·基础研究·

基于微生物组和代谢组探讨莱菔硫烷对多环芳烃加重哮喘的干预作用

夏方舟[1]，曹淑源[1]，包玉玲[2]，陈明聪[3]，吴　倩[1*]

[1]南京医科大学公共卫生学院卫生检验与检疫学系，江苏　南京　211166；[2]南京医科大学附属儿童医院呼吸科，江苏　南京　210008；[3]南京市疾病预防控制中心理化检验部，江苏　南京　210003

［摘　要］ **目的**：探讨莱菔硫烷（sulforaphane，SFN）通过调节肠道菌群丰度和影响代谢功能对多环芳烃（polycyclic aromatic hydrocarbon，PAH）加重儿童哮喘的干预作用及其潜在机制。**方法**：交配前对母鼠进行SFN饮水干预并通过滴鼻构建孕期PAH暴露模型。子代小鼠采用鸡卵清蛋白（ovalbumin，OVA）致敏与激发构建23 d急性哮喘模型。通过肺部病理学分析评估炎症程度；收集粪便样本进行16S rRNA测序，分析肠道菌群组成与改变；利用超高效液相色谱-质谱代谢组学技术进行尿液非靶向代谢组学分析，鉴定差异代谢物及相关通路。**结果**：肺组织病理学分析显示，PAH暴露显著加重子代哮喘小鼠肺部炎症细胞浸润，SFN干预后炎症程度明显缓解；PAH暴露后肠道菌群α多样性降低，β多样性改变。物种组成分析显示，PAH暴露后优势菌门Bacteroidetes丰度明显升高，而SFN干预回调了Bacteroidetes丰度。在属水平上，PAH暴露降低了*Akkermansia*和*Bacteroides*等菌属丰度，SFN干预可使其恢复。功能预测提示差异菌群主要富集于嘌呤代谢、氨基酸代谢等通路。代谢组学结果表明，PAH暴露导致嘌呤代谢产物次黄嘌呤、环磷酸腺苷等显著升高，SFN干预后这些异常代谢物水平得以回调。通路分析显示差异代谢物主要涉及嘌呤代谢、胆汁酸代谢等关键途径。**结论**：SFN通过重塑肠道菌群结构、调节关键代谢通路，缓解PAH暴露而加重的子代哮喘症状，为儿童哮喘的预防干预和精准治疗提供了创新性理论依据。

［关键词］ 儿童哮喘；多环芳烃；莱菔硫烷；肠道菌群；代谢组学
［中图分类号］ R725.6　　［文献标志码］ A　　［文章编号］ 1007-4368（2026）11-1636-13
doi：10.7655/NYDXBNSN250613

Exploring the intervention effects of sulforaphane on polycyclic aromatic hydrocarbons-related asthma based on microbiome and metabolome

Xia Fangzhou[1], Cao Shuyuan[1], Bao Yuling[2], Chen Mingcong[3], Wu Qian[1*]

[1]Department of Health Inspection and Quarantine, School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing 211166; [2]Department of Respiratory, Children's Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210008; [3]Department of Physical and Chemical Inspection, Nanjing Municipal Center for Disease Control and Prevention, Nanjing 210003, China

［**Abstract**］ **Objective:** To investigate the intervention effect of sulforaphane (SFN) on polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH)-related asthma by regulating gut microbiota abundance and influencing metabolic functions, as well as its underlying mechanisms. **Methods:** SFN was administered to the maternal mice *via* water before mating, and a gestational PAH exposure model was established through intranasal instillation. In the offspring mice, a 23-day acute asthma model was induced by sensitization and challenge with ovalbumin (OVA). The severity of pulmonary inflammation was assessed *via* histopathological analysis of lung tissues. Fecal samples were collected for 16S rRNA sequencing to analyze the composition and alterations of the gut microbiota. Untargeted metabolomics analysis of urine was performed using ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry (UHPLC-MS) to identify differential metabolites and related pathways. The effects of SFN on the structure of the gut microbiota and metabolic pathways were evaluated. **Results:** Histopathological analysis of lung tissue revealed that PAH exposure significantly aggravated pulmonary

［基金项目］ 国家自然科学基金（82073630）；江苏省高等学校基础科学（自然科学）研究重大项目（2020240510）
*通信作者（Corresponding author），E-mail：wuqian@njmu.edu.cn（ORCID：0000-0001-5155-2428）

inflammatory cell infiltration in offspring asthmatic mice, while SFN intervention markedly alleviated the inflammatory infiltration. Following PAH exposure, the α-diversity of the gut microbiota decreased, β-diversity altered. Species composition analysis revealed that the abundance of the dominant phylum Bacteroidetes significantly increased after PAH exposure, while SFN intervention restored the abundance of Bacteroidetes. At the genus level, PAH exposure reduced the abundance of bacterial genera such as *Akkermansia* and *Bacteroides*, which could be restored by SFN intervention. Functional prediction suggested that the differential microbiota were primarily enriched in pathways such as purine metabolism and amino acid metabolism. The metabolomics results indicated that PAH exposure led to a significant increase in purine metabolism products such as hypoxanthine and cyclic adenosine monophosphate, and these abnormal metabolite levels were reversed after SFN intervention. Pathway analysis revealed that the differential metabolites were mainly involved in key pathways including purine metabolism and bile acid metabolism. **Conclusion:** SFN alleviated the aggravated symptoms of offspring asthma caused by PAH exposure, reshaping the community of gut microbiota and regulating key metabolic pathways, providing an innovative basis for the preventive intervention and precision treatment of childhood asthma.

[**Key words**] childhood asthma; polycyclic aromatic hydrocarbons; sulforaphane; gut microbiota; metabolomics

[J Nanjing Med Univ, 2026, 46(11): 1636-1648]

近年来我国儿童哮喘患病率呈现显著上升趋势，全国0~14岁儿童患病率从1990年的0.91%攀升至2011年的3.02%[1]，儿童哮喘成为引人关注的公共健康问题。研究提示，儿童哮喘发病风险与遗传因素、呼吸道感染、个人及家族过敏病史以及环境（如空气污染、呼吸道病毒）和生活方式（如营养、体育活动、肥胖）因素有关[2]，还与胎儿期相关危险因素暴露密切相关。胎儿期对外源性污染物高度敏感，环境污染物可通过胎盘引发不良妊娠结局或远期健康危害[3]。研究表明，孕期尿液中多环芳烃（polycyclic aromatic hydrocarbon，PAH）代谢物1-羟基芘的浓度与子代儿童时期呼吸道疾病（包括哮喘）的发生具有相关性[4]。对美国小样本人群（20例）采用外暴露方法测得待产孕妇PAH暴露水平超过2.41 ng/m^{3}与子代哮喘的发生具有显著相关性[5]。国内关于PAH暴露与子代不良结局的研究起步较晚，Xue等[6]研究发现妊娠期硝基-PAH暴露与新生儿体重和身长降低显著相关，孕期硝基-PAH暴露可能通过胎盘氧化应激影响胎儿生长发育；青岛一项出生队列研究评估了脐带血中PAH产前暴露的生物标志物，证实PAH产前暴露可致婴幼儿神经发育迟缓[7]。

随着“卫生学假说”（社会周围环境的“清洁化”可能是哮喘等过敏性疾病发病率增加的重要因素）的提出以及微生态学的发展，近年来，人们开始重视肠道菌群在哮喘发生、发展中所发挥的作用。肠道菌群对机体免疫功能有重要作用。婴幼儿期肠道菌群失调为引发哮喘的高危因素之一[8]。研究表明，肠道菌群多样性有助于预防哮喘，且细菌多样性可通过维持黏膜完整性、调节免疫耐受，增强黏膜的免疫防御功能[9]。另有研究发现适当的益生菌补充可降低婴幼儿哮喘的发病率[10]。本课题组采用16S rRNA测序技术发现与正常儿童对照组比较，哮喘儿童咽部微生物中韦荣球菌属和普雷沃菌属具有明显差异，其中普雷沃菌属与体内1-羟基芘水平具有相关性[11]。因此推测PAH暴露可以通过改变菌群多样性影响儿童哮喘的发生发展。

PAH在体内代谢过程中可产生有毒代谢物，同时引起机体产生一系列应答。基于代谢组学技术，有研究显示苯并[a]芘（一种重要的PAH）可以通过影响脂质代谢促进肺部损伤[12]。而且苯并[a]芘还可以通过诱导糖酵解向磷酸戊糖途径、磷脂酰胆碱向溶血磷脂酰胆碱、葡萄糖向戊糖衍生物的转换，分别导致戊糖代谢流、氧化应激水平、磷酸戊糖通量增强[13]。本课题组前期基于超高效液相色谱-质谱联用（ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry，UPLC-MS）代谢组学技术发现，与正常儿童对照组比较，儿童哮喘患者尿液中的代谢物发生变化，结合代谢途径分析发现，患儿体内参与能量代谢、氨基酸代谢、嘌呤代谢等的多种代谢物水平显著上调，这些代谢物变化均与氧化应激、免疫功能有关；而且还发现体内PAH羟基代谢物1-羟基芘与嘌呤代谢物具有相关性[4]。

