred from 16S rRNA gene sequencing and shotgun metagenomics[J]. Pac Symp Biocomput, 2011: 165-176. DOI: 10.1142/9789814335058_0018.

(收稿日期: 2022-08-02 修回日期: 2023-04-06)

(本文编辑: 张宇 骆世平)

读者·作者·编者

本刊对论文题目的要求

论文题目力求简洁、特异、明确,能准确反映文章主题和特定内容,具有可检索性。中文文题一般以 20 个汉字以内为宜,一般不设副标题,尽量不用标点符号,文题中避免使用不为同行熟知的符号、简称、缩略语和商品名。论著文章和综述须有与中文文题含意一致的英文文题。

