

肺部微生物在早产儿支气管肺发育不良中的作用研究进展

吴雯侠^{1,2,3,4,5}, 李芳^{1,2,3,4,5*}

¹重庆医科大学附属儿童医院新生儿中心, 重庆

²儿科学重庆市重点实验室, 重庆

³儿童发育疾病研究教育部重点实验室, 重庆

⁴国家儿童健康与疾病临床医学研究中心, 重庆

⁵儿童发育重大疾病国家国际科技合作基地, 重庆

收稿日期: 2022年2月23日; 录用日期: 2022年3月15日; 发布日期: 2022年3月28日

摘要

支气管肺发育不良(Bronchopulmonary dysplasia BPD)是早产儿严重并发症之一, 其病因、发病机制尚不明确。近年来, 随着微生物测序技术和生态学理论的发展, 肺部微生物受到研究者的关注, 并被发现可能与BPD发生发展相关。本文就近期关于生命早期肺部微生物定植的相关证据及其在早产儿支气管肺发育不良中作用的相关研究进展进行综述及展望。

关键词

支气管肺发育不良, 早产儿, 呼吸道, 微生物

Lung Microbiome and Bronchopulmonary Dysplasia in Preterm Infants

Wenxia Wu^{1,2,3,4,5}, Fang Li^{1,2,3,4,5*}

¹Department of Neonatology, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing

²Chongqing Key Laboratory of Pediatrics, Chongqing

³Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders, Chongqing

⁴National Clinical Research Center for Child Health and Disorder, Chongqing

⁵China International Science and Technology Cooperation Base of Child Development and Critical Disorders, Chongqing

Received: Feb. 23rd, 2022; accepted: Mar. 15th, 2022; published: Mar. 28th, 2022

*通讯作者 Email: rematalili@163.com

文章引用: 吴雯侠, 李芳. 肺部微生物在早产儿支气管肺发育不良中的作用研究进展[J]. 临床医学进展, 2022, 12(3): 2232-2240. DOI: 10.12677/acm.2022.123321

Abstract

Bronchopulmonary dysplasia (BPD) is one of the intractable complications in preterm infants, while its etiology and pathogenesis are still unclear. Recently, the association between lung microbiome and BPD has been widely studied, thanks to the advancements in sequencing technology and theoretical microbial ecology. This review summarizes the latest evidence on the microorganism colonization in the respiratory tract in early life and the correlation between lung microbiome and BPD.

Keywords

Bronchopulmonary Dysplasia, Preterm Infants, Respiratory Tract, Microbiome

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

支气管肺发育不良(bronchopulmonary dysplasia, BPD)是早产儿中常见的严重并发症之一, 由Northway 等人[1]于 1967 年首次提出, 表现为肺发育停滞及肺微血管发育不良, 其发生发展与早产儿肺部炎症、损伤及异常修复有关, 可继发于产前和产后感染、氧中毒等因素[2] [3]。然而, 即使经过了半个世纪的研究, BPD 的发病机制尚不完全清楚[4] [5]。

微生物在人类体内广泛定植, 目前被认为具有维持机体健康、调节机体功能, 影响疾病状态等作用[6]。近年来, 随着微生物测序技术和生态学理论的发展[7] [8], 研究发现肺部微生态同样与宿主的健康和疾病状态息息相关[9], 曾经被认为是“无菌”的肺部也存在微生物定植, 并与肺部的炎症、免疫的调节有关[10] [11]。同时, 关于新生儿肺部微生物的来源、定植、演替, 以及其与 BPD 的关系也逐渐受到国内外研究者的广泛关注。本文拟就近期关于生命早期肺部微生物定植的相关证据及肺部微生物在早产儿支气管肺发育不良发生中作用的相关研究进展进行综述及展望。

2. 生命早期肺部微生物定植

生命早期定植的微生物影响着宿主远期的健康状态[12]。越来越多的研究证实生后不久的新生儿的肺部就已存在微生物的定植, 并随着日龄增加, 在数量上逐渐增多, 进而形成门或属上相对稳定的微生物组成。然而, 微生物在新生儿肺部的分布以及演变在不同研究中存在差异[13] [14] [15]。