近年来，莱菔硫烷（sulforaphane，SFN）作为十字花科植物特有的生物活性物质，受到广泛关注。目前已知SFN可通过激活核因子E2相关因子2（nuclear factor erythroid 2-related factor 2，Nrf2）通路、抑制核因子κB（nuclear factor-κB，NF-κB）信号等

机制，发挥抗炎、抗氧化、诱导细胞凋亡及阻滞细胞周期等肿瘤化学预防作用。研究表明，SFN能显著抑制香烟烟雾提取物诱导的人肺上皮细胞白介素-8和单核细胞趋化蛋白-1的表达[14]，并在急性肺损伤模型中通过抑制Toll样受体4（Toll-like receptor 4，TLR4）/NF-κB通路有效阻止巨噬细胞的泛凋亡[15]；SFN通过诱导Ⅱ相解毒酶、清除活性氧（reactive oxygen species，ROS），缓解肺缺血再灌注的氧化损伤[16]；SFN通过上调促凋亡蛋白和半胱天冬酶-3，下调抗凋亡蛋白，抑制细胞增殖并诱导凋亡[17]；诱导细胞周期阻滞于G2-M期，抑制肿瘤生长[18]。本课题组前期工作发现，SFN可能通过改变嘌呤代谢和氨基酸代谢发挥抗细胞增殖作用，并通过调节谷胱甘肽代谢产生抗氧化效应[19]，表明SFN能够通过代谢途径影响生物学通路。此外，SFN还被证实能重塑肠道菌群结构，促进有益菌（如产短链脂肪酸菌）的增殖，而菌群结构的优化也伴随着与宿主相关的代谢改善[20-21]。

综上所述，本研究通过构建PAH暴露模型和哮喘动物模型，采用肠道菌群测序和UPLC-MS方法探讨SFN对PAH加重子代哮喘的干预作用。阐明SFN影响肠道菌群组成、功能和宿主代谢途径的潜在作用机制。本研究不仅能为解析儿童哮喘发病机制提供关键线索，还将为儿童哮喘的预防与治疗策略开辟新的方向。

1　材料和方法

1.1　材料

鸡卵清蛋白（ovalbumin，OVA）（Sigma公司，美国）；SFN（MedChemExpress公司，美国）；氢氧化铝[（Al(OH)$_3$)]（上海麦克林生化科技公司）；芘（>97%）、苯并[a]蒽（>98%）、苯并[a]芘（>96%）、苯并[b]荧蒽（>98%）、苯并[k]荧蒽（>98%）、苯并[g，h，i]苝（>98%）、屈（>97%）、二苯并[a，h]蒽（>98%）、茚并芘（>98%）（AccuStandard公司，美国）；甲酸（>98%）、甲醇（色谱纯）、乙腈（色谱纯）（Merck公司，德国）。

1.2　方法

1.2.1　动物模型

动物实验均经过南京医科大学动物伦理委员会审核批准（伦理号IACUC-2104002）。C57BL/6近交系小鼠（上海斯莱克生物技术有限公司）作为模型动物。所有小鼠在正式实验前于SPF级动物房接受为期1周的检疫适应，饲养环境严格维持在恒温（22±1）℃、相对湿度（55±5）%条件下。实验动物自由获取标准啮齿类动物饲料及灭菌饮用水，并通过自动控制系统维持12 h光照/12 h黑暗的明暗周期。小鼠按2只雌鼠、1只雄鼠合笼后，被随机分为5组：对照（Control）组、哮喘（Asthma）组、PAH暴露哮喘（PAH+Asthma）组、SFN干预哮喘（SFN+Asthma）组、SFN干预PAH暴露哮喘（SFN+PAH+Asthma）组（图1）。确定母鼠怀孕后，通过鼻腔滴注方式对PAH+Asthma组和SFN+PAH+Asthma组雌鼠每日滴鼻1 mg/mL的PAH混合溶液20 μL[22]，持续暴露10 d建立孕期PAH暴露模型。SFN+Asthma组和SFN+PAH+Asthma组雌鼠交配前均进行14 d SFN饮水干预（0.5 mg/mL）。每组均取6只子代小鼠（该数量由产仔数最低组的总数确定）进行后续实验。

子代哮喘模型构建：子代小鼠21 d断奶后，采用23 d OVA诱导小鼠急性哮喘模型[23]，即每隔1周每只小鼠腹腔注射2.5 mg/kg OVA和15 mg/kg Al(OH)$_3$致敏，共3次。最后1次腹腔注射后1周，连续3 d对小鼠鼻腔滴注5 mg/kg OVA激发哮喘。

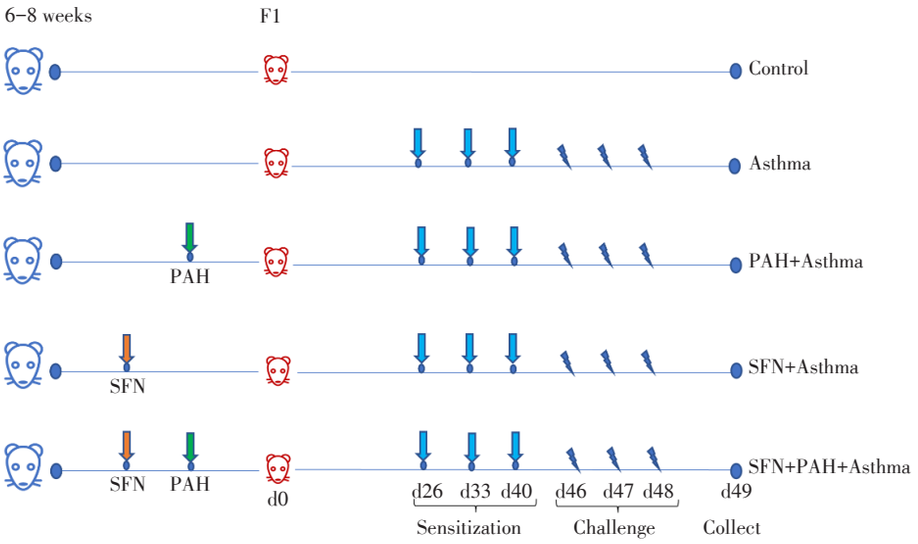
1.2.2　苏木精-伊红（hematoxylin and eosin，HE）染色

将左肺组织置于4%多聚甲醛溶液中固定24 h，随后制备石蜡切片，进行HE染色，经1%冰醋酸冲洗分化后，以无水乙醇脱水，最后封片。待切片完全干燥后，使用PANNORAMIC SCAN扫片机对切片进行扫描，扫描结果由CaseViewer 2.4软件进行分析。

1.2.3　肠道微生物群16S rRNA测序

采用E.Z.N.A.®土壤试剂盒（Omega Biotek公司，美国），从粪便样本中提取总基因组DNA。针对细菌16S rRNA基因的V3~V4可变区，使用正向引物338F（5′-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3′）和反向引物806R（5′-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3′）进行PCR扩增。扩增产物经AxyPrep DNA凝胶回收试剂盒（Axygen Biosciences公司，美国）纯化后，通过Miseq PE300平台（Illumina公司，美国）完成测序。原始序列用Trimmomatic和FLASH软件进行质控与拼接，随后采用UPARSE7.1（http://drive5.com/uparse/）以97%的相似度对操作分类单元（operational taxonomic unit，OTU）进行聚类，并通过基于核糖体数据库计划的分类器（http://rdp.cme.msu.edu/）实现对OTU序列的注释。

α多样性指数用于分析组间差异，反映各组样本肠道内菌群多样性、丰富度和均匀度。β多样性分析用于比较样本间菌群结构的差异，基于OTU水平的主成分分析（principal component analysis，PCA）通过聚集或离散模式判断组间菌群结构的差异程



The mice were administered SFN by water gavage for 14 days and exposed to PAH by intranasal instillation for 10 days（n=6）.

图1 动物模型流程图

Figure 1 The flowchart of the animal model

度。使用线性判别分析效应大小（linear discriminant analysis effect size，LEfSe）方法进行差异物种分析，以筛选各组间差异有统计学意义的物种，为控制假阳性率，对得到的P值进行Benjamini-Hochberg校正，获取错误发现率（false discovery rate，FDR），并设定线性判别分析（linear discriminant analysis，LDA）评分>2.0且P<0.05作为组间丰度显著差异菌种的筛选阈值。对于筛选出的差异菌种，基于KEGG数据库，使用PICRUST软件对差异菌种的特征序列进行物种注释，STAMP软件进行功能丰度差异分析。微生物测序数据分析在美吉生物I-Sanger云平台（上海美吉生物医药科技有限公司）完成。

1.2.4 UPLC-MS尿液非靶向代谢组学分析

将100 μL尿液样本转移至离心管中。另取每只小鼠的尿液20 μL，充分混合均匀，制备成质量控制（quality control，QC）样。向上述样本与QC样中分别加入200 μL甲醇。将所有混合液4 ℃、12 000 r/min离心15 min，离心后取150 μL上清液进行后续分析。

基于本实验室前期建立的代谢组学方法[22]，采用UPLC-MS技术平台进行尿液代谢组学分析。分析过程中，建立随机样本序列，并在固定样本数之间插入QC样，通过监测QC样的检测结果来评估监测仪器的稳定性，以确保结果的准确性。

