

# 首发抑郁症患者肠道菌群多样性与抑郁症状的相关性分析

胡科<sup>1</sup>, 张同同<sup>2</sup>, 张凯<sup>\*3</sup>, 王国强<sup>\*4</sup>

1 海宁市第四人民医院临床心理科, 浙江 嘉兴 314400

2 南通市第四人民医院, 江苏 南通 226000

3 安徽医科大学附属巢湖医院, 安徽 合肥 238000

4 无锡市精神卫生中心, 江苏 无锡 214151

胡科, 张同同, 张凯, 王国强. 首发抑郁症患者肠道菌群多样性与抑郁症状的相关性分析[J]. 微生物学通报, 2023, 50(3): 1040-1051.

HU Ke, ZHANG Tongtong, ZHANG Kai, WANG Guoqiang. Correlation analysis of intestinal flora diversity and clinical symptoms in patients with first-episode depression[J]. Microbiology China, 2023, 50(3): 1040-1051.

**摘要:**【背景】脑-肠轴理论提示着肠道菌群和抑郁症之间存在着潜在的联系, 但目前的研究争议较多, 具体联系尚无定论。【目的】研究首发抑郁症患者肠道菌群多样性与抑郁症状的相关性, 分析肠道菌群多样性及脱硫弧菌等菌群与抑郁症之间的潜在关系, 为后续的纵向研究提供一定的理论支持。【方法】对抑郁组( $n=23$ )和对照组( $n=31$ )粪便中 16S rRNA 基因 V4-V5 区域片段进行测序, 使用汉密尔顿抑郁量表对两组研究对象进行评估。使用  $\alpha$  多样性检验、 $\beta$  多样性检验、 $t$  检验、皮尔逊相关性检验及斯皮尔曼相关性检验进行统计分析。【结果】抑郁组与对照组的肠道菌群多样性无明显差异( $P>0.05$ )。两组肠道菌群在结构组成上有差异, 属水平和种水平上, 分别有 28 个菌属和 40 个菌种的相对丰度呈显著性差异( $P<0.05$ )。抑郁组肠道菌群多样性(Shannon、Chao1 指数)与抑郁症状间存在显著的正相关( $P<0.05$ )。属水平和种水平上菌群相对丰度和抑郁症状的相关性检验中, 脱硫弧菌等与抑郁症状存在显著相关性( $P<0.05$ )。【结论】首发抑郁症患者与健康人群肠道菌群在菌群结构组成上存在差异。抑郁组肠道菌群多样性与抑郁症状存在显著的相关性, 其中脱硫弧菌等菌群相对丰度和抑郁症状间存在明显的正相关。

**关键词:** 抑郁症; 肠道菌群; 生物多样性; 脑-肠轴; 脱硫弧菌

资助项目: 安徽省重点研发计划(202004j07020030)

This work was supported by the Key Research and Development Program of Anhui Province (202004j07020030).

\*Corresponding authors. E-mail: ZHANG Kai, 543918@163.com; WANG Guoqiang, wguoqiang@126.com

Received: 2022-07-12; Accepted: 2022-09-07; Published online: 2022-11-07

## Correlation analysis of intestinal flora diversity and clinical symptoms in patients with first-episode depression

HU Ke<sup>1</sup>, ZHANG Tongtong<sup>2</sup>, ZHANG Kai<sup>\*3</sup>, WANG Guoqiang<sup>\*4</sup>

