

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.11.009

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210407.1117.002.html\(2021-04-07\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210407.1117.002.html(2021-04-07))

肺癌患者肺组织微生物多样性及丰度变化研究*

杨冬华¹,李文军²,张慧玲¹,绽丽¹,刘佳雯¹,张永栋^{1△}

(青海大学附属医院:1.院感科;2.胸外科,西宁 810000)

[摘要] **目的** 分析肺癌患者不同形态肺部微生物组学特征。**方法** 收集 2019 年该院收治的 19 例肺癌行肺癌切除术患者的肺组织(分别为距癌变 1 cm 处的组织及相对癌变部位远离的组织),进一步分离标本, DNA 提取及通过 Illumina 平台采用 16S rDNA 高通量测序的方法,检测肺癌患者肺组织的微生物组学特征;并使用 Metastats 两两比较和 Lefse 判别分析等统计学方法比较不同组别的微生物多样性和差异性。**结果** 肺癌患者肺部微生物多样性分析结果显示,属水平主要包括苍白杆菌属(19.4%)、沉积物杆菌属(11.3%)、不动杆菌属(6.6%)等;A1 组(距离癌变 1 cm 处的组织)和 B1 组(远离癌变部位的组织)在分类群(Top>20)中主要包括苍白杆菌属、沉积物杆菌属、不动杆菌属、贪铜菌属、拟无枝酸菌等,两组差异无统计学意义($P>0.05$);A2 组(小细胞癌肺组织)和 B2 组(非小细胞癌肺组织)物种多样性分析两组差异无统计学意义($P>0.05$),物种差异性分析显示,A2 组中物种丰度相对较高的为叶杆菌属,而在 B2 组内丰度相对较高的物种分别为假单胞菌、嗜热油菌纲、绿弯菌门、绿弯菌目、绿弯菌科、弧菌目、假交替单胞菌科、假交替单胞菌属、绿线菌属。**结论** 肺癌患者肺组织不同部位的微生物多样性并无明显差异,小细胞癌和非小细胞癌微生物的多样性并无明显差异,但非小细胞癌肺部存在更多的优势菌落。

[关键词] 肺肿瘤;微生物种群;测序技术**[中图分类号]** R734.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2021)11-1839-05

Study of microbial diversity and abundance in lung tissue of patients with lung cancer*

YANG Donghua¹, LI Wenjun², ZHANG Huiling¹, ZHAN Li¹, LIU Jiawen¹, ZHANG Yongdong^{1△}

(1. Department of Hospital Infection Control; 2. Department of Thoracic Surgery, Affiliated Hospital, Qinghai University, Xining, Qinghai 810000, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the characteristics of lung microbiome with different morphologies in the patients with lung cancer. **Methods** The lung tissues (1cm from canceration and relatively distant from the cancerous site) from 19 inpatients with lung cancer treated by lung cancer resection in this hospital during 2019 were collected, and further isolated and conducted the DNA extraction. The 16S rDNA high-throughput sequencing method through the Illumina platform was adopted to detect the microbiome characteristics of lung tissues in the patients with lung cancer. Moreover, the statistical method of Metastats pairwise comparison and Lefse discriminant analysis were used to compare the microbial diversity and difference among different groups. **Results** The lung microbial diversity analysis results of the lung cancer patients showed that the genus level mainly included pallidobacterium (19.4%), bacilli of sediment (11.3%), Acinetobacter (6.6%), etc.; the group A1 (tissue at 1cm from canceration) and group B1 (tissues distant from the cancerous site) mainly included Ochrobactrum, sedinibacterium, Acinetobacter, cupriavidus and Amycolatopsis in the taxonomic groups (Top>20), there was no statistically significant difference between the two groups ($P>0.05$). The species diversity analysis showed no statistical difference between the A2 group (small cancer lung tissue) and the B2 group (non-small cell lung cancer tissue) ($P>0.05$). The species diversity analysis showed that the species abundance of phyllobacterium in the A2 group was high, while the species with relatively high abundance in the B2 group were Pseudomonas and thermooleophilia, chloroplexi, chloroflexaceae, vibrionales,

* 基金项目:青海省科技厅项目(2017-ZJ-760)。 作者简介:杨冬华(1989-),主治医师,硕士,主要从事医院感染方向研究。

△ 通信作者, E-mail: 610194826@qq.com。

pseudoalteronaceae, Pseudoalteromonas and chloronema. **Conclusion** There is no difference in microbial diversity in different parts of lung tissues of the patients with lung cancer, and there is no difference between small cell cancer and non-small cell cancer. The more superiority bacterial colonies exist in the lung of small cell cancer.