使用氦气作为载气，C_{18}色谱柱（100 mm×2.1 mm，1.9 μm），柱温设置为40 ℃；自动进样，进样量设置为5 μL。流动相A：含0.1%甲酸-水溶液；流动相B：含0.1%甲酸-乙腈溶液；梯度洗脱程序为先用100% B相冲洗色谱柱，再以100%A相平衡。流速设定为0.2 mL/min。质谱参数设置如下：鞘气流量10 arb，喷雾电压3.0 kV，毛细管温度320 ℃，辅助气体加热温度30 ℃。采用加热型电喷雾离子源，样品在全扫描模式下进行检测。收集正离子模式和负离子模式在30~800 m/z的样品数据。

尿液非靶向代谢组学检测获得的原始数据经MSConvert软件转换为RAW格式后，使用R软件进行归一化处理、数据转换、中心化与标准化。随后将数据导入XCMS在线代谢组学分析平台（美国斯克利普斯研究所）进行代谢组学分析。初步筛选（保留代谢特征>50%且相对标准偏差>30%的代谢特征峰）后，使用SIMCA-P 14.0软件对数据进行偏最小二乘判别分析（orthogonal projections to latent structures discriminant analysis，OPLS-DA）。在OPLS-DA模型对数据进行简化和降维处理后，通过距离算法分析每组样本之间的整体分布情况。通过200次置换检验验证模型的稳健性与预测能力，该检验随机置换分组标签（Y变量）以破坏原始数据的组间关系，从而构建1个基于随机数据的R^2和Q^2分布。最终模型的可靠性通过以下标准判断：原始模型的Q^2值显著高于所有置换模型的Q^2值；置换检验回归线的Y轴截距（Q^2 intercept）<0.05，表明模型具有预测能力而非过拟合。

在验证模型有效性后，以变量投影重要性指标（variable importance in projection，VIP≥1.0）联合经FDR校正后统计学显著性（校正P<0.05）及差异倍

数（fold change，FC）（FC≥1.2或FC≤0.8）为标准筛选差异代谢物。

将筛选出的差异代谢物与人类代谢物数据库（HMDB，http://www.hmdb.ca/）进行比较，最终将鉴定得到的差异代谢物输入 Metaboanalyst 网站进行通路富集分析。

1.3　统计学方法

定量数据以均数±标准差（$\bar{x} \pm s$）或均数±标准误（$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$）表示，多组独立样本之间的差异采用单因素方差分析检验或Kruskal-Wallis检验。数据分析采用R 3.5.1版或GraphPad Prism 8.0软件完成。$P < 0.05$为差异有统计学意义。所有检验均为双侧检验。

2　结　果

2.1　SFN改善PAH加重的子代哮喘肺部炎症

肺组织病理学HE染色结果显示（图2），与对照组相比，PAH+Asthma组和Asthma组的子代小鼠肺部炎症细胞浸润明显增加，SFN干预后炎症浸润有所减轻。

2.2　SFN干预对PAH暴露小鼠肠道菌群多样性的影响

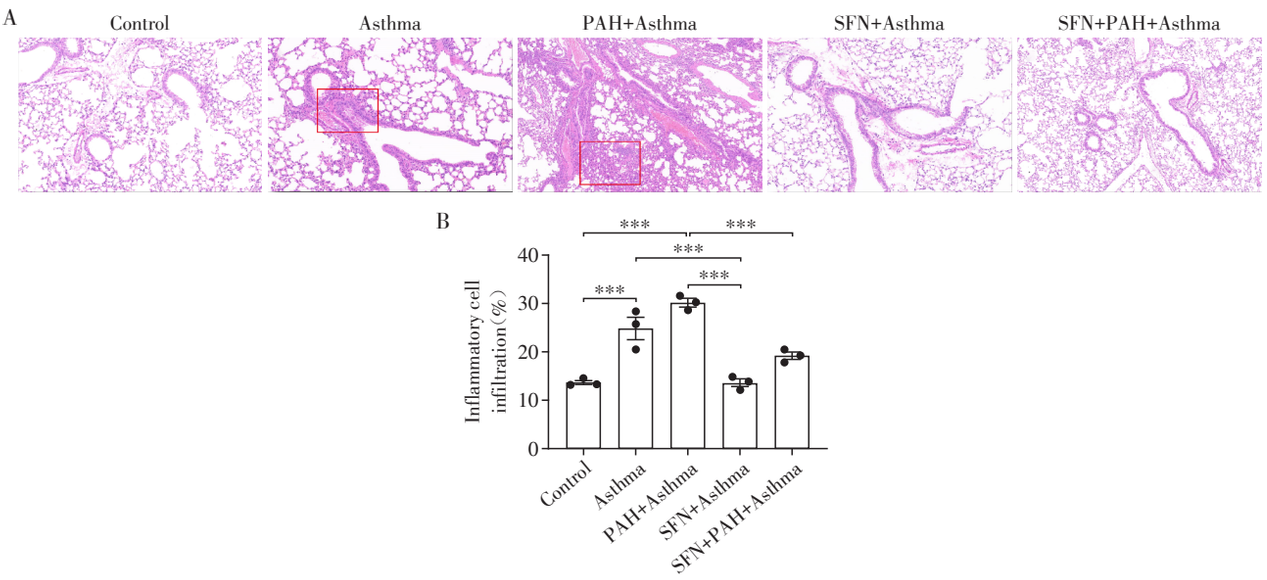
2.2.1　小鼠肠道菌群α多样性和β多样性分析

本研究采用α多样性指数表征样本间微生物群落的物种组成和多样性特征，包括Sobs指数、Shannon指数和Simpsoneven指数，综合评价物种丰富度与多样性。结果显示，3种指数组间均不存在显著性差异（P均> 0.05）。β多样性分析采用PCA对样本群落结构进行降维可视化，结果显示不同处理组与对照组之间呈现较明显分离，表明实验组间微生物群落结构存在差异（图3）。

2.2.2　小鼠肠道菌群组成变化分析

物种组成分析显示，在门水平上，Bacteroidetes、Firmicutes和Verrucomicrobia是肠道菌群优势菌门（图4A）。与对照组相比，Asthma组和PAH+Asthma组Bacteroidetes和Firmicutes相对丰度升高，且在PAH暴露后升高更为明显。SFN干预后，Asthma组和PAH+Asthma组Bacteroidetes相对丰度回调。Firmicutes相对丰度在Asthma组有所上升，但在PAH+Asthma组稍有下降。与对照组比较，Verrucomicrobia在Asthma组和SFN+PAH+Asthma组降低有统计学意义（$P < 0.05$）；与对照组比较，Actinobacteria所占比例升高，且在Asthma组明显升高（$P < 0.05$）；而与Asthma组相比，SFN+PAH+Asthma组的Actinobacteria丰度显著降低（$P < 0.05$）。

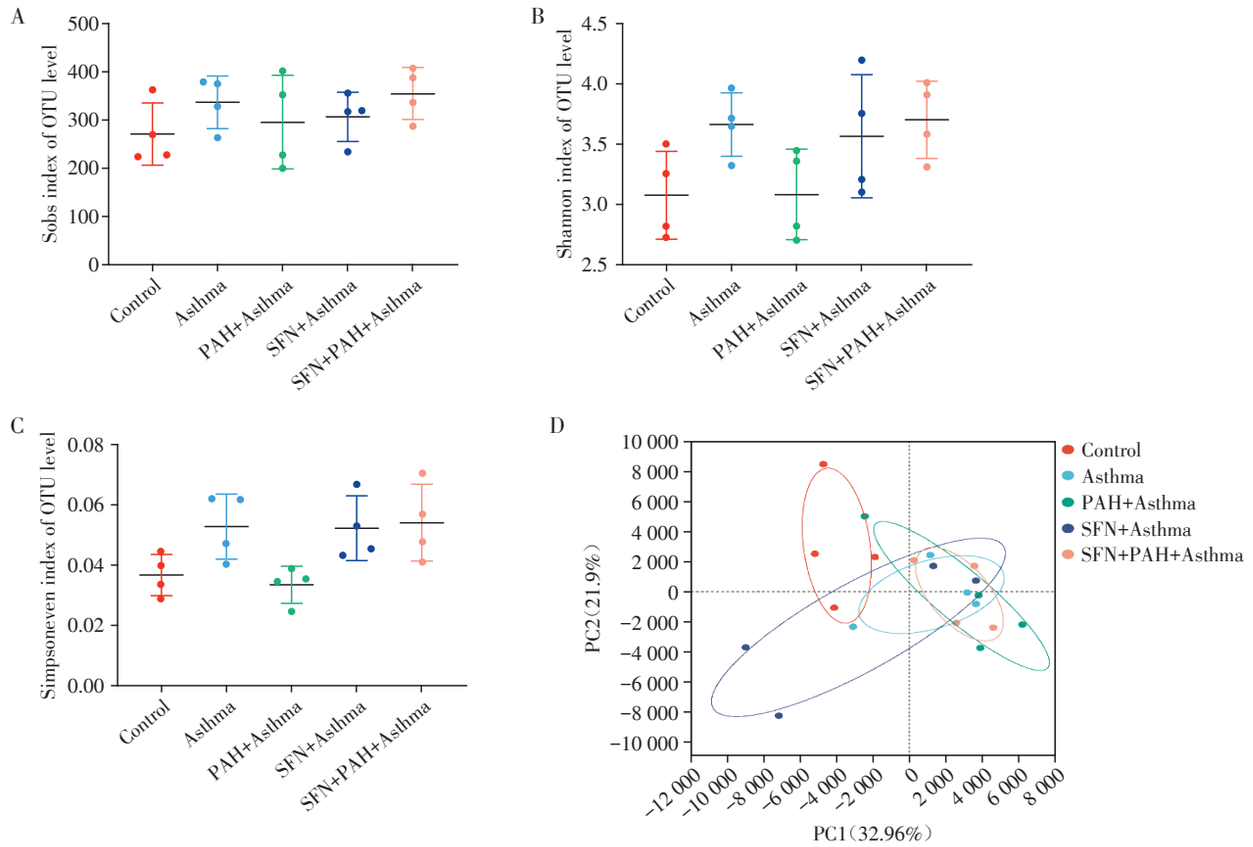
属水平分析结果显示：*Lactobacillus*、*Akkermansia*和*Bacteroides*相对丰度较高（图4B）。Asthma组*Akkermansia*和*Bacteroides*丰度低于对照组，并且在



