

·实验研究·

单心室患儿肠道菌群结构特征分析

孙崇蕊 张明杰 徐卓明



【摘要】 目的 通过 Illumina 高通量测序技术提取单心室和双心室患儿粪便样本中细菌总 DNA, 比较两组患儿肠道菌群的异同。 **方法** 选取在本院行全腔静脉肺动脉连接术的单心室患儿 20 例 (男 11 例, 女 9 例, 年龄 3 ~ 10 岁) 作为单心室组, 选取同期在本院性别相同、年龄 (± 1 岁) 相匹配的双心室患儿作为双心室组, 收集患儿粪便标本并提取样本中细菌的 DNA, 进行 16S rRNA 高通量测序, 获得肠道菌群结构数据。 **结果** 在 OTU (operational taxonomic units) 水平上, 单心室组和双心室组的丰富度指数 (Ace: 190.88 vs. 201.28 和 Cho: 188.27 vs. 201.90)、多样性指数 (Shannon: 3.140 vs. 3.090 和 Simpson: 0.109 vs. 0.110)、覆盖率指数 (Coverage: 0.999 vs. 0.999) 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。门水平上两组均以厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门、放线菌门为主要优势菌群, 其中蓝细菌门构成比存在统计学差异 ($P < 0.05$)。在属水平上, 两组共检测到 224 种不同菌属, 其中柔嫩梭菌属 (9.55% vs. 14.91%), 韦荣氏球菌属 (3.08% vs. 0.50%), *Lachnoclostridium* (1.02% vs. 2.12%), 罗斯伯里氏菌属 (0.62% vs. 2.51%), 嗜胆菌属 (0.25% vs. 0.05%), 放线菌属 (0.312% vs. 0.008%) 等菌属的构成比存在统计学差异 ($P < 0.05$)。 **结论** 单心室患儿与双心室患儿相比, 菌群多样性指数无明显差异, 但是菌群结构上发生了一些变化, 在门水平、属水平均存在差异。

【关键词】 单心室; 心脏病/先天性; 肠道菌群; 高通量测序

Structure of gut microbiota in children with single ventricle physiology. Sun Chongrui, Zhang Mingjie, Xu Zhuoming. Department of Cardiothoracic Surgery, Shanghai Children's Medical Center, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200127, China. Corresponding author: Xu Zhuoming, Email: zmxyfb@163.com.

【Abstract】 Objective Total DNA of stool samples was extracted from children with single and bi-ventricle physiology by Illumina high-throughput sequencing technology and the differences of intestinal microbiota between two groups were compared. **Methods** Twenty cases of single-ventricle children (11 males, 9 females, age of 3 ~ 10 years) undergoing total cavopulmonary connection were selected as single-ventricle group while 20 bi-ventricle children of matching gender and age (± 1 year) as bi-ventricle group. Total bacterial DNA was extracted from stool samples of two groups and 16S rRNA gene was sequenced by high-throughput sequencing. Then the structural data of intestinal microflora were obtained. **Results** At the level of operational taxonomic units, no significant inter-group difference existed in richness index (Ace: 190.88 vs. 201.28 and Cho: 188.27 vs. 201.90), diversity index (Shannon: 3.140 vs. 3.090 and Simpson: 0.109 vs. 0.110) and coverage index (coverage: 0.999 vs. 0.999) of gut microbiota ($P > 0.05$). The predominant 4 phyla of intestinal microbiota were Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria and Actinobacteria. In addition, Cyanobacteria had significant inter-group difference ($P < 0.05$). A total of 224 different genera of bacteria were obtained in two groups, among which *Faecalibacterium* (9.55% vs. 14.91%), *Veillonella* (3.08% vs. 0.50%), *Lachnoclostridium* (1.02% vs. 2.12%), *Roseburia* (0.62% vs. 2.51%), *Bilophila* (0.25% vs. 0.05%) and *Actinomyces* (0.312% vs. 0.008%) had significant inter-group difference ($P < 0.05$). **Conclusion** No significant difference exists in diversity index of gut microbiota between single and double-ventricle groups. However, the structure of intestinal microbiota has changed in some specific bacteria.