1 Department of Clinical Psychology, Haining Fourth People's Hospital, Jiaxing 314400, Zhejiang, China

2 Nantong Fourth People's Hospital, Nantong 226000, Jiangsu, China

3 Chaohu Hospital of Anhui Medical University, Hefei 238000, Anhui, China

4 Wuxi Mental Health Center, Wuxi 214151, Jiangsu, China

**Abstract:** [Background] The brain-gut axis theory suggests that there is a potential link between intestinal flora and depression, but the current research is controversial, and the specific link is not yet determined. [Objective] To study the correlation between intestinal flora diversity and depressive symptoms in patients with first-episode depression, and to analyze the potential relationship between intestinal flora diversity and *Desulfovibrio* and depression, thereby providing theoretical support for subsequent longitudinal studies. [Methods] The V4-V5 region fragments in the 16S rRNA gene from the feces of the depression group ( $n=23$ ) and the normal group ( $n=31$ ) were genetically sequenced, and the Hamilton Depression Scale was used to evaluate the two groups. The  $\alpha$  diversity test,  $\beta$  diversity test,  $t$ -test, Pearson correlation test, and Spearman correlation test were used for statistical analysis. [Results] There was no significant difference in the diversity of intestinal flora between the depression group and the control group ( $P>0.05$ ). There were differences in the structure of intestinal flora between the two groups. The relative abundances of 28 genera and 40 species were significantly different at genus and species levels ( $P<0.05$ ). There was a significant positive correlation between intestinal flora diversity (Shannon index and Chao1 index) and depressive symptoms ( $P<0.05$ ). In the correlation test of the relative abundances and depressive symptoms at genus and species levels, *Desulfovibrio* was significantly correlated with depressive symptoms ( $P<0.05$ ). [Conclusion] In this study, there are differences existed in the structure and composition of intestinal microbiota between patients with first-episode depression and healthy people. There is a significant correlation between intestinal flora diversity and depressive symptoms, and there is a significant positive correlation between the relative abundances of some flora such as *Desulfovibrio* and the depressive symptoms.

**Keywords:** major depressive disorder; intestinal flora; biological diversity; brain-gut axis; *Desulfovibrio*

脑-肠轴(brain-gut axis)是大脑和胃肠道间存在的一种双向信号交流网络, 主要包括HPA轴(hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA)功能失调、免疫反应失调在内的众多功能系统异常, 其并非独立发生, 而是系统之间彼此影响导致<sup>[1]</sup>。

近年来研究发现, 肠道菌群在人体健康方面发挥着重要作用, 并参与了抑郁症发病机制。例如, 抑郁症患者应激时下丘脑-垂体-肾上腺轴发生失调, 这种失调可能涉及抑郁症的生理病理学<sup>[2]</sup>。而肠道菌群会干扰HPA轴, 调节免疫系

统,进而影响到抑郁情绪<sup>[3]</sup>。本研究团队成员也在前期实验中通过构建大鼠习得性无助(learn helplessness, LH)抑郁模型,比较大鼠在抑郁前后肠道菌群的变化,结果发现抑郁大鼠肠道菌群丰度低于健康对照大鼠<sup>[4]</sup>。这些都提示着肠道菌群和抑郁症之间可能存在联系。

近年来,国内外的研究表明,抑郁症患者的肠道菌群多样性与正常人相比发生了改变<sup>[5-7]</sup>,然而少有研究涉及肠道菌群中特定菌群和抑郁症状严重程度之间的相关变化。在临床上,传统的评估是基于临床医生对患者的访谈并根据评估得分进行合理的临床推断,由于患者的陈述会根据情境发生改变,这可能会导致误诊误治<sup>[8]</sup>。因此,通过研究哪些菌群的相对丰度在患者中与抑郁症状严重程度密切相关,便可以作为生物标记物,在抑郁症患者的确诊和治疗中辅助临床医生更精准地评估抑郁症状的严重程度。

因此,本课题使用 16S rRNA 基因测序技术分析首发抑郁症患者肠道菌群,探讨肠道菌群在首发抑郁症患者中的多样性特征及其与抑郁症状的相关性,确定具有辅助评估抑郁严重程度的菌群,以期为后续的纵向研究提供理论支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

抑郁组:招募自 2019 年 10 月-2020 年 9 月从无锡市精神卫生中心门诊及住院患者。入组标准:(1)符合 DSM-V 抑郁症的临床诊断标准;(2)汉密尔顿抑郁量表(24-items Hamilton depression scale, HAMD)评分 $\geq 18$ 分;(3)未服用过任何抗抑郁药或抗精神病药的首次抑郁症发作患者;(4)年龄 20-75 岁,性别不限。排除标准:(1)有脑器质性疾病既往史或脑部受过