A: Lung tissues of mice in each group (HE×100). B: Quantitative comparison of lung HE staining results across groups ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, n=3). One-way ANOVA, followed by Tukey's multiple comparisons test for post hoc analysis. $^{***}P < 0.001$. Areas with significant inflammatory cell infiltration are indicated by red boxes.

图2　PAH和SFN处理后小鼠肺部组织HE染色变化

Figure 2　The changes in HE staining of mouse lung tissues after PAH and SFN treatment



A: The α-diversity Sobs index, reflecting microbial community richness (n=4). B: The α-diversity Shannon index, reflecting microbial community diversity (n=4). C: The α-diversity Simpsoneven index, reflecting microbial community evenness (n=4). D: The principal component analysis (PCA) based on OTU level (ADONIS: R^2=0.356 8, P=0.002).

图3 不同组别肠道微生物多样性分析

Figure 3 The changes of the diversity of gut microbiota

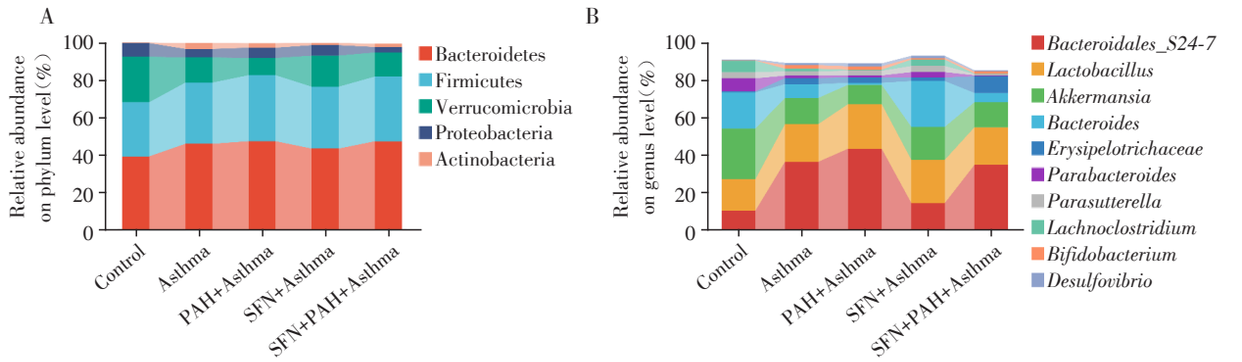
PAH暴露后进一步下降，SFN干预后，Asthma组和PAH+Asthma组皆回升。*Lactobacillus*各组差异变化不显著：与对照相比，Asthma组和PAH+Asthma组丰度升高，在SFN干预后，Asthma组继续升高，而PAH+Asthma组回落。与对照组相比，*Bifidobacterium*丰度，Asthma组和SFN+PAH+Asthma组显著升高（P < 0.05）；*Akkermansia*丰度，Asthma组和SFN+PAH+Asthma组显著降低（P < 0.05）；*Parabacteroides*的丰度在SFN+Asthma组和SFN+PAH+Asthma组也显著降低（P < 0.05）。此外，与对照组相比，*Bacteroides*在SFN+Asthma组升高、SFN+PAH+Asthma组降低有统计学意义，*Parasutterella*在SFN+PAH+Asthma组降低有统计学意义（P < 0.05）。

2.2.3 SFN改变PAH暴露小鼠的微生物功能

基于肠道菌群宏基因组测序数据，通过LDA鉴定具有组间差异的特定细菌组。分析结果清晰地反映了不同分组间丰度具有差异的菌群为*Faecalibaculum*、Bacteroidaceae、Prevotellaceae（图5A），提示这些微生物可作为区分不同分组的生物标志物。将差异菌群进行功能预测，结果显示差异微生物富集在嘌呤代谢、嘧啶代谢、赖氨酸合成、甘油酯代谢等关键通路（图5B）。

2.3 SFN改善PAH暴露哮喘小鼠的代谢功能

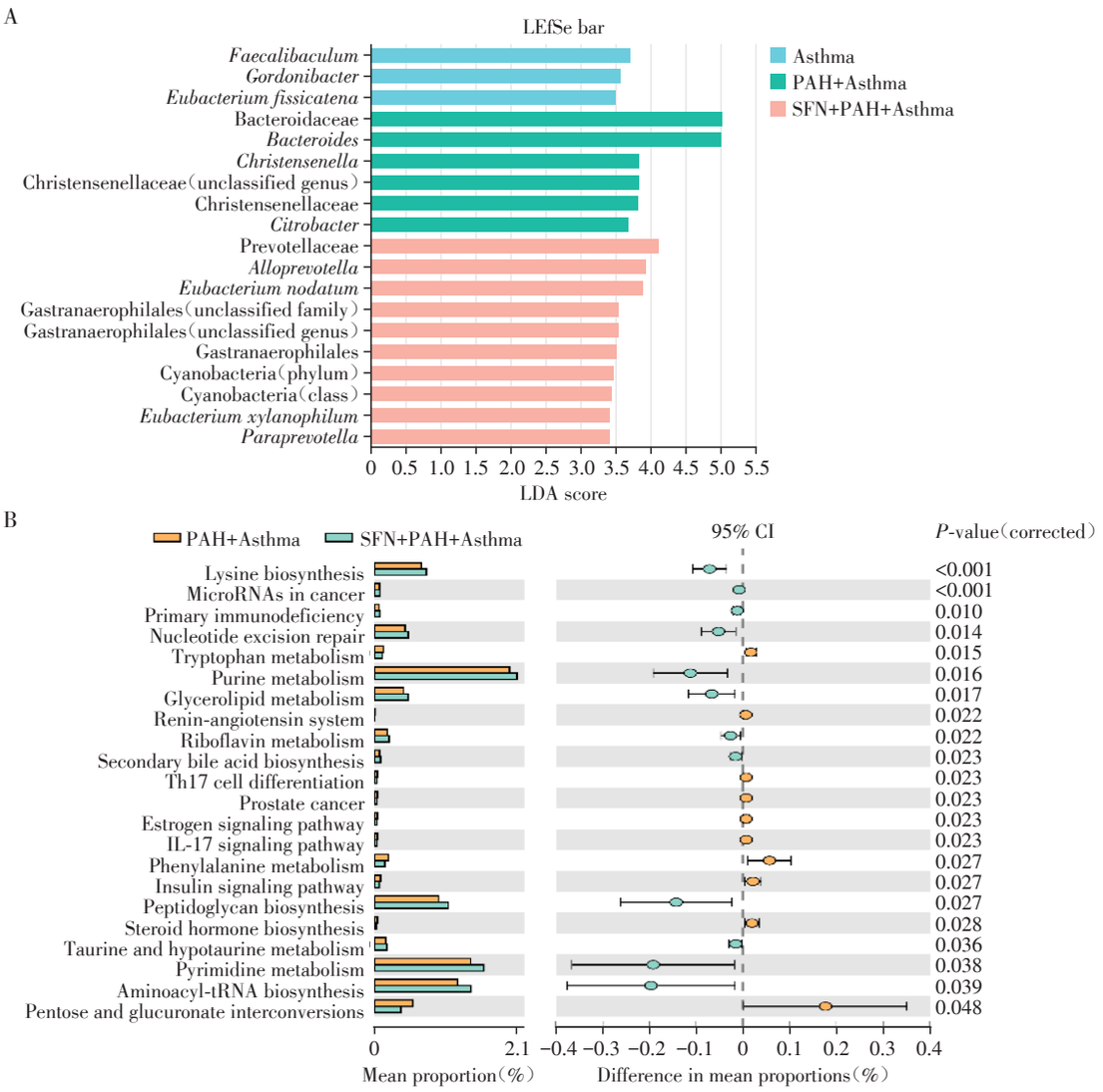
采用OPLS-DA正交偏最小二乘判别分析对代谢组学数据降维处理，得分图结果显示组间区分明显，各组样本的尿液代谢谱差异明显（图6）。3组原始模型的Q^2值均高于所有置换模型的Q^2值，且置换检验回归线的Y轴截距<0.05，说明模型未出现过拟合，具有良好的稳健性。具体模型参数如下，第1分组（对照组*vs*. Asthma组*vs*. PAH+Asthma组）：R^2X=0.671，R^2Y=0.934，Q^2=0.559；第2分组（对照组*vs*. Asthma组*vs*. SFN+Asthma组）：R^2X=0.663，R^2Y=0.939，Q^2=0.596；第3分组（对照组*vs*. Asthma组*vs*. PAH+Asthma组*vs*. SFN+PAH+Asthma组）：R^2X=0.765，R^2Y=0.982，Q^2=0.481。以上参数表明模型稳定性良好，具有较好的预测能力。



A: Bar chart of microbial community composition at the phylum level. B: Bar chart of microbial community composition at the genus level. The trend lines presentes as the median(n=4).