研究显示, 生后早期肺部微生物组成在门的水平上以厚壁菌门或变形菌门为主, 在属的水平上, 以葡萄球菌属或不动杆菌属为主, 也有许多实验在标本中检测到解脲支原体占较大比例。Mourani 等人[16]对 10 名插管早产儿的气管抽吸物的进行分析, 发现在出生后第 1 个月采集的 32 份样本中, 有 31 份存在优势菌, 其中最常见的是葡萄球菌, 其次为解脲支原体。这与 Payne 等人、Imamura 等人和 Gallacher 等人的发现相似。Payne 等人[17]发现溶血性链球菌为标本中最常见的微生物, 并且在约一半的标本中存在解脲支原体。Imamura 等人[18]分析了 169 名极早早产儿的气管抽吸物, 发现凝固酶阴性葡萄球菌是其中最常见的细菌。Gallacher 等人[13]同样发现, 所有呼吸道样本均以是变形菌门和厚壁菌门为主, 其中葡

萄球菌属是其中最主要的菌属。然而 Lohmann 等人[15]关于 25 名早产儿器官抽吸物的研究结果与前面几个研究不同, 他们发现变形菌门里的不动杆菌属是实验样本中主要菌属(见表 1)。

Table 1. Microbiota composition in different studies

表 1. 不同研究中菌群组成

作者	年份	地点	样本特征	生后菌群主要组成
Payne	2010	双中心(安妮公主新生儿重症监护病房, 圣玛丽新生儿重症监护病房)	55 名出生体重 < 1300 克且需要机械通气的早产儿(生后 5 天内气管抽吸物)	1. 变性梯度凝胶电泳: 最常见的微生物是溶血性链球菌; 2. 聚合酶链式反应: 在大约一半的样本中检测到了解脲支原体。
Lohmann	2014	德克萨斯州儿童医院新生儿重症监护病房	25 名胎龄 ≤ 32 周且生后 24 小时内插管的早产儿(插管时、3、7 和 28 日龄时气管抽吸物)	不动杆菌属是所有婴儿出生时呼吸道中的主要菌属。
Lal	2016	伯明翰区新生儿重症监护病房	出生后 6 小时内机械通气的 23 名极低出生体重儿和 10 名早产儿(1~7 天、8~21 天、21~40 天、41~60 天、>60 天气管抽吸物)	低出生体重儿和足月儿在生后第 1 天都以厚壁菌门和变形菌门为主, 且两组之间多样性无差异。
Wagner	2017	双中心(科罗拉多大学安楚医学校区, 印第安纳大学医学院)	152 名胎龄 ≤ 34 周、出生体重 500~1250 克且需要机械通气的早产儿(入组时、7、14 和 21 日龄时采集气管抽吸物)	1. 葡萄球菌和解脲支原体是呼吸道菌群主要组成; 2. 出生后第一天内葡萄球菌较少, 解脲支原体相对丰度较高。
Imamura	2017	日本福岛医科大学医院新生儿重症监护病房	169 名胎龄 ≤ 28 周, 生后立即气管插管的早产儿(每周 2 次采集气管抽吸物)	最常检出的细菌依次为凝固酶阴性葡萄球菌(CoNS)、粪肠球菌(EF)、革兰阴性杆菌(GNR)和甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA)。
Gallacher	2020	双中心(威尔斯大学医院, 北布里斯托尔信托医院)	55 名 ≤ 32 周且需要机械通气的早产儿(第 1 周每天, 然后每周 2 次或直到拔管, 收集气管抽吸物、支气管灌洗液和鼻咽分泌物)	1. 门水平上: 所有样本均以是变形菌门和厚壁菌门为主。 2. 属水平上: 葡萄球菌是近 30% 样本中的主要属, 其次为克雷伯菌、大肠杆菌、未分类肠杆菌科、肠球菌和沙雷氏菌。

这些实验之间的差异一方面可能与实验方法、标本污染等有关, 另一方面说明, 一些因素可能影响了生命早期肺部微生物的定植及优势菌的建立, 比如: 宫内环境、生产方式、生后环境等。

2.1. 宫内环境

肺部微生物的建立可能在母体中就已经开始。Alam 等人[19]发现, 早在孕 11 周左右的胎肺中即可检测出类似微生物 DNA 的物质。Dominguez-Bello 等人[20]在足月新生儿生后 5 分钟的口腔和鼻咽部标本中检测到微生物群落。同时, 越来越多的研究在胎盘、羊膜腔、脐带血内检测到丰富的微生物群[12] [15] [21] [22] [23] [24] [25], 意味着宫内环境可能不是无菌的, 胎儿可能在产前就已经暴露于特定的微生物环境之中, 如充盈胎肺的羊水, 或者与胎盘相连的血管, 都可能存在特定的微生物影响胎儿肺部微生物的定植[14] [16] [26]。但是也有研究者认为, 现有研究在宫内环境内的检测出的微生物不排除是在分娩过程中获得的, 或者是在采样、检测过程中的污染[27] [28]。综上, 宫内环境是否无菌尚无定论, 仍需更有说