【Key words】 Single Ventricle; Heart Disease/CN; Gut Microbiota; High-throughput sequencing

DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2018.08.015

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81771934)

作者单位: 上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心心胸外科 (上海市, 200127)

通讯作者: 徐卓明, Email: zmxyfb@163.com

单心室患儿的体循环和肺循环唯一的动力来源是单一心室。这一特殊的血流动力学特征常引起全身静脉压增高, 导致肠道黏膜淤血、缺氧, 肠道

蛋白丢失,乳糜胸,慢性心力衰竭等,严重影响患儿的生活质量^[1-3]。目前已有研究显示单心室患儿存在一定程度的全身炎症反应^[4,5]。近年来,越来越多的研究发现人类的多种疾病和肠道菌群密切相关^[6-9]。目前,尚没有关于该类患儿肠道菌群的相关研究。本研究分别提取单心室患儿和双心室患儿粪便样本中细菌的总DNA,利用高通量测序技术,比较两组患儿肠道菌群的异同,初步探索单心室患儿中肠道菌群的变化。

材料与方法

一、临床资料

选取20例在本院行全腔静脉肺动脉连接术(又称Fontan术)的单心室患儿作为研究对象,选取同期本院20例与其在性别(相同)、年龄(± 1 岁)相匹配的双心室患儿作为对照组,双心室患儿为房间隔缺损($n=5$)、室间隔缺损($n=10$)、室间隔缺损合并房间隔缺损($n=4$)和动脉导管未闭($n=1$)等简单先天性心脏病(除外合并肺动脉高压者)。排除标准:①先天性遗传代谢性疾病者;②监护人拒绝参与者;③入组前3个月内使用过抗生素或使用过任何益生菌制剂者;④入组前1周饮食大幅变化者;⑤粪便收集有尿液等污染者。

二、研究方法

患儿监护人签署知情同意后,收集患儿粪便标本,用无菌勺挖取(黄豆大小)粪便中段没有接触空气和底面的部分,放入无菌采样管并做标记,立刻干冰保存,30 min内置于 -80°C 冰箱冷藏层,干冰

寄送至实验室,提取细菌总DNA后进行16S rDNA基因V3-V4区高通量测序,测序结果进行生物信息学分析。

三、统计学处理

1. 数据处理:采用SPSS 22.0进行统计学分析。正态分布的计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组比较时采用 t 检验;非正态分布的计量资料采用中位数和四分位间距表示,两组比较采用Wilcoxon秩和检验。计数资料两组间比较采用 χ^2 检验。以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2. 生物信息学分析:通过I-Sanger生物信息云平台,应用Wilcoxon秩和检验对测序数据进行统计学分析。

结果

一、基本情况

单心室患儿与双心室患儿平均年龄分别为(7.41 ± 1.61)岁和(7.15 ± 1.95)岁,差异无统计学意义($t=0.524$, $P=0.650$)。两组患儿中男童均为11例,女童均为9例。两组患儿的年龄别体重Z评分(weight for age z-score, WAZ)、年龄别身高Z评分(height for age z-score, HAZ)和体重指数(body mass index, BMI)差异无统计学意义($P>0.05$)。单心室组有17例氨基末端脑钠肽前体(NT-proBNP) >125 pg/mL,双心室组有3例患儿NT-proBNP >125 pg/mL,差异有统计学意义($P<0.05$),具体见表1。

表1 单心室组和双心室组患儿一般情况比较

Table 1 Comparison of basic profiles between two groups

特征	例数	性别(例)		年龄(y)	WAZ	HAZ	BMI	NT-proBNP >125 pg/mL [n(%)]
		男	女					
单心室组	20	11	9	7.41 ± 1.61	-0.57 ± 0.63	-0.19 ± 0.42	14.75 ± 2.84	17(85.0)
双心室组	20	11	9	7.15 ± 1.95	-0.10 ± 0.80	0.18 ± 0.60	14.75 ± 1.75	3(15.0)
t/χ^2 值		0.000		0.524	0.514	1.150	0.311	19.600
P 值		1.000		0.650	0.607	0.250	0.756	<0.001