图4　不同组别肠道微生物物种组成

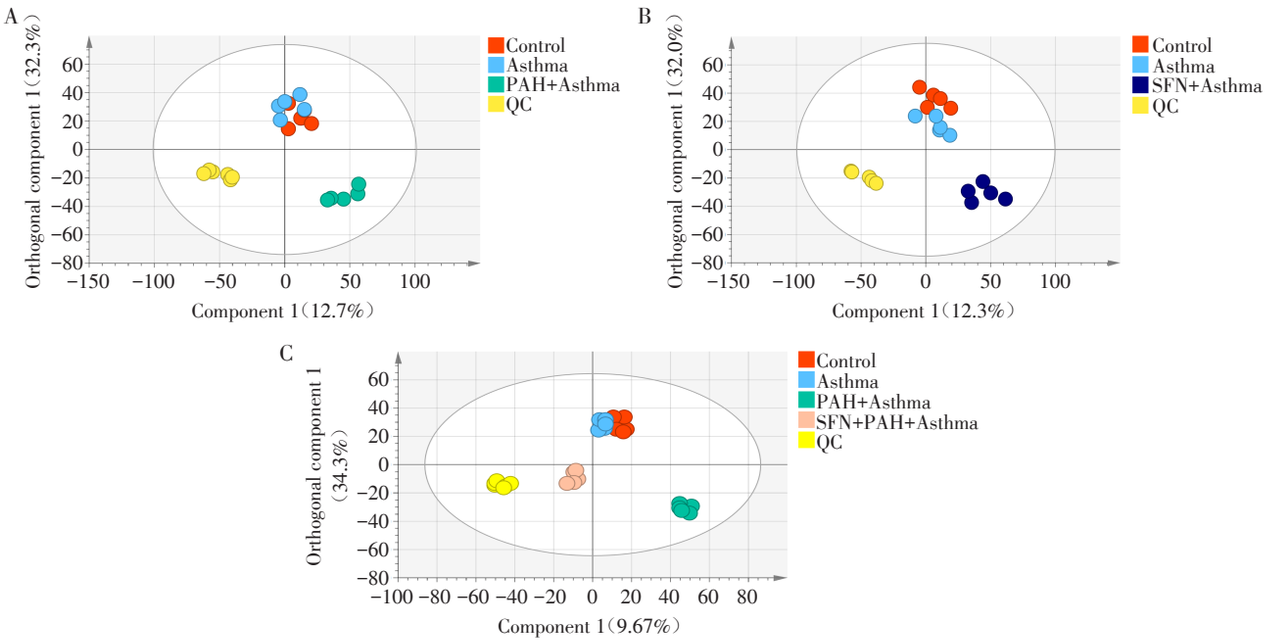
Figure 4　The composition of gut microbial species in different groups



A: LEfSe analysis, using an LDA score >2.0 and $P < 0.05$ as the significance threshold. B: Functional prediction(PICRUSt) for the differential bacterial species(n=4).

图5　SFN干预后肠道微生物功能的改变

Figure 5　The changes in gut microbial functions after SFN intervention



A：The three groups are Control，Asthma，and PAH+Asthma. B：The three groups are Control，Asthma and SFN+Asthma. C：The four groups are Control，Asthma，PAH+Asthma，SFN+PAH+Asthma（n=5）. QC：quality control group.

图6　尿液代谢的OPLS-DA

Figure 6　OPLS-DA of urine metabolism

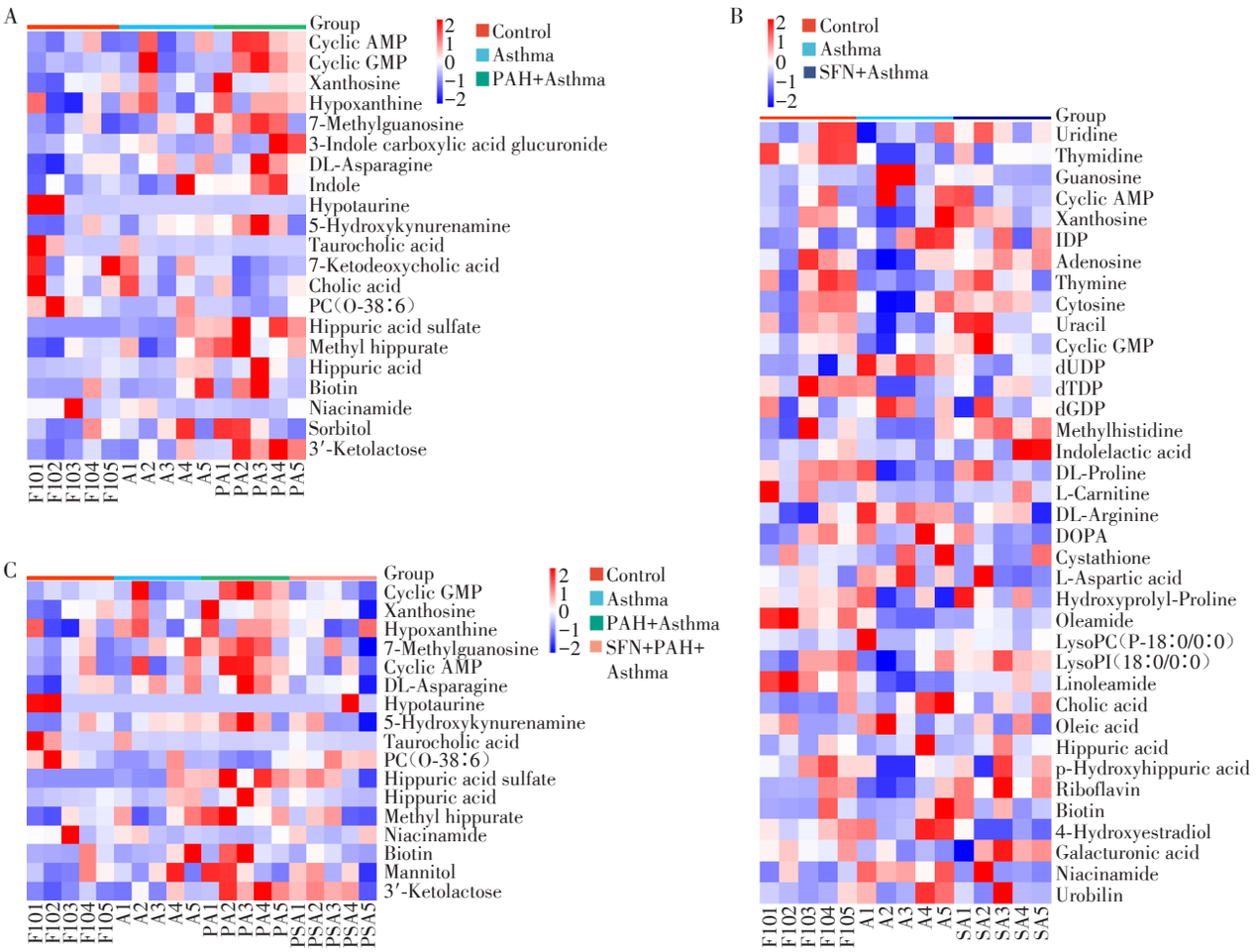
以VIP≥1、P < 0.05及FC≥1.2或FC≤0.8为标准筛选差异代谢物。第1分组（对照组*vs*. Asthma组*vs*. PAH+Asthma组）筛选出21种变化的代谢物，15种在Asthma组升高，PAH组上调更为明显；第2分组（对照组*vs*. Asthma组*vs*. SFN+Asthma组）筛选出39种变化的差异代谢物，17种在Asthma组中升高的代谢物SFN干预后下降；第3分组（对照组*vs*. Asthma组*vs*. PAH+Asthma组*vs*. SFN+PAH+Asthma组）筛选出17种变化的代谢物，13种代谢物PAH暴露后上调，SFN干预后下降，逆转了PAH暴露加重的哮喘情况。热图直观展示了差异代谢物在各组中的分布情况（图7）。