[Key words] lung cancer; microbial population; sequencing technology

在我国,肺癌死亡人数顺位为恶性肿瘤的第 1 位^[1],给社会带来巨大的医疗、经济负担。随着测序技术的发展,研究证实,在健康状态下肺部也存在丰富的细菌微生物群落^[2]。而人体微生物生态是指在一定空间范围内,细菌、真菌、病毒形成的微生物群落以其宿主的组织和细胞及其代谢产物为环境而形成的统一生物系统^[3-4]。并且,对肺部微生态与呼吸系统疾病的研究为目前研究热点。然而目前的研究方向主要集中于肺部细菌微生态与慢性气道疾病^[5-7],如慢性阻塞性肺疾病(COPD)、哮喘等。关于肺部细菌微生态与肺癌的相关研究相对较少。本研究拟通过 Illumina 平台,采用 16S rDNA 高通量测序的方法研究不同分型肺癌患者的肺部微生物组学,分析肺癌患者肺组织的微生物组学特征,初步探讨肺部细菌微生态与肺癌的相关性及可能机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年本院病理诊断为肺癌的行肺叶切除术或修补术的 19 例住院患者。其中男 14 例,女 5 例;平均年龄(59±6.8)岁。知情同意后术中无菌操作取黄豆大小肺组织一块液氮速冻后放置-80℃冰箱储存。取的部位为局部组织(癌变组织周围,距病变 1 cm 处)和周围组织(相对远离癌变组织)。按照不同部位分组:距离病变 1 cm 处的组织为 A1 组,远离癌变部位的组织为 B1 组;按照不同病理状态分组:小细胞癌肺组织为 A2 组,非小细胞癌肺组织为 B2 组。

纳入标准:(1)年龄 30~85 岁,无手术禁忌证,经组织病理学诊断为小细胞癌和非小细胞癌的住院患者;(2)入院前 1 周无抗感染治疗;(3)临床病例信息资料完整。

排除标准:(1)年龄<30 岁或>85 岁;(2)合并阻塞性肺炎;(3)合并支气管哮喘、肺结核、COPD、艾滋病(HIV)、糖尿病、特发性肺纤维化等可能影响微生物组学特征的其他疾病;(4)曾有粉尘接触史或其他特殊接触史患者;(5)切取肺组织过程中未按照无菌操作或被污染的标本;(6)临床信息资料不完整。所有标本的采集都经过本院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取

肺组织 DNA 抽提步骤如下:(1)取 100 mg 左右肺组织样品加入 2 mL 离心管中,加 3 粒钢珠,液氮震碎,在组织破碎仪上 50 Hz,30 s。(2)加入 700 μL

SDS 裂解液,加入 20 μL 蛋白酶 K,65℃水浴放置 40 min,期间颠倒混匀数次,加入等体积酚:氯仿:异戊醇(25:24:1),颠倒混匀,12 000 r/min 离心 10 min。(3)小心取上清液,加入等体积的氯仿:异戊醇(24:1)颠倒混匀,12 000 r/min 离心 10 min,取上清液,转移至新的 1.5 mL 离心管中;加入 2/3 上清液体积的异丙醇;3 μL 糖原(20 mg/mL);1/10 体积的 3 mol/L 的醋酸钠;混匀,-20℃静置 30 min 以上,12 000 r/min 离心 10 min。(4)弃上清液,75%乙醇(现配现用)洗 1 遍,12 000 r/min 离心 5~10 min,室温静置 5 min,至乙醇挥发完全,按 DNA 沉淀的多少加入 DNase-free 水(50~100 μL)溶解 DNA,轻柔吹打混匀,室温静置 2~5 min,直至 DNA 完全溶解。

1.2.2 PCR 扩增 16SrDNA 基因功能基因的不同区域

本试验选用长度约为 250 bp 的细菌 16S rRNA 基因的高度可变的 V4 区用来测序。PCR 扩增选用细菌 16S rDNA V4 区特异性引物 520F(5'-barcode+AYT GGG YDT AAA GNG-3'), 802R (5'-TAC NVG GGT ATC TAA TCC-3')。