注:WAZ:年龄别体重Z评分;HAZ:年龄别身高Z评分;BMI:体重指数;NT-proBNP:氨基末端脑钠肽前体

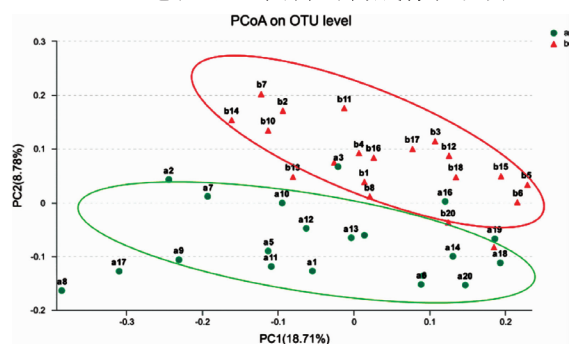
二、单、双心室患儿肠道菌群多样性

1. Alpha多样性:样本微生物Alpha多样性比较常用指数有:丰富度指数(Ace指数和Cho指数),多样性指数(Shannon指数和Simpson指数),覆盖率指数(coverage)。在OTU(operational taxonomic units)水平上,单心室组和双心室组的丰富度指数(Ace:

190.88 vs. 201.28 和 Cho:188.27 vs. 201.90)、多样性指数(Shannon:3.140 vs. 3.090 和 Simpson:0.109 vs. 0.110)、覆盖率指数(Coverage:0.999 vs. 0.999)差异均无统计学意义($P>0.05$)。

2. Beta多样性:OTU水平上,基于unweighted_unifrac距离算法的PCoA分析(principal co-ordinates

analysis,主坐标分析)比较两组患儿肠道菌群 Beta 多样性,其中 PC1 和 PC2 分别为 18.71%和8.78%。图1显示两组患儿肠道菌群的构成存在差异。



注: a1~a20: 单心室组各样本; b1~b20: 双心室组各样本;
PC1: 主成分1造成两组样本差异的贡献率为18.71%,
PC2: 主成分2造成两组样本差异的贡献率为8.78%。

图1 单、双心室患儿肠道菌群 Beta 多样性

Fig.1 Beta diversity of gut microbiota between single and bi-ventricle groups

三、单、双心室患儿肠道菌群构成差异

1. 门水平:门水平上共获得13个不同的菌门,其中单心室组13个,双心室组11个。单心室组和双心室组主要有厚壁菌门(*Firmicutes*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、变形菌门(*Proteobacteria*)和放线菌门(*Actinobacteria*)等,其中蓝细菌门(*Cyanobacteria*)构成比在两组患儿中存在统计学差异($P < 0.05$) (图2)。

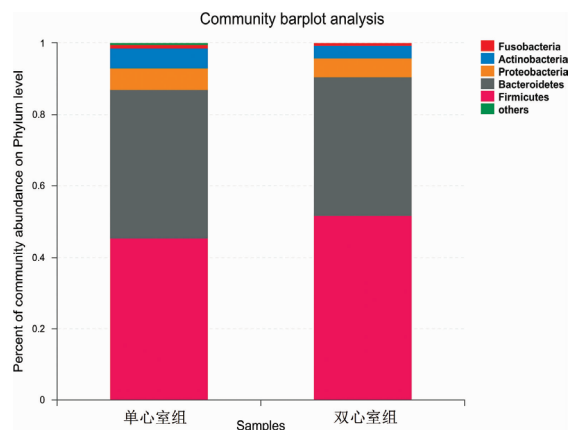


图2 门水平上单、双心室患儿肠道菌群组成

Fig.2 Percent of community abundance at phylum level between single and bi-ventricle groups