通路分析显示，差异代谢物主要富集在嘌呤代谢（P < 0.05）、生物素代谢、牛磺酸和次牛磺酸代谢、胆汁酸代谢等通路（图8）。

3　讨　论

儿童哮喘作为全球范围内日益严峻的公共健康问题，其发病率在我国呈显著上升趋势，环境污染物暴露尤其是PAH在胎儿期的影响备受关注。本研究通过构建孕期PAH暴露及子代哮喘小鼠模型，结合肠道菌群16S rRNA测序与代谢组学分析，发现SFN可通过重塑肠道菌群结构、调节嘌呤代谢等关键通路，缓解PAH诱导的哮喘加重，为揭示环境污染物暴露与哮喘发生发展的潜在机制、探寻基于肠道微生态调控的哮喘防治新策略提供了实验依据与理论支持。

PAH暴露可能通过诱导氧化应激和促炎因子释放，显著加剧OVA诱导的肺部炎症细胞浸润，而SFN干预后炎症反应减轻，与其抗氧化、抗炎特性密切相关。这一结论与Lü等[24]的研究结果契合：该研究证实，SFN可通过激活Akt/GSK-3β/Fyn信号通路，显著抑制铬诱导的大鼠肺损伤。此外，Royce等[25]在哮喘模型中进一步证实，SFN不仅能通过抑制促炎因子（如白介素-1β、白介素-6）分泌减轻气道炎症，还可通过减少Ⅰ型胶原沉积，降低气道高反应性并改善气道重塑。Wang等[15]的最新研究则揭示了SFN的另一层保护机制：在脂多糖诱导的急性肺损伤模型中，SFN通过阻断TLR4/NF-κB通路，抑制巨噬细胞泛凋亡，从而减少炎症性细胞死亡和组织损伤。尽管不同研究中肺损伤的诱因不同，但SFN的保护机制呈现一致性：一方面，通过上调Nrf2依赖的抗氧化酶如血红素氧合酶-1、NAD（P）H：醌氧化还原酶1的活性，清除过量自由基；另一方面，通过抑制NF-κB通路的激活，减少白介素-6、肿瘤坏死因子-α等促炎因子释放。这提示SFN可能通过协同调控抗氧化、抗炎反应及相关信号通路，在肺损伤中发挥保护效应，为本研究中SFN缓解哮喘小鼠



Heatmap of differential metabolite analysis. Red represents up-regulated metabolites, and blue represents down-regulated metabolites. A: The three groups are Control, Asthma, and PAH+Asthma. B: The three groups are Control, Asthma, and SFN+Asthma. C: The four groups are Control, Asthma, PAH+Asthma, and SFN+PAH+Asthma(n=5).

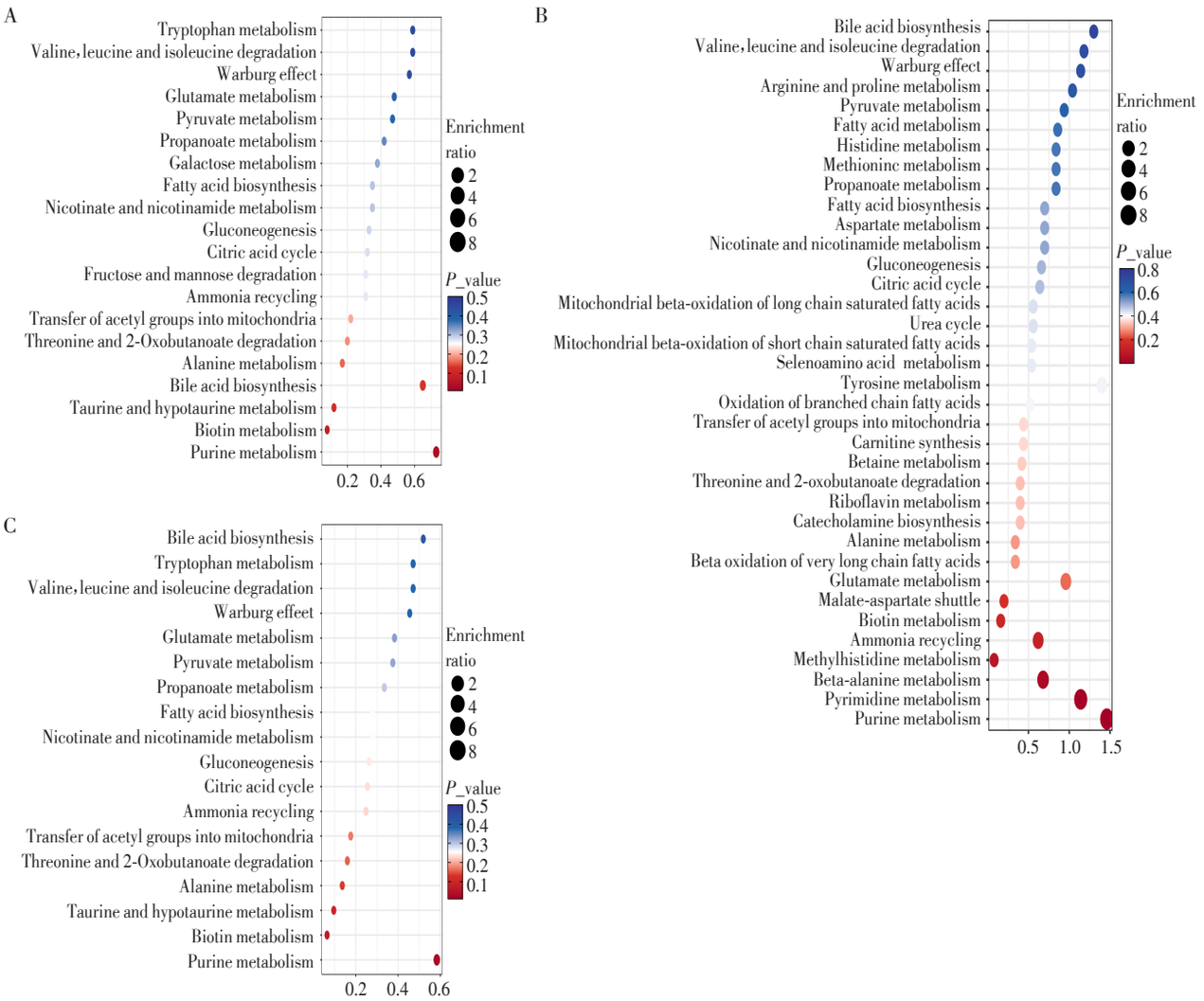
图7　SFN干预后逆转由PAH暴露引起的代谢物变化

Figure 7　SFN restored changes of metabolites induced by PAH exposure

肺部炎症浸润的机制提供了重要补充证据。

肠道菌群分析揭示，PAH暴露导致小鼠肠道菌群α多样性降低，β多样性改变，Bacteroidetes、Firmicutes丰度异常升高，而Verrucomicrobia及其代表菌属*Akkermansia*减少。*Akkermansia*作为肠道黏膜屏障的重要维护者，其丰度下降可能破坏肠上皮紧密连接，增加肠道通透性，可能促使内毒素或病原体移位进入循环系统，激活系统性炎症反应，进而加剧肺部免疫损伤[26-27]。SFN干预后，*Akkermansia*丰度回升，*Bacteroides*、*Bifidobacterium*等有益菌增多，*Parabacteroides*等潜在有害菌减少，表明SFN通过促进有益菌定植、抑制致病菌过度生长，恢复菌群平衡。*Bacteroides*的升高尤为值得关注，该菌属可通过产生短链脂肪酸调节Treg细胞分化，抑制Th2型免疫反应，从而减轻气道炎症[28]；而*Akkermansia*的恢复可能通过增强肠黏膜屏障功能，减少促炎物质入血，形成对肺部炎症的双重保护。功能预测分析显示，差异菌群富集于嘌呤代谢、氨基酸代谢等通路，进一步提示SFN通过优化菌群代谢功能，改善宿主能量代谢及免疫调控能力。

代谢组学分析表明，PAH暴露导致嘌呤代谢产物次黄嘌呤、环磷酸腺苷等显著升高，而SFN干预后这些代谢物水平下调，表明SFN对PAH导致的嘌呤代谢异常具有纠正作用。嘌呤代谢紊乱与氧化应激密切相关，次黄嘌呤作为黄嘌呤氧化酶的底物，其积累会加剧ROS生成，诱导DNA损伤及炎症反应[29]。此外，胆汁酸代谢通路的变化提示SFN可能通过调节肠道菌群-肝脏轴发挥作用：持久性有机污染物暴露可能干扰胆汁酸合成与肠-肝循环[30]，而SFN可能通过促进初级胆汁酸向次级胆汁酸转化，



Bubble plot of metabolic pathways. The color of the dots represents the *P*-value. A: The three groups are Control, Asthma, and PAH+Asthma. B: The three groups are Control, Asthma, and SFN+Asthma. C: The four groups are Control, Asthma, PAH+Asthma, and SFN+PAH+Asthma（n=5）.