外伤者;(2)心、肝、肾功能异常或患有其他严重代谢性疾病及躯体疾病者;(3)处于妊娠或哺乳期的妇女;(4)有其他精神疾病或有精神疾病既往史患者;(5)一个月内服用抗生素或微生态剂患者;(6)3 个月内参加过另外的临床研究;(7)严重的自杀倾向患者。

对照组:招募同时期的无锡精神卫生中心周边社区人群。入组标准:(1)年龄 20-75 岁,性别不限;(2)无其他的精神疾病病史及严重躯体疾病史;(3)2 周内未曾使用过抗生素或生态剂;(4)无特殊饮食及酗酒习惯。排除标准:(1)处于妊娠或哺乳期的妇女;(2)严重的自杀倾向患者。本研究通过无锡市精神卫生中心伦理审查,所有研究对象均自愿签署了知情同意书。

### 1.2 材料

E.Z.N.A.<sup>®</sup> Soil DNA Kit, Omega 公司; AxyPrep DNA Gel Extraction Kit, Axygen Biosciences 公司。Quantus<sup>™</sup> Fluorometer 微型荧光计, Promega 公司; MiSeq PE300/NovaSeq PE250 测序仪, Illumina 公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 抑郁症状评估及粪便采集

收集门诊及住院处首发抑郁症患者的一般性资料并使用 24 条目的 HAMD 进行评估,评估由两名经统一培训后的精神科医生标准化施测,一致性检验组内相关系数值为 0.86。在量表评估完成 24 h 内采集研究对象粪便样本。采集时双手洗净,先让研究对象排尽尿液以防止尿液中细菌污染,从粪便内部未接触空气和地面的部分用无菌勺取 2 g 左右置于一次性无菌管中,编号登记后立即放入-80 °C 冰箱保存。对照组资料及粪便收集采用同样的方法。所有样本收集完成后统一由上海美吉生物医药科技有限公司检测。

### 1.3.2 DNA 提取及 PCR 扩增

使用 DNA 抽提试剂盒 0.5 g 粪便样品进行微生物群落总 DNA 抽提, 并使用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的提取质量, 使用 NanoDrop 2000 测定 DNA 浓度和纯度; 使用 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 对 16S rRNA 基因 V4-V5 可变区进行 PCR 扩增。PCR 反应体系: 5×TransStart *FastPfu* 缓冲液 4 μL, dNTPs (2.5 mmol/L) 2 μL, 上、下游引物(5 μmol/L) 各 0.8 μL, TransStart *FastPfu* DNA 聚合酶 0.4 μL, 模板 DNA 10 ng, ddH<sub>2</sub>O 补足 20 μL。每个样本 3 个重复。PCR 反应条件: 95 °C 3 min; 95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s, 27 个循环; 72 °C 10 min; 4 °C 保存。

### 1.3.3 Illumina MiSeq 测序及构建文库

将同一样本的 PCR 产物混合后使用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物并纯化, 使用 2% 琼脂糖凝胶对回收产物电泳检测定量。建库: (1) 接头连接; (2) 使用磁珠筛选去除接头自连片段; (3) 利用 PCR 扩增进行文库模板的富集; (4) 磁珠回收 PCR 产物得到最终的文库。原始数据已上传至 NCBI SRA 数据库。

## 1.4 统计学方法

### 1.4.1 $\alpha$ 多样性分析

$\alpha$  多样性用于计算一个区域内微生物多样性的 高低, 在统计学中, 通常用 Chao1、Shannon、Simpson、Coverage 等指数来度量; 其中, Chao1、Shannon、Simpson 计算数值越高, 表明群落的物种多样性越丰富; Coverage 值越接近 1, 表明测序的结果覆盖面越广, 越接近真实情况。

### 1.4.2 $\beta$ 多样性分析

$\beta$  多样性分析用于不同生态系统之间多样性的比较, 样本层级聚类分析(hierarchical

clustering)和主坐标分析(principal co-ordinates analysis, PCoA)是  $\beta$  多样性分析中常用的两种方法。前者通过构建样本层级聚类树对样本群落进行聚类分析, 研究群落间结构的相似性与差异性。后者是一种具有非约束性特点的数据降维分析方法, 在数据结果中, 相同颜色的样本是为同一组, 样本距离越远说明组别间差异明显。