2. 属水平:属水平上共获得224个不同的菌属,其中单心室组194个,双心室组202个。单心室组和双心室组主要有拟杆菌属(*Bacteroides*)、柔嫩梭菌属(*Faecalibacterium*)、*Parabacteroides*、双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)、巨单胞菌属(*Megamonas*)、埃希氏菌属-志贺氏菌属(*Escherichia-Shigella*)、韦荣氏球菌属(*Veillonella*)、*Blautia*、巨球形菌属(*Megas-*

phaera)、*[Eubacterium]_rectale_group*、*Prevotella_9*、罗斯伯里氏菌属(*Roseburia*)和*Lachnoclostridium*等(图3)。其中柔嫩梭菌属(9.55% vs. 14.91%),韦荣氏球菌属(3.08% vs. 0.50%),*Lachnoclostridium*(1.02% vs. 2.12%),罗斯伯里氏菌属(0.62% vs. 2.51%),嗜胆菌属(*Bilophila*;0.25% vs. 0.05%),放线菌属(*Actinomyces*;0.312% vs. 0.008%)等菌属的构成比存在统计学差异($P < 0.05$) (图4)。

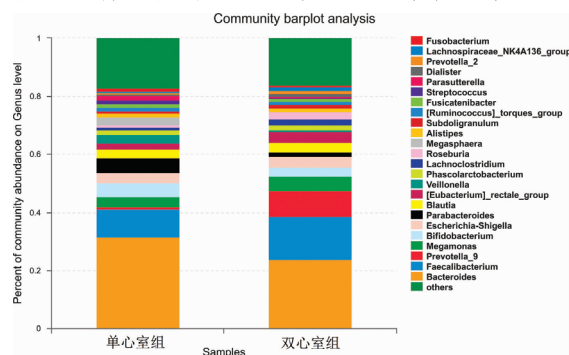


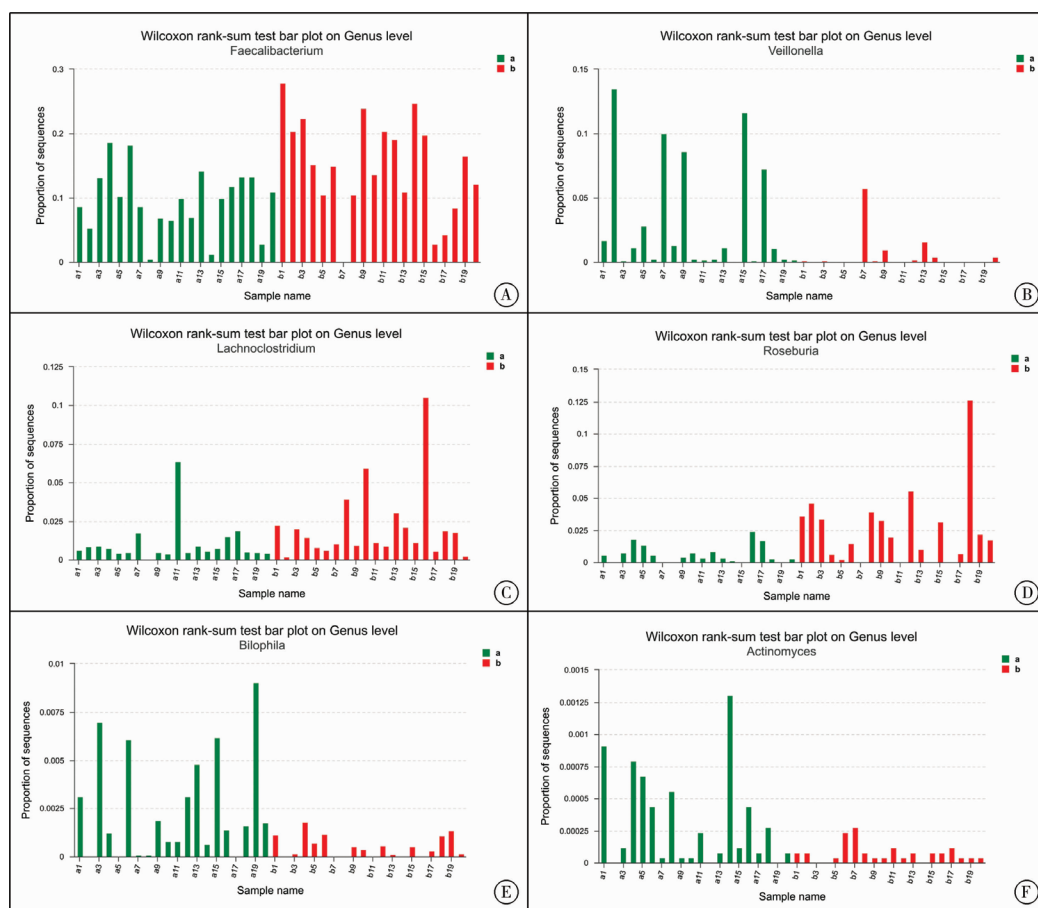
图3 属水平上单、双心室患儿肠道菌群组成

Fig.3 Percent of community abundance at genus level between single and bi-ventricle groups