1.2.3 文库构建

利用 TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit 进行建库。(1)进行的末端修复过程是利用试剂盒中的 End Repair Mix2 将 DNA 5'端突出的碱基切除,3'端缺失的碱基补齐,同时在 5'端加上一个磷酸基团;(2)3'端加 A,这一过程中,DNA 的 3'端会单独加上一个 A 碱基,以防止 DNA 片段的自连,同时保证 DNA 与 3'端有一个突出 T 碱基的测序接头相连;(3)加有特异性标签的接头,此过程是为了让 DNA 最终杂交到 Flow Cell 上;(4)通过 PCR 扩增已经加上接头的 DNA 片段,然后利用 BECKMAN AMPure XP beads 纯化 PCR 体系;(5)通过 2%琼脂糖凝胶电泳来对文库做最终的片段选择与纯化。

1.2.4 文库质检与测序

1.2.4.1 文库质检与定量

取 1 μL 文库,在 Agilent Bioanalyzer 机器上用 Agilent High Sensitivity DNA Kit 对文库做 2100 质检,合格的文库应该有单一的峰,无接头。利用 Quanti-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit 在 Promega QuantiFluor 上对文库进行定量,合格的文库计算后浓度应在 2 nmol/L 以上。

1.2.4.2 测序

对合格的文库,在 MiSeq 机器上利用 MiSeq Reagent Kit V3(600cycles)进行 2×300 bp 的双端测序。首先将需要上机的文库(Index 不可重复)梯度稀释到 2 nmol/L,然后按所需数据量比例混样。混好的文库经 0.1 mol/L NaOH 变性成单链进行上机测序。所上文库量的多少可根据实际情况控制在 15~18 pmol/L。

1.3 统计学处理

采用 SPSS24.0 软件、Mothur 软件、R 软件进行统计学分析和绘图,计数资料以率表示,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 *t* 检验;样本间分类学组成的差异性分析采用 Metastats 分析和 LEfse 分析方法。检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 肺癌患者肺部微生物种群在各分类单元的相对丰度

门水平主要为变形菌门(78.0%)、拟杆菌门(12.3%)、放线菌门(3.9%)、栖热菌门(1.2%)、厚壁菌门(1.4%)。属水平主要为苍白杆菌属(19.4%)、沉积物杆状菌属(11.3%)、不动杆菌属(6.6%)、贪铜

菌属(3.5%)、土壤杆菌属(2.4%)、拟无枝菌酸菌(1.7%)、鞘脂单胞菌属(1.4%)、甲基杆菌属(1.2%)、栖热杆菌属(1.2%)、短波单胞菌属(1.1%)、叶杆菌属(0.8%)、噬几丁质杆菌属(0.2%)、链球菌(0.2%)、韦荣球菌(0.1%),以及未能分类到属层面的物种,包括丛毛单胞菌科(18.6%)、变形菌纲(4.8%)、茎杆菌科(4.1%)、伯克霍尔德菌科(1.4%)、柄杆菌科(1.0%),见表 1。

2.2 A1 组和 B1 组在属水平菌群分类学组成

A1 组和 B1 组微生物种群在属水平层面顺位前 20 的包括苍白杆菌属、沉积物杆状菌属、不动细菌属、贪铜菌属、拟无枝酸菌属、土壤杆菌属、假平胞菌属、栖热菌属、甲基杆菌属、短波单胞菌属、氨基杆菌、叶杆菌属、戴尔福特菌、链球菌、短杆菌属、不黏柄菌属、假单胞菌、葡萄球菌属、红游动菌属、鞘脂菌属,其中两组之间微生物物种丰度差异有统计学意义的为甲基杆菌属($P=0.036$)和红游动菌属($P=0.03$),其他微生物物种丰度差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 1 肺癌患者肺部微生物种群在各分类单元的相对丰度