服力的、高质量的研究支持。

2.2. 生产方式

生产方式是否会影响新生儿生后肺部微生物组成同样存在争议[20] [29]。多数研究认为, 经阴道分娩的新生儿出生时口咽部、消化道及皮肤的菌群组成与母亲阴道菌群相关, 而经剖宫产的新生儿的菌群则受母亲皮肤菌群的影响[20] [30] [31]。但也有研究在分析了通过不同生产方式出生的新生儿生后 6 小时内气管抽吸物中微生物, 结果发现经剖宫产和经阴道分娩的新生儿之间的肺部微生物组成没有显著性差异[14]。

2.3. 生后环境

新生儿生后即需要与外界环境进行气体交换, 因此其生后接触的肺外环境很有可能会影响肺部微生物的定植及演替。在目前不同地区的研究之间, 甚至同一研究中不同新生儿中心的新生儿的下呼吸道微生物组成都不尽相同(见表 1)。在 Lohman 等人[15]的研究中, 生后下呼吸道优势菌是不动杆菌, 而 Wagner 等人[32]在其中心下属的多家医院内的研究发现, 葡萄球菌和解脲支原体是下呼吸道菌群主要组成。Gallacher 等人[13]同样发现在他们的研究中的两个不同的新生儿中心的早产儿的下呼吸道细菌群落结构存在显著差异。新生儿, 尤其是早产儿生后接触的外界环境相对单一, 因此生后环境对其肺部微生物的影响可能更加显著。分析不同肺外环境中微生物的特征, 并随访长期处于该环境内的新生儿的临床结局, 也许能为研究肺部微生物与 BPD 或其他疾病之间的关系提供新思路。

2.4. 喂养方式

生后喂养方式可能影响新生儿肺部微生物定植与演替。母乳中的微生物一方面可能通过口腔微吸入的方式影响肺部微生物[33], 另一方面, 可能通过改变肠-肺轴影响肺部微生态。目前母乳中能够分离出 200 多种细菌, 常见有双歧杆菌和乳酸杆菌[34]。乳酸杆菌被认为具有抗炎作用, 也被发现其丰度在 BPD 患儿呼吸道中显著降低, 这提示母乳中的乳酸杆菌可能是 BPD 的保护因素之一[14] [35]。此外, 一些研究发现, 在肺损伤的背景下, 生后接触母乳的婴儿与配方奶喂养的婴儿肺部菌群组成不同, 其中接触母乳的婴儿 BPD 的发病率更低, 且呼吸道中乳酸杆菌更多[14] [36] [37]。

3. 肺部微生物与 BPD

肺部微生物与 BPD 的发生和严重程度相关

近期多项研究发现, 与未患 BPD 的早产儿相比, 最终发展为 BPD 的早产儿的肺部微生物特征常表现为多样性下降, 或者群落更替增快, 或者群落结构改变等[38] [39]。同时, 严重程度不同的 BPD 患儿的肺部微生物特征也不相同[18] [32] (见表 2)。因此, 通过研究 BPD 患儿肺部微生物的构成及演替, 或许有助于临床早期预测早产儿 BPD 的风险及预后。

Lal 等人[14]的一项包含 23 名极低出生体重儿的前瞻性队列研究结果提示, 在纵向比较中, 最终发展为 BPD 的极低出生体重儿的气道微生物多样性降低, 表现为变形菌门增加, 厚壁菌门和梭杆菌门减少, 认为变形菌门可能与 BPD 发生发展有关。同时发现 BPD 的患儿出生时呼吸道内乳酸杆菌水平较低, 进而推测厚壁菌门中的乳酸杆菌可能与预防 BPD 有关, 这一发现与 Lynch 等人[40]的观点一致。Lohmann 等人[15]也发现患 BPD 的早产儿呼吸道微生物的物种数量和 Shannon 多样性显著下降, 但与 Lal 等人[14]研究相反的是, 他们实验中患 BPD 的早产儿的呼吸道微生物表现为厚壁菌门增加, 变形菌门减少。笔者认为环境的微生物特征、围产期抗生素使用策略等之间的不同可能是引起两个中心出现不同结果的原因。

另外, 其他研究发现, 不同严重程度 BPD 患儿呼吸道有着不同的微生物特征。Wagner 等人[32]发现, 机械通气早产儿气道微生物群落的纵向变化可能与 BPD 严重程度有关, 进展为更严重的 BPD 的早产儿肺部微生物群落的更替就越快, 且肺部厚壁菌门中的葡萄球菌丰度更高, 解脲支原体丰度更低。Imamura 等人[18]则发现, 与非重度 BPD 患儿相比, 重度 BPD 患儿的下呼吸道更易检出棒状杆菌。