图8 PAH暴露和SFN干预均影响小鼠的代谢通路

Figure 8 Both PAH exposure and SFN intervention affected the metabolic pathways of mice

激活法尼醇X受体抑制肠道炎症[31]，同时调节肺部免疫细胞分化。能量代谢与氨基酸代谢通路的富集分析进一步显示，SFN通过多靶点调节恢复宿主代谢稳态，减轻线粒体功能障碍[32]，为机体提供更稳定的内环境以抵御炎症损伤。

PAH通过代谢活化产生ROS，引发氧化应激和炎症反应，破坏肠道屏障功能[33]。其机制可能涉及抑制可溶性鸟苷酸环化酶或激活磷酸二酯酶，降低环磷酸鸟苷水平，导致紧密连接蛋白（如闭锁小带蛋白-1）表达减少[34-35]；PAH也可能削弱黏液层结构，影响*Akkermansia*等依赖黏液层生存的有益菌定植[36]；还可能通过氧化应激选择性改变菌群组成，抑制*Bifidobacterium*丰度并降低其生物素（一种B族维生素）合成能力[37]，同时促进*Desulfovibrio*在缺氧环境下的增殖[38]。SFN作为Nrf2通路激活剂，通过多靶点干预逆转PAH毒性：恢复谷胱甘肽过氧化物酶等抗氧化酶表达水平、减少ROS积累[16]，促进闭锁小带蛋白-1等屏障蛋白表达[40]；显著调节肠道菌群结构，恢复*Akkermansia*等有益菌的丰度，并提升短链脂肪酸如己酸的含量[39]，这些由*Akkermansia*产生的短链脂肪酸可通过激活G蛋白偶联受体等途径，与宿主进行代谢互作，从而增强肠道屏障功能并调节炎症[41]。此外，SFN通过调节胆汁酸代谢和硫酸盐还原酶活性[32]，抑制*Desulfovibrio*过度增殖及其H_2S介导的磷脂酰胆碱合成[38]，进一步维持肠道稳态。

尽管本研究为SFN的干预机制提供了新见解，但仍存在一定局限性。动物模型的研究结果需在临床人群中进一步验证，特别是人类孕期复杂的暴

露模式与小鼠模型的差异；菌群与代谢物的因果关系尚未完全明确，后续可通过粪菌移植或无菌小鼠实验探究特定菌属的关键作用；此外，代谢组学仅分析尿液样本，未来需结合粪便、血液及肺组织样本，全面解析多维度代谢网络的变化。从转化医学角度，SFN作为天然产物具有安全性优势，但其最佳干预剂量、时间窗及长期效应仍需深入研究。结合微生物组与代谢组的多组学整合分析，可进一步筛选用于哮喘风险评估的生物标志物，并开发基于SFN的精准营养干预策略，针对PAH高暴露人群进行早期预防。

综上所述，本研究阐明SFN通过重塑肠道菌群结构、调节嘌呤代谢等关键通路，对PAH加重的子代哮喘发挥保护作用，揭示了“肠道菌群-代谢组”相互作用在环境相关哮喘中的重要性。这一发现不仅深化了对儿童哮喘发病机制的理解，更为基于微生态与代谢调节的防治策略提供了新思路。未来研究需聚焦临床验证、因果机制解析及精准干预方案开发，推动相关研究成果从实验室向临床应用转化，为儿童哮喘的预防与治疗开辟新的方向。

利益冲突声明：

所有作者声明无利益冲突。

Conflict of Interests:

The authors declare no conflict of interests.

作者贡献声明：

夏方舟负责实验实施、数据分析及论文初稿撰写；曹淑源参与动物模型构建与数据统计分析；包玉玲负责哮喘模型构建与肺部病理学评估；陈明聪参与代谢组学样本处理与数据解读；吴倩提出研究主题、指导项目、修改审校论文并提供资金支持。

Author's Contributions:

Xia Fangzhou was responsible for experiment implementation, data analysis, and drafting the initial manuscript. Cao Shuyuan participated in animal model establishment and statistical data analysis. Bao Yuling was responsible for asthma model establishment and lung pathology assessment. Chen Mingcong participated in metabolomics sample processing and data interpretation. Wu Qian proposed the research topic, supervised the project, revised and finalized the manuscript, and provided funding support.

[参考文献]

[1] 全国儿科哮喘协作组，中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所. 第三次中国城市儿童哮喘流行病学调查[J]. 中华儿科杂志，2013，51(10)：729-735
Chinese Pediatric Asthma Collaboration, Institute of Environmental Health and Related Product Safety, Chinese Center for Disease Control and Prevention. The third nationwide survey of childhood asthma in urban China [J]. Chinese Journal of Pediatrics, 2013, 51(10): 729-735

[2] Zhu Z Z. Early-life airway microbiome and childhood asthma development[J]. Eur Respir J, 2024, 63(1): 2302187

[3] Rani P, Dhok A. Effects of pollution on pregnancy and infants[J]. Cureus, 2023, 15(1): e33906

[4] Hu J Y, Bao Y L, Huang H, et al. The preliminary investigation of potential response biomarkers to PAHs exposure on childhood asthma[J]. J Expo Sci Environ Epidemiol, 2022, 32(1): 82-93

[5] Perera F, Tang W Y, Herbstman J, et al. Relation of DNA methylation of 5'-CpG island of ACSL3 to transplacental exposure to airborne polycyclic aromatic hydrocarbons and childhood asthma[J]. PLoS One, 2009, 4(2): e4488

[6] Xue H, Gao C, Wang R L, et al. Association between gestational nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons exposure burden and newborn sizes: mediating the role of placental 8-OHdG [J]. Environ Health, 2025: envhealth.5c00174

[7] Zhang Y, Yang Y H, Zhang Q, et al. Effect of benzo[a]pyrene-DNA adduct in cord blood on the neurodevelopment of 12-month-old infants in Qingdao City[J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2019, 15: 3351-3357

[8] Linden D A, Einarsson G G. Early-life dysbiosis and Th17 asthma: never is better than late [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2023, 68(5): 467-469

[9] Salameh M, Burney Z, Mhaimeed N, et al. The role of gut microbiota in atopic asthma and allergy, implications in the understanding of disease pathogenesis[J]. Scand J Immunol, 2020, 91(3): e12855

[10] 陆新杰，蔡迎庆，徐孝华. 婴幼儿哮喘相关危险因素初探[J]. 南通大学学报(医学版)，2024，44(1)：91-94
Lu X J, Cai Y Q, Xu X H. Preliminary study on risk factors associated with infantile asthma[J]. Journal of Nantong University(Medical Science), 2024, 44(1): 91-94

[11] Hu J Y, Bao Y L, Zhu Y Q, et al. The preliminary study on the association between PAHs and air pollutants and microbiota diversity [J]. Arch Environ Contam Toxicol, 2020, 79(3): 321-332

[12] Lin Y T, Xu H B, Wang K T, et al. Transcriptomics integrated with metabolomics reveals the effect of benzo[a]pyrene exposure on acute lung injury[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2024, 288: 117323

[13] 贾晓倩，刘晓途，邱爱琴，等. 苯并芘暴露致神经管缺陷代谢组学特征及组蛋白修饰机制的初步研究[J]. 中国生育健康杂志，2025，36(1)：10-17
Jia X Q, Liu X T, Qiu A Q, et al. Preliminary study on metabolomic characteristics and histone modification mecha-

nisms of neural tube defects induced by benzo[a]pyrene exposure [J]. Chinese Journal of Reproductive Health, 2025, 36(1): 10-17

[14] Starrett W, Blake D J. Sulforaphane inhibits de novo synthesis of IL-8 and MCP-1 in human epithelial cells generated by cigarette smoke extract[J]. J Immunotoxicol, 2011, 8(2): 150-158

[15] Wang Y W, Liu H F, Feng Y L, et al. Sulforaphane inhibits LPS-induced macrophage PANoptosis *via* TLR4/NFκB pathway: a potential therapeutic strategy for acute lung injury[J]. Tohoku J Exp Med, 2025, 265(4): 239-248

[16] Zhang L, Wang S X, Zhang Y, et al. Sulforaphane alleviates lung ischemia-reperfusion injury through activating Nrf-2/HO-1 signaling[J]. Exp Ther Med, 2023, 25(6): 265

[17] Wang F P, Chen L L, Zhu S S, et al. Sulforaphane induces apoptosis of acute human leukemia cells through modulation of bax, bcl-2 and caspase-3[J]. International J Pharmacology, 2018, 14(3): 369-376

[18] Sundaram M K, Khan M A, Alalami U, et al. Phytochemicals induce apoptosis by modulation of nitric oxide signaling pathway in cervical cancer cells [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(22): 11827-11844

[19] Cao S Y, Wang L, Zhang Z, et al. Sulforaphane-induced metabolomic responses with epigenetic changes in estrogen receptor positive breast cancer cells[J]. FEBS Open Bio, 2018, 8(12): 2022-2034

[20] Zhao A Q, Li J X, Peterson M, et al. Cooked broccoli alters cecal microbiota and impacts microbial metabolism of glucoraphanin in lean and obese mice [J]. Mol Nutr Food Res, 2025, 69(6): e202400813

[21] Sun Y F, Tang Z C, Hao T T, et al. Simulated digestion and fermentation *in vitro* by obese human gut microbiota of sulforaphane from broccoli seeds [J]. Foods, 2022, 11(24): 4016

[22] Wu H, Bao Y L, Yan T T, et al. PAH-induced metabolic changes related to inflammation in childhood asthma [J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2023, 30(5): 13739-13754