门		纲		目		科		属			
种类	占比 (%)	种类	占比 (%)	种类	占比 (%)	种类	占比 (%)	种类	占比 (%)		
变形菌门	78.0	甲型变形菌纲	38.3	根瘤菌目	28.9	布鲁菌科	19.6	苍白杆菌属	19.4		
						根瘤菌科	2.5	土壤杆菌属	2.4		
						甲基杆菌科	1.8	甲基杆菌属	1.2		
						叶杆菌科	1.6	叶杆菌属	0.8		
						鞘脂单胞菌目	3.5	鞘脂单胞菌科	2.7	鞘脂单胞菌属	1.4
										未分类鞘脂单胞菌科	1.0
		乙型变形菌纲	30.0	柄杆菌目	5.6	柄杆菌科	5.6	未分类柄杆菌科	4.1		
								短波单胞菌属	1.1		
						伯克菌目	24.7	丛毛单胞菌科	19.6	未分类丛毛单胞菌科	18.6
								草酸杆菌科	3.6	贪铜菌属	3.5
								未分类伯克菌目	1.4	未分类伯克菌目	1.4
								未分类变形菌纲	4.8	未分类变形菌纲	4.8
假单胞杆菌目	7.7	莫拉菌科	7.4	不动杆菌属	6.6						
拟杆菌门	12.3	拟杆菌纲	0.3	腐螺旋菌目	11.5	噬几丁质菌科	11.5	沉积物杆状菌属	11.3		
								未分类噬几丁质菌科	0.2		
放线菌门	3.9	放线菌纲	3.8	放射菌目	3.8	假诺卡菌科	1.7	拟无枝菌酸菌属	1.7		
						栖热菌科	1.2	栖热菌属	1.2		
厚壁菌门	1.4	芽孢杆菌纲	0.8	乳酸杆菌目	0.4	链球菌科	0.2	链球菌属	0.2		
						梭菌纲	0.6	梭菌目	0.6	韦荣球菌科	0.1

2.3 A2 组和 B2 组在属水平菌群分类学组成

A2 组和 B2 组微生物种群在属水平层面顺位前

20 的包括苍白杆菌属、沉积物杆状菌属、不动细菌属、贪铜菌属、拟无枝酸菌、土壤杆菌属、假平胞菌属、栖

热菌属、甲基杆菌属、短波单胞菌属、氨基杆菌、叶杆菌属、戴尔福特菌、链球菌、短杆菌属、不黏柄菌属、假单胞菌、葡萄球菌属、克拉菌属、鞘脂菌属,微生物物种丰度两组之间均差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 2 A1 组和 B1 组在属水平菌群分类学组成($\bar{x}\pm s$)

菌名	A1 组	B1 组	<i>t</i>	<i>P</i>
苍白杆菌属	0.10±0.02	0.08±0.01	0.74	0.47
沉积物杆状菌属	0.11±0.06	0.12±0.06	1.49	0.15
不动细菌属	0.87±0.19	0.44±0.03	0.93	0.36
贪铜菌属	0.04±0.03	0.03±0.03	0.29	0.77
土壤杆菌属	0.02±0.01	0.03±0.01	1.88	0.07
拟无枝酸菌	0.02±0.02	0.02±0.27	0.36	0.72
假平胞菌属	0.01±0.01	0.01±0.01	0.36	0.71
甲基杆菌属	0.01±0.01	0.01±0.01	2.27	0.03
栖热菌属	0.01±0.03	0.01±0.03	0.09	0.92
短波单胞菌属	0.01±0.01	0.01±0.01	1.34	0.19
叶杆菌属	0.01±0.52	0.02±0.01	1.00	0.32
氨基杆菌	0.01±0.03	0.01±0.03	0.54	0.59
戴尔福特菌	0.01±0.00	0.01±0.00	0.12	0.90
短杆菌属	0.00±0.00	0.00±0.00	2.03	0.05
不黏柄菌属	0.00±0.00	0.00±0.00	0.69	0.49
鞘脂菌属	0.00±0.00	0.00±0.00	1.12	0.27
葡萄球菌属	0.00±0.00	0.00±0.00	1.88	0.07
假单胞菌	0.00±0.00	0.00±0.00	0.87	0.39
链球菌	0.00±0.00	0.00±0.00	0.97	0.34
红游动菌属	0.00±0.00	0.00±0.00	2.36	0.03

表 3 A2 组和 B2 组在属水平的菌群分类学组成($\bar{x}\pm s$)