Table 2. Characteristics of lung microbes in preterm infants with BPD in different studies

表 2. 各研究中患 BPD 的早产儿肺部微生物特点

作者	年份	样本特征	BPD 定义	菌群特征
Lohmann	2014	25 名胎龄 ≤ 32 周且生后 24 小时内插管的早产儿(插管时、3、7 和 28 日龄时气管抽吸物)	纠正胎龄 36 周时的需要氧气支持的婴儿。	BPD 组: 厚壁菌门数量增加, 变形菌数量减少; 非 BPD 组: 细菌群落相对多样且稳定; 两组均以不动杆菌属为主, 但 BPD 组不动杆菌属的相对丰度纵向减少, 葡萄球菌、克雷伯菌属数量增加。
Lal	2016	生后 6 小时内机械通气的 23 名极低出生体重儿(ELBW)和 10 名足月儿(1~7 天、8~21 天、21~40 天、41~60 天、>60 天气管抽吸物)	纠正胎龄 36 周时诊断为中度或重度 BPD 的婴儿。	发展为 BPD 的 ELBW 的气道微生物多样性降低, 变形菌门增加, 厚壁菌门和梭杆菌门减少; 发展为 BPD 的患儿出生时呼吸道内乳酸杆菌水平较低。
Wagner	2017	152 名胎龄 ≤ 34 周、出生体重 500~1250 克且需要机械通气的早产儿(入组时、7、14 和 21 日龄时采集气管抽吸物)	改良的 NIH 标准和撤氧试验确定。	最终发展为重度 BPD 的早产儿随着年龄的增长表现出更大的细菌群落更替。
Imamura	2017	169 名胎龄 ≤ 28 周, 生后即接受气管插管的早产儿(每周 2 次气管抽吸物)	基于 NIH 标准, 并进行撤氧试验; 严重 BPD: 重度 BPD; 非严重 BPD: 轻度、中度 BPD。	严重 BPD 婴儿比非严重 BPD 婴儿更容易检测到棒状杆菌(Cs)。

4. 肺部微生物在 BPD 中的作用机制

肺部微生物群失调可以引起局部或全身感染及炎症, 激活免疫反应, 也与宿主体内的氧化应激和代谢紊乱有关, 从而加重微生态失调, 在 BPD 的发生和进展中形成恶性循环[41] [42] [43] [44]。

4.1. 炎症反应

呼吸道微生物能够协同其他 BPD 的危险因素共同促进炎症反应(见图 1), 触发促炎物质如 IL-1 β 、IL-6、IL-8、NLRP3, TNF- α 等的释放, 导致肺损伤, 干扰肺泡与肺血管发育的进程, 影响 BPD 发生发展, 其中 IL-1 β 、IL-6 等炎症因子还与肺部纤维化有关。此外, TLR 结合诱导活性氧(ROS)激活 NLRP3/caspase-1 通路, 会进一步促进 IL-1 β 的产生, 放大炎症反应[23] [45]。同时, 微生态失调可能通过调节 Th17 细胞的激活, 调节局部粘膜屏障功能[44]。

4.2. 免疫调节

宿主与其共生微生物之间的关系对宿主免疫系统有着重要的调控作用[46]。在啮齿动物模型中发现, 肺部微生物可能比肠道微生物群能够更好地预测宿主的基础免疫功能[47]。肺部微生物可以通过其代谢产

物与机体相互作用, 进而调节免疫功能, 其常见代谢产物如短链脂肪酸可以抑制组蛋白去乙酰化酶, 进而促进调节性 T 细胞分化与增殖。另外, 微生物在吲哚胺 2,3-双加氧酶的作用下产生的色氨酸分解代谢产物, 也可以进一步作为 AhR 的激动剂有助于 IL-22 产生从而促进免疫抑制和调节性 T 细胞的发育[48]。