讨论

单心室是先天性心脏病中最为复杂的心脏畸形,它只有一个有功能的心室,同时接受体循环和肺循环的血流,发病比例占先天性心脏病的1.5%左右,自然生存率<50%^[10]。该类患儿经过Fontan术后,可以长期存活。房间隔缺损、室间隔缺损以及动脉导管未闭等简单的先天性心脏病经过手术治疗后血流动力学与正常儿童并无差别。但单心室患儿术后具有特殊的Fontan循环,其血流动力学与双心室患儿不同。Fontan循环,是腔静脉回流的静脉血直接进入肺循环然后进行氧合,并不经过心脏^[11]。Ostrow等^[12]研究表明,单心室组中炎症标志物肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)和C-反应蛋白较高。Whiteside等^[13]研究表明,存在慢性充血性心力衰竭、长期心输出量较低者,炎症标志物TNF升高,单心室患儿由于具有特殊的血流动力学(Fontan循环),可能存在一定程度的全身炎症反应。

因此,单心室患儿经过手术治疗后,虽然得以存活,但是术后Fontan循环引起全身静脉压增高,肠道黏膜淤血、缺氧,肠黏膜通透性增加,慢性心力衰竭以及激发的全身炎症反应等均可能引起单心室患儿的肠道菌群结构发生改变,影响患儿的生活质量^[2-5]。



注: 横坐标a1~20: 单心室组, b1~20: 双心室组

图4 A:单、双心室组柔嫩梭菌属(*Faecalibacterium*)丰度差异柱状图 B:单、双心室组韦荣氏球菌属(*Veillonella*)丰度差异柱状图 C:单、双心室组*Lachnoclostridium*丰度差异柱状图 D:单、双心室组罗斯伯里氏菌属(*Roseburia*)丰度差异柱状图 E:单、双心室组嗜胆菌属(*Bilophila*)丰度差异柱状图 F:单、双心室组放线菌属(*Actinomyces*)丰度差异柱状图

Fig.4 A:Relative abundance of bacterial genera *Faecalibacterium* between single and bi-ventricle groups B:Relative abundance of the bacterial genera *Veillonella* between single and bi-ventricle groups C:Relative abundance of bacterial genera *Lachnoclostridium* between single and bi-ventricle groups D:Relative abundance of bacterial genera *Roseburia* between single and bi-ventricle groups E:Relative abundance of bacterial genera *Bilophila* between single and bi-ventricle groups F:Relative abundance of bacterial genera *Actinomyces* between single and bi-ventricle groups

本研究对单心室和双心室患儿肠道菌群的差异性分析发现,门水平上,两组患儿粪便菌群均以厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门、放线菌门为主要优势菌群。这与其他研究中健康儿童粪便的主要优势菌群相似^[8,14]。本研究发现,蓝细菌门在两组患儿中所占比例差异有统计学意义($P < 0.05$),但未发现该菌门下的菌属有明显差异。

在属水平上,单心室患儿粪便样本中韦荣氏球菌属、嗜胆菌属和放线菌属丰度明显高于双心室患儿;柔嫩梭菌属、*Lachnoclostridium*、罗斯伯里氏菌属丰度明显低于双心室患儿。以上6种菌属为两组患儿粪便样本中的主要特征性差异细菌种类。