[23] 曹淑源，包玉玲，金 蕊，等. 影响子代哮喘发生的小鼠孕期多环芳烃暴露模型的构建[J]. 现代预防医学，2018，45(13)：2430-2436
Cao S, Bao Y, Jin R, et al. Establishment of a gestational polycyclic aromatic hydrocarbon exposure mouse model affecting the development of offspring asthma[J]. Modern Preventive Medicine, 2018, 45(13): 2430-2436

[24] Lü Y Y, Jiang H J, Li S Y, et al. Sulforaphane prevents chromium-induced lung injury in rats *via* activation of the Akt/GSK-3β/Fyn pathway[J]. Environ Pollut, 2020, 259: 113812

[25] Royce S G, Licciardi P V, Beh R C, et al. Sulforaphane prevents and reverses allergic airways disease in mice *via* anti-inflammatory, antioxidant, and epigenetic mechanisms[J]. Cell Mol Life Sci, 2022, 79(11): 579

[26] Yoon S A, Lim Y, Byeon H R, et al. Heat-killed *Akkermansia muciniphila* ameliorates allergic airway inflammation in mice[J]. Front Microbiol, 2024, 15: 1386428

[27] Zhang L, Lu J J, Liu C H. *Akkermansia muciniphila* ameliorates lung injury in smoke-induced COPD mice by IL-17 and autophagy [J]. Cell Microbiol, 2023, 2023(1): 4091825

[28] Pang W H, Jiang Y, Li A F, et al. Bacteroides thetaiotaomicron ameliorates experimental allergic airway inflammation *via* activation of ICOS(+)tregs and inhibition of Th2 response[J]. Front Immunol, 2021, 12: 620943

[29] Pratomo I P, Noor D R, Kusmardi K, et al. Xanthine oxidase-induced inflammatory responses in respiratory epithelial cells: a review in immunopathology of COVID-19[J]. Int J Inflam, 2021, 2021: 1653392

[30] Hu C Y, Liu M Y, Wan T, et al. Disturbances in microbial and metabolic communication across the gut-liver axis induced by a dioxin-like pollutant: an integrated metagenomics and metabolomics analysis[J]. Environ Sci Technol, 2021, 55(1): 529-537

[31] Zhang Y X, Jing Y C, He J, et al. Bile acid receptor FXR promotes intestinal epithelial ferroptosis and subsequent ILC3 dysfunction in neonatal necrotizing enterocolitis[J]. Immunity, 2025, 58(3): 683-700

[32] Ma S T, Pang X Y, Tian S H, et al. The protective effects of sulforaphane on high-fat diet-induced metabolic associated fatty liver disease in mice *via* mediating the FXR/LXRα pathway [J]. Food Funct, 2022, 13(24): 12966-12982

[33] Shaoyong W, Jin H L, Jiang X, et al. Benzo[a]pyrene-loaded aged polystyrene microplastics promote colonic barrier injury *via* oxidative stress-mediated Notch signalling[J]. J Hazard Mater, 2023, 457: 131820

[34] Teglas T, Marcos A C, Torices S, et al. Circadian control of polycyclic aromatic hydrocarbon-induced dysregulation of endothelial tight junctions and mitochondrial bioenergetics[J]. Sci Total Environ, 2024, 952: 175886

[35] Dasgupta A, Bowman L, D'Arsigny C L, et al. Solu-ble guanylate cyclase: a new therapeutic target for pulmonary arterial hypertension and chronic thromboembolic pulmonary hypertension[J]. Clin Pharmacol Ther, 2015, 97(1): 88-102

[36] Mauliasari I R, Lee H J, Koo S Y, et al. Benzo(a)pyrene and gut microbiome crosstalk: health risk implications[J]. Toxics, 2024, 12(12): 938

[37] Averina O V, Poluektova E U, Marsova M V, et al. Biomarkers and utility of the antioxidant potential of probiotic lactobacilli and bifidobacteria as representatives of the human gut microbiota[J]. Biomedicines, 2021, 9(10): 1340

[38] Singh S B, Carroll-portillo A, Lin H C. Desulfovibrio in the gut: the enemy within?[J]. Microorganisms, 2023, 11(7): 1772

[39] He C X, Gao M F, Zhang X H, et al. The protective effect of sulforaphane on dextran sulfate sodium-induced colitis depends on gut microbial and Nrf2-related mechanism[J]. Front Nutr, 2022, 9: 893344

[40] Brankin B, Mccormack C, Meaney S. Blood retinal barrier tight junction expression modulation by NRF2 agonists[J]. Investi Ophthalmol Vis Sci, 2021, 62(8): 2980-2980

[41] Niu H F, Zhou M F, Zogona D, et al. *Akkermansia muciniphila*: a potential candidate for ameliorating metabolic diseases[J]. Front Immunol, 2024, 15: 1370658

（收稿：2025-09-30；修回：2026-01-16；录用：2026-01-22）
（本文编辑：陈汐敏）

（上接第1635页）

gastrointestinal malignant tumors: a 10-year case review of a single-center[J]. World J Gastrointest Oncol, 2024, 16(4): 1204-1212

[11] Plazas J G, Arias-Martinez A, Lecumberri A, et al. Sex and gender disparities in patients with advanced gastro-esophageal adenocarcinoma: data from the agamenon-seom registry[J]. ESMO Open, 2022, 7(3): 100514

[12] Muto M, Katada C, Yokoyama T, et al. Field effect of alcohol, cigarette smoking, and their cessation on the development of multiple dysplastic lesions and squamous cell carcinoma: a long-term multicenter cohort study[J]. Gastro Hep Adv, 2022, 1(2): 265-276

[13] 贺嘉慧，胡钦勇. 1990—2019年中美两国归因于高BMI的食管癌疾病负担和死亡预测分析[J]. 肿瘤防治研究，2024，51(4)：271-277
HE J H, HU Q Y. Disease burden of esophageal cancer attributable to high BMI and death prediction in China and the United States, 1990-2019[J]. Cancer Research on Prevention and Treatment, 2024, 51(4): 271-277

[14] Kaimila B, Mulima G, Kajombo C, et al. Tobacco and other risk factors for esophageal squamous cell carcinoma in Lilongwe Malawi: results from the Lilongwe esophageal cancer case: control study[J]. PLoS Glob Public Health, 2022, 2(6): e0000135

[15] Middleton D R S, Mmbaga B T, Menya D, et al. Alcohol consumption and oesophageal squamous cell cancer risk in east Africa: findings from the large multicentre ESCCAPE case-control study in Kenya, Tanzania, and Malawi[J]. Lancet Glob Health, 2022, 10(2): e236-e245

[16] Lee H W, Huang D, Shin W K, et al. Frequent low dose alcohol intake increases gastric cancer risk: the health examinees-gem (HEXA-G) study[J]. Cancer Biol Med, 2022, 19(8): 1224-1234

[17] Kim K, Cho Y, Sohn J H, et al. Clinicopathologic characteristics of early gastric cancer according to specific intragastric location[J]. BMC Gastroenterol, 2019, 19(1): 24

[18] Kartsonaki C, Yao P, Butt J, et al. Infectious pathogens and risk of esophageal, gastric and duodenal cancers and ulcers in China: a case-cohort study[J]. Int J Cancer, 2024, 154(8): 1423-1432

[19] 吴矛矛，叶振淼，吴沥豪，等. 2014—2023年浙江省温州市户籍居民胃癌发病趋势分析[J]. 上海预防医学，2026，38(1)：63-66
Wu M M, Ye Z M, Wu L H, et al. Trend analyses of gastric cancer incidence among the registered residents in Wenzhou, Zhejiang Province from 2014 to 2023[J]. Shanghai J Prev Med, 2026, 38(1): 63-66

[20] 康华丽，王　宁，刘俊玲，等. 早期胃癌患者经内镜黏膜下剥离术后并发感染的相关危险因素及临床病理分析[J]. 中国病原生物学杂志，2025，20(6)：739-743
Kang H L, Wang N, Liu J L, et al. Analysis of related risk factors and clinicopathological features for complications and infections in patients with early gastric cancer after endoscopic submucosal dissection[J]. Journal of Pathogen Biology, 2025, 20(6): 739-743

[21] 张晓彬，刘　鹏，刘智超，等. Ⅰ期食管鳞癌的生物学特征和外科治疗结果[J]. 上海交通大学学报(医学版)，2021，41(2)：202-209
Zhang X B, Liu P, Liu Z C, et al. Biological characteristics and surgical treatment results of stage I esophageal squamous cell carcinoma[J]. Journal of Shanghai Jiaotong University Medical Science, 2021, 41(2): 202-209

[22] Katada C, Yokoyama T, Yano T, et al. Alcohol consumption and multiple dysplastic lesions increase risk of squamous cell carcinoma in the esophagus, head, and neck[J]. Gastroenterology, 2016, 151(5): 860-869

[23] Liu M, Yang W, Guo C, et al. Effectiveness of endoscopic screening on esophageal cancer incidence and mortality: a 9-year report of the Endoscopic Screening for Esophageal Cancer in China (ESECC) randomized trial[J]. J Clin Oncol, 2024, 42(14): 1655-1664

（收稿：2026-05-14；修回：2026-09-05；录用：2026-09-07）
（本文编辑：唐　震）