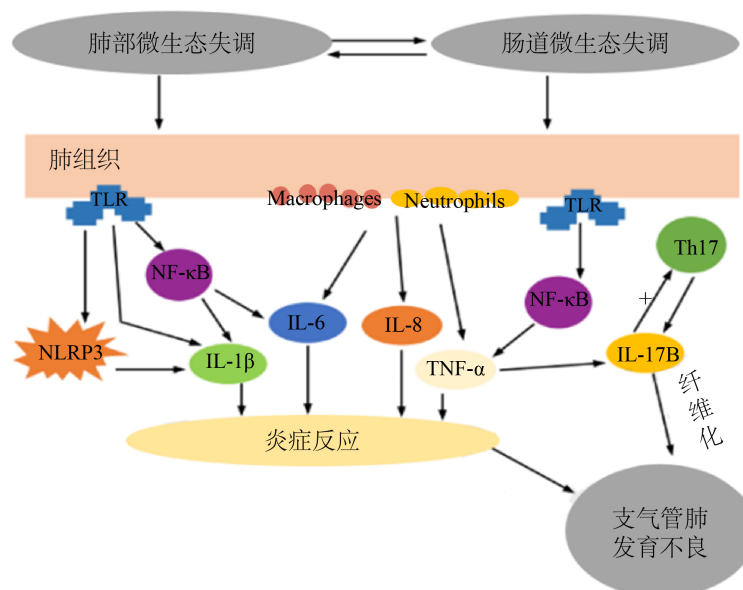


Figure 1. Mechanism of lung microecological dysbiosis mediating inflammatory response and participating in the development of BPD

图 1. 肺部微生态失调介导炎症反应参与 BPD 发生发展的机制图[45]

4.3. 代谢产物

Lal 等人[35]通过分析患 BPD 的婴儿与未患 BPD 的婴儿的肺部微生物的代谢产物发现, 患 BPD 的婴儿肺部微生物参与性激素合成和脂肪酸激活的代谢物数量增加, 提示细菌脂质代谢产物和甾体激素如雄激素和雌激素可能会改变肺发育和导致肺损伤。这个结论可以部分解释为什么 BPD 的发生率会在性别上有差异。

4.4. 外泌体

外泌体是多种细胞分泌的携带能够携带 MicroRNA (miRNA)的囊泡, 在细胞间的通讯上起了重要作用, 其中 miR 876-3p 可能是 BPD 的保护因子之一。Lal 等人[49]发现 BPD 易感组的患儿的气管抽吸物中变形杆菌更丰富, 而 miR 876-3p 的表达明显降低, 并通过建立高氧与变形杆菌脂多糖暴露下的小鼠模型, 发现 miR 876-3p 与变形杆菌存在联系, 就此建立了微生物与外泌体内 miRNA 及 BPD 的关系, 另外, 他们还发现 miR 876-3p 的主要预测靶点之一是雄激素受体, 与前文中 BPD 婴儿气道中微生物在代谢方面的发现相符合。但是目前关于外泌体 - 微生物 - BPD 的研究仍然很少, 需要多中心的研究进一步佐证。

5. 应用与展望

虽然随着新的检测方法和微生物理论的进展, 关于肺部微生物与 BPD 的关系的研究层出不穷, 但是肺部微生物研究目前仍只是起步阶段, 各研究的方法、结论也都不尽相同。因此, 寻找一个更科学、可靠的研究方法迫在眉睫。笔者认为研究时需注意以下几点: 1) 研究需注意结合呼吸道本身的结构及功能

特点, 如空气、局部粘膜理化环境的影响[39]。2) 在标本的采集方法上进行突破。目前最接近于肺部的标本是气管抽吸物, 但在采集过程中, 标本难免会受到污染, 也不可避免地会采集到经口咽微吸入的微生物, 降低了结果的准确性。另外, 微生物有其特有生态位, 由于不能准确采集特定部位的标本, 得到的结果的代表性及可比性就会较差。最后, 目前关于肺部微生物的研究都基于气管插管的前提, 正常新生儿呼吸道微生物的分布及演替是一大盲区。因此, 有效且实用的呼吸道微生物获取方法是亟待突破的一大难题。3) 在研究中, 分析结果时需注意结合体外环境以及宿主其他脏器微生态。随着近年“**One Health**”理念的提出, 提示宿主、宿主内各系统的微生物态及宿主周围环境都是相互联系的, 例如肠道菌群也被证实可通过肠-肺轴影响肺部疾病。4) 肺部微生物的研究目前主要局限在细菌群落, 真菌、噬菌体、病毒等的研究很少, 随着技术和认识的发展, 未来关于微生物的研究范围仍有待拓展。

综上, 肺部微生物群与 BPD 的发生和严重程度密切相关, 这一认识有助于进一步阐释 BPD 发病机制, 防止 BPD 发生和减轻其严重程度, 进而改善 BPD 患儿的预后, 提高早产儿的生活质量。通过检测生后早期特定菌群、生物标志物, 可以预测 BPD 的发生风险及严重程度, 指导临床医师个体化选择治疗方案[50]。已有研究证实益生菌对肺部有保护作用, 能够预防肺部感染, 延缓组织损伤等[46], 通过寻找特定菌群进行移植或使用特定的细菌代谢产物改变呼吸道的环境, 进而使肺部微生物结构和功能从失调状态转变为健康状态, 或许能够成为防止 BPD 的发生与进展的方法之一, 与此同时, 益生菌在预防 BPD 中的安全性、有效性、其种类、应用途径(经气道、肠道等), 剂量等也可以作为进一步研究的方向。