Toscano等^[15]认为韦荣氏球菌属对宿主免疫系统具有负性调节作用。其通过诱导肠上皮细胞释放促炎性细胞因子引起炎症反应。而本研究中该

类患儿韦荣氏球菌属丰度的增高一方面可能反映了单心室患儿肠道炎症性反应的存在,另一方面可能促进了肠道炎症性反应的发生,不利于患儿肠道功能。

有研究显示柔嫩梭菌属在克罗恩病、溃疡性结肠炎等疾病人群的肠道中减少,而其在体内和体外均具有抗炎作用^[16-17]。因此单心室患儿肠道中柔嫩梭菌属比例的降低也可能加重肠道的炎症反应。

罗斯伯里氏菌属的代谢产物丁酸盐可为结肠提供能量、促进结肠运动且能够提高肠黏膜的屏障功能。此外,其可通过下调促炎性细胞因子起到免疫调节和抗炎作用^[18]。此类菌属还可产生多胺,而多胺为维持肠上皮细胞功能必不可少的物质^[19]。有研究发现罗斯伯里氏菌属在炎症性肠病的人群肠道中减少^[20,21]。本研究中单心室患儿粪便中此类菌属丰度明显低于双心室患儿。因此,其丰度的

降低亦能参与了单心室患儿肠道的炎性反应。

此外,Zhao 等^[22]研究发现 *Lachnospirillum* 在高脂饮食的肥胖小鼠粪便中比例较高。本研究发现单心室患儿粪便中 *Lachnospirillum* 丰度低于双心室患儿,该类菌属的差异可能与为预防单心室患儿乳糜胸的发生和及时补充肠道丢失的蛋白,需常规给予低高链脂肪高蛋白饮食等特殊的饮食要求有关。其在单心室患儿肠道中的作用有待于进一步研究证实。嗜胆菌属、放线菌属的增加也不利于宿主的健康^[23]。而本研究中单心室患儿以上两类菌属丰度均高于双心室患儿。

总之,单心室患儿与双心室患儿相比,菌群多样性指数无明显差异,但是菌群结构上发生了一些变化。其肠道中韦荣氏球菌属丰度的增高,柔嫩梭菌属、罗斯伯里氏菌属比例的降低可能加重肠道的炎性反应,不利于单心室患儿的肠道功能。本研究为改善单心室患儿生活质量,尤其是肠道功能的改善提供了新的思路和手段。在未来的研究中如果可以诱导单心室患儿肠道菌群结构改善优化,那么可能会减轻其肠道的炎症反应,保护肠黏膜,有利于营养物质的吸收。

由于本研究旨在对单心室患儿肠道菌群结构进行初步探索,样本量有限且属于横断面研究,尚需大样本前瞻性研究来探究单心室患儿的肠道菌群结构,以期揭示特定肠道菌群模式或特定致病菌在单心室患儿中的关键作用,为改善其生活质量提供新的思路和方法。