菌名	A2 组	B2 组
苍白杆菌属	0.20±0.10	0.14±0.07
沉积物杆状菌属	0.11±0.06	0.09±0.07
不动细菌属	0.09±0.21	0.05±0.03
贪铜菌属	0.02±0.02	0.08±0.05
拟无枝酸菌	0.01±0.02	0.02±0.03
土壤杆菌属	0.02±0.01	0.02±0.01
假平胞菌属	0.01±0.01	0.02±0.02
栖热菌属	0.01±0.02	0.01±0.02
甲基杆菌属	0.01±0.01	0.01±0.01
短波单胞菌属	0.01±0.01	0.00±0.00
氨基杆菌	0.01±0.00	0.01±0.00
叶杆菌属	0.02±0.05	0.00±0.00
戴尔福特菌	0.01±0.00	0.01±0.00
链球菌	0.00±0.00	0.02±0.02
短杆菌属	0.00±0.00	0.00±0.00
不黏柄菌属	0.00±0.00	0.00±0.00
假单胞菌	0.00±0.00	0.00±0.00
葡萄球菌属	0.00±0.00	0.00±0.00
克拉菌属	0.00±0.00	0.00±0.00
鞘脂菌属	0.00±0.00	0.00±0.00

2.4 属水平 A2 组和 B2 组优势种群

通过 Lefse 判别分析,找出 A2 组和 B2 组有特异的主要菌群。小细胞癌组中主要菌群为叶杆菌属、动球菌科、噬纤维菌目、纤维黏网菌。B2 组中主要菌群为假单胞菌科、假单胞菌属、嗜热油菌纲、SHA_31、绿弯菌门、绿弯菌目、绿弯菌科、弧菌目、假交替单胞菌科、假交替单胞菌属、绿线菌属等。

表 4 属水平 A2 组和 B2 组优势种群

分类单元	相对丰度均值	分组	对数得分值	<i>P</i>
叶杆菌属	4.26	A2	4.03	0.03
动球菌科	2.63	A2	2.38	0.04
噬纤维菌目	2.72	A2	2.38	0.04
纤维黏网菌	2.72	A2	2.39	0.04
假单胞菌科	3.70	B2	3.20	0.04
假单胞菌属	3.67	B2	3.20	0.03
嗜热油菌纲	3.24	B2	2.87	0.05
SHA_31	3.20	B2	2.89	0.03
绿弯菌门	3.18	B2	2.89	<0.01
绿弯菌目	3.18	B2	2.89	<0.01
绿弯菌科	3.13	B2	2.72	0.04
弧菌目	3.13	B2	2.92	0.04
叶绿体纲	3.11	B2	2.68	0.03
假交替单胞菌科	3.11	B2	2.83	0.04
假交替单胞菌属	3.11	B2	2.81	0.04
绿线菌属	3.09	B2	2.80	0.01
绿弯菌科	3.09	B2	2.82	0.01
AKYG1722	2.91	B2	2.63	0.01

3 讨论

肺癌疾病负担严重,目前研究为肺癌患者肺部微生物种群特征提供了新的视角^[8-9]。本研究收集肺癌患者肺部组织并进行微生物多样性测序。测序结果显示,肺癌患者肺部微生物门水平主要为变形菌门(78.0%)、拟杆菌门(12.3%)、放线菌门(3.9%)、栖热菌门(1.2%)、厚壁菌门(1.4%)。属水平主要包括苍白杆菌属(19.4%)、未分类丛毛单胞菌科(18.6%)、沉积物杆状菌属(11.3%)、不动杆菌属(6.6%)等。APOPA 等^[4]对肺活检组织的微生态构成进行研究,发现肺癌患者有相似的微生态构成,以拟杆菌门和变形菌门为主,包括无色菌属、不动杆菌属、放线菌属、伊丽莎白菌属、罗氏菌属和鞘氨醇杆菌属等;同时,库克菌属、假单胞菌属、链球菌属和葡萄球菌属等机会致病菌也在肺癌患者中广泛存在。同时比较了同一患者距离病变组织 1 cm 处的组织和相对远离癌变部位组织的微生物组成情况。两组菌群序列量顺位靠前的为苍白杆菌属、沉积物杆状菌属、不动细菌属、贪铜菌属、拟无枝酸菌等,并且两组差异