基金项目

该项目受国家自然科学基金(NO.81401236), 重庆市自然科学基金(cstc2021jcyj-msxmX0257)重庆市科卫联合项目(NO.2021MSXM202), 重庆市教委项目(KJQN201800410)资助。

参考文献

- [1] Northway, W.J., Rosan, R.C. and Porter, D.Y. (1967) Pulmonary Disease Following Respirator Therapy of Hyaline-Membrane Disease. Bronchopulmonary Dysplasia. *New England Journal of Medicine*, **276**, 357-368. <https://doi.org/10.1056/NEJM196702162760701>
- [2] Bonadies, L., Zaramella, P., Porzionato, A., et al. (2020) Present and Future of Bronchopulmonary Dysplasia. *Journal of Clinical Medicine*, **9**, Article No. 1539. <https://doi.org/10.3390/jcm9051539>
- [3] Collins, J., Tibboel, D., De Kleer, I.M., et al. (2017) The Future of Bronchopulmonary Dysplasia: Emerging Pathophysiological Concepts and Potential New Avenues of Treatment. *Frontiers in Medicine*, **4**, Article No. 61. <https://doi.org/10.3389/fmed.2017.00061>
- [4] Steinhorn, R., Davis, J.M., Göpel, W., et al. (2017) Chronic Pulmonary Insufficiency of Prematurity: Developing Optimal Endpoints for Drug Development. *The Journal of Pediatrics*, **191**, 15-21.E1. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2017.08.006>
- [5] Abman, S.H., Bancalari, E. and Jobe, A. (2017) The Evolution of Bronchopulmonary Dysplasia after 50 Years. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **195**, 421-424. <https://doi.org/10.1164/rccm.201611-2386ED>
- [6] Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., et al. (2020) Microbiome Definition Re-Visited: Old Concepts and New Challenges. *Microbiome*, **8**, Article No. 103. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>
- [7] The Human Microbiome Project Consortium (2012) Structure, Function and Diversity of the Healthy Human Microbiome. *Nature*, **486**, 207-214. <https://doi.org/10.1038/nature11234>
- [8] Gevers, D., Knight, R., Petrosino, J.F., et al. (2012) The Human Microbiome Project: A Community Resource for the Healthy Human Microbiome. *PLoS Biology*, **10**, Article ID: e1001377. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001377>
- [9] Barcik, W., Boutin, R., Sokolowska, M., et al. (2020) The Role of Lung and Gut Microbiota in the Pathology of Asthma. *Immunity*, **52**, 241-255. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.01.007>
- [10] Hilty, M., Burke, C., Pedro, H., et al. (2010) Disordered Microbial Communities in Asthmatic Airways. *PLoS ONE*, **5**, Article ID: e8578. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008578>
- [11] Dickson, R.P. and Huffnagle, G.B. (2015) The Lung Microbiome: New Principles for Respiratory Bacteriology in