参考文献

- Patel JK, Loomes KM, Goldberg DJ, et al. Early impact of Fontan operation on enteric protein loss [J]. Ann Thorac Surg, 2016, 101 (3): 1025 - 1030. DOI: 10. 1016/j. athoracsurg. 2015. 09. 036.
- Hsu DT. The Fontan operation: the long-term outlook [J]. Curr Opin Pediatr, 2015, 27 (5): 569 - 575. DOI: 10. 1097/MOP. 0000000000000271.
- Ohuchi H. Adult patients with Fontan circulation: What we know and how to manage adults with Fontan circulation? [J]. J Cardiol, 2016, 68 (3): 181 - 189. DOI: 10. 1016/j. jjcc. 2016. 04. 001.
- Rychik J, Goldberg D, Rand E, et al. End-organ consequences of the Fontan operation: liver fibrosis, protein-losing enteropathy and plastic bronchitis [J]. Cardiol Young, 2013, 23 (6): 831 - 840. DOI: 10. 1017/S1047951113001650.
- Tomkiewicz-Pajak L, Wojcik T, Chłopicki S, et al. Aspirin resistance in adult patients after Fontan surgery [J]. Int J Cardiol, 2015, 181: 19 - 26. DOI: 10. 1016/j. ijcard. 2014. 11. 219.
- Knoll RL, Forslund K, Kultima JR, et al. Gut microbiota differs between children with inflammatory bowel disease and healthy siblings in taxonomic and functional composition: a metagenomic analysis [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2017, 312 (4): G327 - G339. DOI: 10. 1152/ajpgi. 00293. 2016.
- Blanton LV, Barratt MJ, Charbonneau MR, et al. Childhood undernutrition, the gut microbiota, and microbiota-directed therapeutics [J]. Science, 2016, 352 (6293): 1533 - 1533. DOI: 10. 1126/ science. aad9359.
- Riva A, Borgo F, Lassandro C, et al. Pediatric obesity is associated with an altered gut microbiota and discordant shifts in Firmicutes populations [J]. Environ Microbiol, 2017, 19 (1): 95 - 105. DOI: 10. 1126/ science. aad9359.
- Kitai T, Kirsop J, Tang WH. Exploring the microbiome in heart failure [J]. Curr Heart Fail Rep, 2016, 13 (2): 103 - 109. DOI: 10. 1007/s11897-016-0285-9.
- Samánek M. Children with congenital heart disease: probability of natural survival [J]. Pediatr Cardiol, 1992, 13 (3): 152 - 158.
- Ohuchi H. Where Is the "optimal" Fontan hemodynamics? [J]. Korean Circ J, 2017, 47 (6): 842 - 857. DOI: 10. 4070/kej. 2017. 0105.
- Ostrow AM, Freeze H, Rychik J. Protein-losing enteropathy after Fontan operation: investigations into possible pathophysiologic mechanisms [J]. Ann Thorac Surg, 2006, 82 (2): 695 - 700.
- Whiteside W, Tan M, Ostlund RE Jr, et al. Altered cholesterol metabolism and hypocholesterolemia in patients with single ventricle following Fontan palliation [J]. J Pediatr, 2016, 171: 73 - 77. DOI: 10. 1016/j. jpeds. 2015. 12. 038.
- 陈鹏德, 林燕, 杨洁, 等. 过敏性紫癜患儿肠道菌群结构及多样性研究 [J]. 中国妇幼健康研究, 2017, 28 (7): 747 - 757. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673 - 5293. 2017. 07. /201.
- Chen PD, Lin Y, Yang J, et al. Structure and diversity of intestinal flora in children with Henoch-Schönlein purpura [J]. Chinese Journal of Woman and Child Health Research, 2017, 28 (7): 747 - 757. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673 - 5293. 2017. 07. /201.
- Toscano M, De Grandi R, Miniello VL, et al. Ability of *Lactobacillus kefir* LKF01 (DSM32079) to colonize the intestinal environment and modify the gut microbiota composition of healthy individuals [J]. Dig Liver Dis, 2017, 49 (3): 261

- 267. DOI:10.1016/j.dld.2016.11.011.
- 16 Takahashi K, Nishida A, Fujimoto T, et al. Reduced Abundance of Butyrate-Producing Bacteria Species in the Fecal Microbial Community in Crohn's Disease [J]. *Digestion*, 2016, 93(1):59-65. DOI:10.1159/000441768.
 - 17 Machiels K, Joossens M, Sabino J, et al. A decrease of the butyrate-producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis [J]. *Gut*, 2014, 63(8):1275-83. DOI:10.1136/gutjnl-2013-304833.
 - 18 Tamanai-Shacoori Z, Smida I, Bousarghin L, et al. *Roseburia* spp.: a marker of health? [J]. *Future Microbiol*, 2017, 12:157-170. DOI:10.2217/fmb-2016-0130.
 - 19 Borgo F, Riva A, Benetti A, et al. Microbiota in anorexia nervosa: The triangle between bacterial species, metabolites and psychological tests [J]. *PLoS One*, 2017, 12(6):e0179739-e0179739. DOI:10.1371/journal.pone.0179739. eCollection 2017.
 - 20 Chen L, Wang W, Zhou R, et al. Characteristics of fecal and mucosa-associated microbiota in Chinese patients with inflammatory bowel disease [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2014, 93(8):e51. DOI:10.1097/MD.0000000000000051.
 - 21 Machiels K, Sabino J, Vandermosten L, et al. Specific members of the predominant gut microbiota predict pouchitis following colectomy and IPAA in UC [J]. *Gut*, 2017, 66(1):79-88. DOI:10.1136/gutjnl-2015-309398.
 - 22 Zhao L, Zhang Q, Ma W, et al. A combination of quercetin and resveratrol reduces obesity in high-fat diet-fed rats by modulation of gut microbiota [J]. *Food Funct*, 2017, 8(12):4644-4656. DOI:10.1039/c7fo01383c.
 - 23 Vandeputte D, Falony G, Vieira-Silva S, et al. Prebiotic inulin-type fructans induce specific changes in the human gut microbiota [J]. *Gut*, 2017, 66(11):1968-1974. DOI:10.1136/gutjnl-2016-313271.