无统计学意义($P>0.05$)。

一项大型的病例对照研究提示,反复使用青霉素类、头孢类、大环内酯类药物会增加肺癌患病风险,提示肺部菌群失衡可能与肺癌相关^[10]。菌群失衡表示某些致病细菌丰度的失调,进而可能通过产生过多的毒性物质、介导炎症反应而促进肺癌的发生、发展^[11]。本次研究中 A2 组和 B2 组物种多样性分析显示,物种分类组成排在在前 20 的物种两组之间并无明显差别($P>0.05$),通过判别分析进行物种差异性分析,A2 组丰度均值相对较高的物种为叶杆菌属、动球菌科、噬纤维菌目、纤维黏网菌,而在 B2 组内丰度均值相对较高的物种分别为假单胞菌、嗜热油菌纲、绿弯菌门、绿弯菌目、绿弯菌科、弧菌目、假交替单胞菌科、假交替单胞菌属、绿线菌属。本研究中非小细胞癌组中基本为鳞癌,而鳞癌的发病机制与肺部炎症的发生、气道阻塞的形成等相关^[11-12],从而可能使肺部存在更多的优势菌落,并相比另外一组,该组中存在假单胞菌、假交替单胞菌科、假交替单胞菌属等潜在的定值菌,而该类菌属是引起肺部囊性纤维化、COPD 等结构性肺病变等疾病的主要机会致病菌^[13-15]。因此,肺部细菌与宿主之间可能存在复杂的相互作用。肺部细菌可能促进肺癌的发生、发展,而宿主因素例如吸烟状态、基因突变等又可能反过来影响肺部细菌,交织成复杂的关系网络。

参考文献

- [1] CHEN W, ZHENG R, BADE D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2):115-112.
- [2] ZHAO Y, JOHNSON W. Exploring host-microbe interactions in lung cancer, 2018[J]. *Am J Respirat Critical Care Med*, 2018, 198(9):1116-1118.
- [3] 杨景云. 医用微生物学[M]. 北京:中国医药科技出版社, 1997:279.
- [4] APOPA P L, ALLEY L, PENNEY R, et al. PARP1 is up regulated in non small cell lung cancer tissues in the presence of the cyanobacterial toxin microcystin, 2018[J]. *Front Microbiol*, 2018(9):1757.
- [5] DURHAM A, ADCOCK L. The relationship between COPD and lung cancer, 2015[J]. *Lung Cancer*, 2015, 90(2):121-127.
- [6] 张跃栋. 肺癌患者咽拭子和便标本微生物组成成分分析[D]. 河北:河北医科大学, 2018.
- [7] 杨惠琴, 张艳丽, 冯雪, 等. COPD 稳定期患者与健康人群咽部菌群的比较分析, 2015[J]. *新疆中医药*, 2015, 6(33):11-13.
- [8] DY R, SETHI S. The lung microbiome and exacerbations of COPD, 2016[J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2016, 22(3):196-202.
- [9] MOLLIE W, EDUARDO G. Phenotypic differences between *Salmonella* and *Escherichia coli* resulting from the disparate regulation of homologous genes, 2004[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(49):17162-17167.
- [10] BEN B, RONAC M, KEVIN H, et al. Recurrent antibiotic exposure may promote cancer formation; another step in understanding the role of the human microbiota, 2015[J]. *Eur J Cancer*, 2015, 17(51):2655-2664.
- [11] LENOCI V, GUGLIMETTI S, ARIOLI S, et al. Modulation of pulmonary microbiota by antibiotic or probiotic aerosol therapy: a strategy to promote immunosurveillance against lung metastases, 2018[J]. *Cell Rep*, 2018, 24(13):3528-3538.
- [12] 杨晓晖, 董航明, 蔡绍曦. 人体微生物组与肺癌 2017[J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2017, 16(4):417-420.
- [13] BAISHAKHI G, AKSHAY G, KANCHAN P, et al. Bacterial load and defective monocyte-derived macrophage bacterial phagocytosis in biomass-smoke COPD, 2018 [J]. *Eur Respir J*, 2018, 170:2273.
- [14] 袁满. 晚期非小细胞肺癌患者呼吸道细菌微生物组特征及其与预后关系初探[D]. 广州:南方医科大学, 2019.
- [15] HOSGOOD H D, AMY R, NATHANIEL R, et al. The potential role of lung microbiota in lung cancer attributed to household coal burning exposures[J]. *Environ Mol Mutagen*, 2014, 55(8):643-651.

(收稿日期:2020-09-22 修回日期:2021-02-02)