- Health and Disease. *PLoS Pathogens*, **11**, Article ID: e1004923. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004923>
- [12] Gallacher, D.J. and Kotecha, S. (2016) Respiratory Microbiome of New-Born Infants. *Frontiers in Pediatrics*, **4**, Article No. 10. <https://doi.org/10.3389/fped.2016.00010>
- [13] Gallacher, D., Mitchell, E., Alber, D., et al. (2020) Dissimilarity of the Gut-Lung Axis and Dysbiosis of the Lower Airways in Ventilated Preterm Infants. *European Respiratory Journal*, **55**, Article ID: 1901909. <https://doi.org/10.1183/13993003.01909-2019>
- [14] Lal, C.V., Travers, C., Aghai, Z.H., et al. (2016) The Airway Microbiome at Birth. *Scientific Reports*, **6**, Article ID: 31023. <https://doi.org/10.1038/srep31023>
- [15] Lohmann, P., Luna, R.A., Hollister, E.B., et al. (2014) The Airway Microbiome of Intubated Premature Infants: Characteristics and Changes That Predict the Development of Bronchopulmonary Dysplasia. *Pediatric Research*, **76**, 294-301. <https://doi.org/10.1038/pr.2014.85>
- [16] Mourani, P.M., Harris, J.K., Sontag, M.K., et al. (2011) Molecular Identification of Bacteria in Tracheal Aspirate Fluid from Mechanically Ventilated Preterm Infants. *PLoS ONE*, **6**, Article ID: e25959. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025959>
- [17] Payne, M.S., Goss, K.C., Connett, G.J., et al. (2010) Molecular Microbiological Characterization of Preterm Neonates at Risk of Bronchopulmonary Dysplasia. *Pediatric Research*, **67**, 412-418. <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e3181d026c3>
- [18] Imamura, T., Sato, M., Go, H., et al. (2017) The Microbiome of the Lower Respiratory Tract in Premature Infants with and without Severe Bronchopulmonary Dysplasia. *American Journal of Perinatology*, **34**, 80-87. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1584301>
- [19] Al, A.D., Danopoulos, S., Grubbs, B., et al. (2020) Human Fetal Lungs Harbor a Microbiome Signature. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **201**, 1002-1006. <https://doi.org/10.1164/rccm.201911-2127LE>
- [20] Dominguez-Bello, M.G., Costello, E.K., Contreras, M., et al. (2010) Delivery Mode Shapes the Acquisition and Structure of the Initial Microbiota across Multiple Body Habitats in Newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107**, 11971-11975. <https://doi.org/10.1073/pnas.1002601107>
- [21] Aagaard, K., Ma, J., Antony, K.M., et al. (2014) The Placenta Harbors A Unique Microbiome. *Science Translational Medicine*, **6**, Article No. 237ra65. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3008599>
- [22] DiGiulio, D.B., Romero, R., Amogan, H.P., et al. (2008) Microbial Prevalence, Diversity and Abundance in Amniotic Fluid during Preterm Labor: A Molecular and Culture-Based Investigation. *PLoS ONE*, **3**, Article No. e3056. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003056>
- [23] Lauer, T., Behnke, J., Oehmke, F., et al. (2020) Bacterial Colonization within the First Six Weeks of Life and Pulmonary Outcome in Preterm Infants < 1000 G. *Journal of Clinical Medicine*, **9**, Article No. 2240. <https://doi.org/10.3390/jcm9072240>
- [24] Martinez, K.N., Romano-Keeler, J., Zackular, J.P., et al. (2018) Bacterial DNA Is Present in the Fetal Intestine and Overlaps with That in the Placenta in Mice. *PLoS ONE*, **13**, Article ID: e0197439. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197439>
- [25] Prince, A.L., Ma, J., Kannan, P.S., et al. (2016) The Placental Membrane Microbiome Is Altered among Subjects with Spontaneous Preterm Birth with and without Chorioamnionitis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **214**, 627.E1-627.E16. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.01.193>
- [26] Marsland, B.J. and Gollwitzer, E.S. (2014) Host-Microorganism Interactions in Lung Diseases. *Nature Reviews Immunology*, **14**, 827-835. <https://doi.org/10.1038/nri3769>
- [27] Bushman, F.D. (2019) De-Discovery of the Placenta Microbiome. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **220**, 213-214. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2018.11.1093>
- [28] de Goffau, M.C., Lager, S., Sovio, U., et al. (2019) Human Placenta Has No Microbiome But Can Contain Potential Pathogens. *Nature*, **572**, 329-334. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1451-5>
- [29] Bosch, A., Levin, E., Van Houten, M.A., et al. (2016) Development of Upper Respiratory Tract Microbiota in Infancy Is Affected By Mode of Delivery. *eBioMedicine*, **9**, 336-345. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.05.031>
- [30] Chu, D.M., Ma, J., Prince, A.L., et al. (2017) Maturation of the Infant Microbiome Community Structure and Function across Multiple Body Sites and in Relation To Mode of Delivery. *Nature Medicine*, **23**, 314-326. <https://doi.org/10.1038/nm.4272>
- [31] Satokari, R., Grönroos, T., Laitinen, K., et al. (2009) *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* DNA in the Human Placenta. *Letters in Applied Microbiology*, **48**, 8-12. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02475.x>
- [32] Wagner, B.D., Sontag, M.K., Harris, J.K., et al. (2017) Airway Microbial Community Turnover Differs By BPD Severity in Ventilated Preterm Infants. *PLoS ONE*, **12**, Article ID: e0170120.