(收稿日期:2018-01-22)

本文引用格式:孙崇蕊,张明杰,徐卓明.单心室患儿肠道菌群结构特征分析[J].临床小儿外科杂志,2018,17(8):620-625. DOI:10.3969/j.issn.1671-6353.2018.08.015.

Citing this article as: Sun CL, Zhang MJ, Xu ZM. Structure of gut microbiota in children with single ventricle physiology [J]. *J Clin Ped Sur*, 2018, 17(8):620-625. DOI:10.3969/j.issn.1671-6353.2018.08.015.

(上接第599页)

- 5 Inoue Y, Arita J, Sakamoto T, et al. Anatomical liver resections guided by 3-dimensional parenchymal staining using fusion indocyanine green fluorescence imaging [J]. *Annals of surgery*, 2015, 262(1):105-111. DOI:10.1097/SLA.0000000000000775.
- 6 王宏光,陈明易,许寅喆.吲哚菁绿荧光融合影像引导的腹腔镜解剖性肝切除术[J].中华普外科手术学杂志(电子版),2017,11(05):372. DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-3946.2017.05.004.
Wang RG, Chen MY, Xu YZ. Laparoscopic anatomical liver resections guided by fusion indocyanine green fluorescence imaging [J]. *Chinese Journal of Operative Procedures of General Surgery (Electronic Edition)*, 2017, 11(05):372. DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-3946.2017.05.004.
- 7 Ishizawa T, Fukushima N, Shibahara J, et al. Real-time identification of liver cancers by using indocyanine green fluorescent imaging [J]. *Cancer*, 2009, 115(11):2491-2504. DOI:10.1002/cncr.24291.
- 8 王宏光.吲哚菁绿荧光融合影像引导下腹腔镜解剖性肝切除术一例[J].肝癌电子杂志,2017,4(01):56-58. DOI:10.3969/j.issn.2095-7815.2017.01.010.
Wang RG. Laparoscopic anatomical liver resection guided by fusion indocyanine green fluorescence imaging: one case report [J]. *Electronic Journal of Liver Tumor*, 2017, 4(01):56-58. DOI:10.3969/j.issn.2095-7815.2017.01.010.
- 9 Miyata A, Ishizawa T, Tani K, et al. Reappraisal of a dye-staining technique for anatomic hepatectomy by the concomitant use of indocyanine green fluorescence imaging [J]. *J Am Coll Surg*, 2015, 221(2):e27-e36. DOI:10.1016/j.jamcollsurg.2015.05.005.
- 10 Wakabayashi G, Cherqui D, Geller DA, et al. Recommendations for laparoscopic liver resection: a report from the second international consensus conference held in Morioka [J]. *Annals of Surgery*, 2015, 261(4):619-629. DOI:10.1097/SLA.0000000000001184.

(收稿日期:2018-05-24)

本文引用格式:彭宇明,尹强,高红强,等.吲哚菁绿荧光染色引导下解剖性右半肝切除治疗儿童肝脏肿瘤[J].临床小儿外科杂志,2018,17(8):597-599. DOI:10.3969/j.issn.1671-6353.2018.08.010.

Citing this article as: Peng YM, Yin Q, Gao HQ, et al. Anatomic right half of indocyanine green fluorescence staining hepatectomy for children with liver tumors [J]. *J Clin Ped Sur*, 2018, 17(8):597-599. DOI:10.3969/j.issn.1671-6353.2018.08.010.