- <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170120>
- [33] Ericsson, A.C. (2020) Bronchopulmonary Dysplasia: A Crime of Opportunity? *European Respiratory Journal*, **55**, Article ID: 2000551. <https://doi.org/10.1183/13993003.00551-2020>
- [34] Jeurink, P.V., Van Bergenhenegouwen, J., Jiménez, E., *et al.* (2013) Human Milk: A Source of More Life Than We Imagine. *Benef Microbes*, **4**, 17-30. <https://doi.org/10.3920/BM2012.0040>
- [35] Lal, C.V., Kandasamy, J., Dolma, K., *et al.* (2018) Early Airway Microbial Metagenomic and Metabolomic Signatures Are Associated with Development of Severe Bronchopulmonary Dysplasia. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, **315**, L810-L815. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00085.2018>
- [36] Biesbroek, G., Bosch, A.A., Wang, X., *et al.* (2014) the Impact of Breastfeeding on Nasopharyngeal Microbial Communities in Infants. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **190**, 298-308. <https://doi.org/10.1164/rccm.201401-0073OC>
- [37] Huang, J., Zhang, L., Tang, J., *et al.* (2019) Human Milk as a Protective Factor for Bronchopulmonary Dysplasia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Archives of Disease in Childhood: Fetal and Neonatal Edition*, **104**, F128-F136. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2017-314205>
- [38] Pammi, M., Lal, C.V., Wagner, B.D., *et al.* (2019) Airway Microbiome and Development of Bronchopulmonary Dysplasia in Preterm Infants: A Systematic Review. *The Journal of Pediatrics*, **204**, 126-133.E2. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2018.08.042>
- [39] Willis, K.A., Stewart, J.D. and Ambalavanan, N. (2020) Recent Advances in Understanding the Ecology of the Lung Microbiota and Deciphering the Gut-Lung Axis. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, **319**, L710-L716. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00360.2020>
- [40] Cope, E.K. and Lynch, S.V. (2015) Novel Microbiome-Based Therapeutics for Chronic Rhinosinusitis. *Current Allergy and Asthma Reports*, **15**, Article No. 9. <https://doi.org/10.1007/s11882-014-0504-y>
- [41] Gentle, S.J. and Lal, C.V. (2020) Predicting BPD: Lessons Learned from the Airway Microbiome of Preterm Infants. *Frontiers in Pediatrics*, **7**, Article No. 564. <https://doi.org/10.3389/fped.2019.00564>
- [42] Mendez, R., Banerjee, S., Bhattacharya, S.K., *et al.* (2019) Lung Inflammation and Disease: A Perspective on Microbial Homeostasis and Metabolism. *IUBMB Life*, **71**, 152-165. <https://doi.org/10.1002/iub.1969>
- [43] Petersen, C. and Round, J.L. (2014) Defining Dysbiosis and Its Influence on Host Immunity and Disease. *Cellular Microbiology*, **16**, 1024-1033. <https://doi.org/10.1111/cmi.12308>
- [44] Yang, D., Xing, Y., Song, X., *et al.* (2020) The Impact of Lung Microbiota Dysbiosis on Inflammation. *Immunology*, **159**, 156-166. <https://doi.org/10.1111/imm.13139>
- [45] Yang, K. and Dong, W. (2020) Perspectives on Probiotics and Bronchopulmonary Dysplasia. *Frontiers in Pediatrics*, **8**, Article ID: 570247. <https://doi.org/10.3389/fped.2020.570247>
- [46] Taylor, S.L., Simpson, J.L. and Rogers, G.B. (2021) The Influence of Early-Life Microbial Exposures on Long-Term Respiratory Health. *Paediatric Respiratory Reviews*, **40**, 15-23. <https://doi.org/10.1016/j.prrv.2021.05.003>
- [47] Dickson, R.P., Erb-Downward, J.R., Falkowski, N.R., *et al.* (2018) The Lung Microbiota of Healthy Mice Are Highly Variable, Cluster By Environment, and Reflect Variation in Baseline Lung Innate Immunity. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **198**, 497-508. <https://doi.org/10.1164/rccm.201711-2180OC>
- [48] Toldi, G., Hummler, H. and Pillay, T. (2021) T Lymphocytes, Multi-Omic Interactions and Bronchopulmonary Dysplasia. *Frontiers in Pediatrics*, **9**, Article ID: 694034. <https://doi.org/10.3389/fped.2021.694034>
- [49] Lal, C.V., Olave, N., Travers, C., *et al.* (2018) Exosomal MicroRNA Predicts and Protects against Severe Bronchopulmonary Dysplasia in Extremely Premature Infants. *JCI Insight*, **3**, Article ID: e93994. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.93994>
- [50] Capasso, L., Vento, G., Lodo, C., *et al.* (2019) Oxidative Stress and Bronchopulmonary Dysplasia: Evidences from Microbiomics, Metabolomics, and Proteomics. *Frontiers in Pediatrics*, **7**, Article No. 30. <https://doi.org/10.3389/fped.2019.00030>