### 1.4.3 抑郁组和对照组肠道菌群差异性检验

使用 SPSS 20.0 进行统计学分析, 两组一般人口学资料比较使用 *t* 检验和卡方检验; 使用 *t* 检验计算抑郁组和对照组肠道菌群的差异性, 设置  $P < 0.05$  具有统计学意义。

### 1.4.4 肠道菌群多样性与抑郁症状相关性检验

使用 Spearman 相关性检验计算抑郁组肠道菌群多样性与抑郁症状严重程度间的相关性, 设置  $P < 0.05$  具有统计学意义。有研究认为在“门”和“纲”这样过大的分类单元进行分析往往会忽视掉一些菌群的影响, 应细分到“科”以下的单元, 以“属”“种”为单位进行分析<sup>[9]</sup>, 因此本研究的差异性检验和相关性检验中在“属”和“种”水平上分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 描述性分析结果

抑郁组(MDD)和正常组(HC)研究对象一般性资料见表 1。两组性别、年龄、身体质量指数(body mass index, BMI)等人口学资料经检验无统计学差异( $P > 0.05$ ), 在 HAMD 评分上, 抑郁组显著高于正常组( $P < 0.01$ )。

### 2.2 $\alpha$ 多样性分析结果

使用 Chao1、Shannon、Simpson、Coverage 这 4 个指数表示肠道菌群多样性, 用 *t* 检验比较两组肠道菌群多样性差异, 结果见表 2, 各指数  $P$

值均大于 0.05, 抑郁组和对照组在菌群多样性上差异不显著。从 Coverage 指标上来看, 两组样本 Coverage 指数约为 1, 表明样本的测序菌种覆盖率达到 99%以上, 覆盖率高, 样本具有可信性。

## 2.3 $\beta$ 多样性分析结果

### 2.3.1 层级聚类分析

层级聚类分析结果见图 1。图 1 中分支距离越近, 表示样本间物种群落结构越相似。从检验结果可知, 两组研究对象总体上肠道菌群结构差异不显著。

### 2.3.2 主坐标分析(PCoA)结果

从图 2 结果可知, 抑郁组大部分样本集中在纵坐标的负半轴, 对照组大部分集中在纵坐标的正半轴, 而横坐标两组样本分布差异不显著。总体上两组样本区分边界不明显, 两组菌群结构差异不显著。

### 2.4 抑郁组和对照组肠道菌群差异性检验

经检验, 属水平和种水平上, 分别有 28 个菌属和 40 个菌种的丰度在两组间呈显著性差异, 本研究列出差异菌群中相对丰度排名前 20 的菌属/种, 具体结果见表 3 和表 4。

表 1 一般性资料比较

Table 1 Comparison of general information

Basic information	MDD	HC	$t/\chi^2$	<i>P</i>
Gender, male/Female	7/16	11/20	1.21	0.27
Age, years	29.38±11.57	30.36±11.48	-1.32	0.19
Marital status			0.99	0.61
Never married	7	9		
Married	13	17		
Divorced	3	5		
Level of education completed, years	12.30±2.81	11.40±2.01	1.70	0.10
Religion, Yes/No	2/19	2/29	1.21	0.27
BMI	22.51±1.68	22.65±2.01	-0.12	0.90
HAMD	27.33±8.37	4.19±1.54	15.31	0.00

使用 *t* 检验和卡方检验比较两组间的差异性

*t* test and chi-square test were used to compare the differences between the two groups.

表 2  $\alpha$  多样性组间差异检验

Table 2 Alpha diversity test for differences between groups

Estimators	A-Mean	A-Sd	H-Mean	H-Sd	<i>t</i>	<i>P</i>
Chao1	336.44	51.49	345.28	105.05	0.70	0.71
Coverage	1.00	0.00	1.00	0.00	0.67	0.58
Shannon	3.44	0.35	3.20	0.76	0.18	0.16
Simpson	0.08	0.04	0.11	0.12	0.17	0.19

使用 *t* 检验比较两组间的差异性

*t* test was used to compare the differences between the two groups.

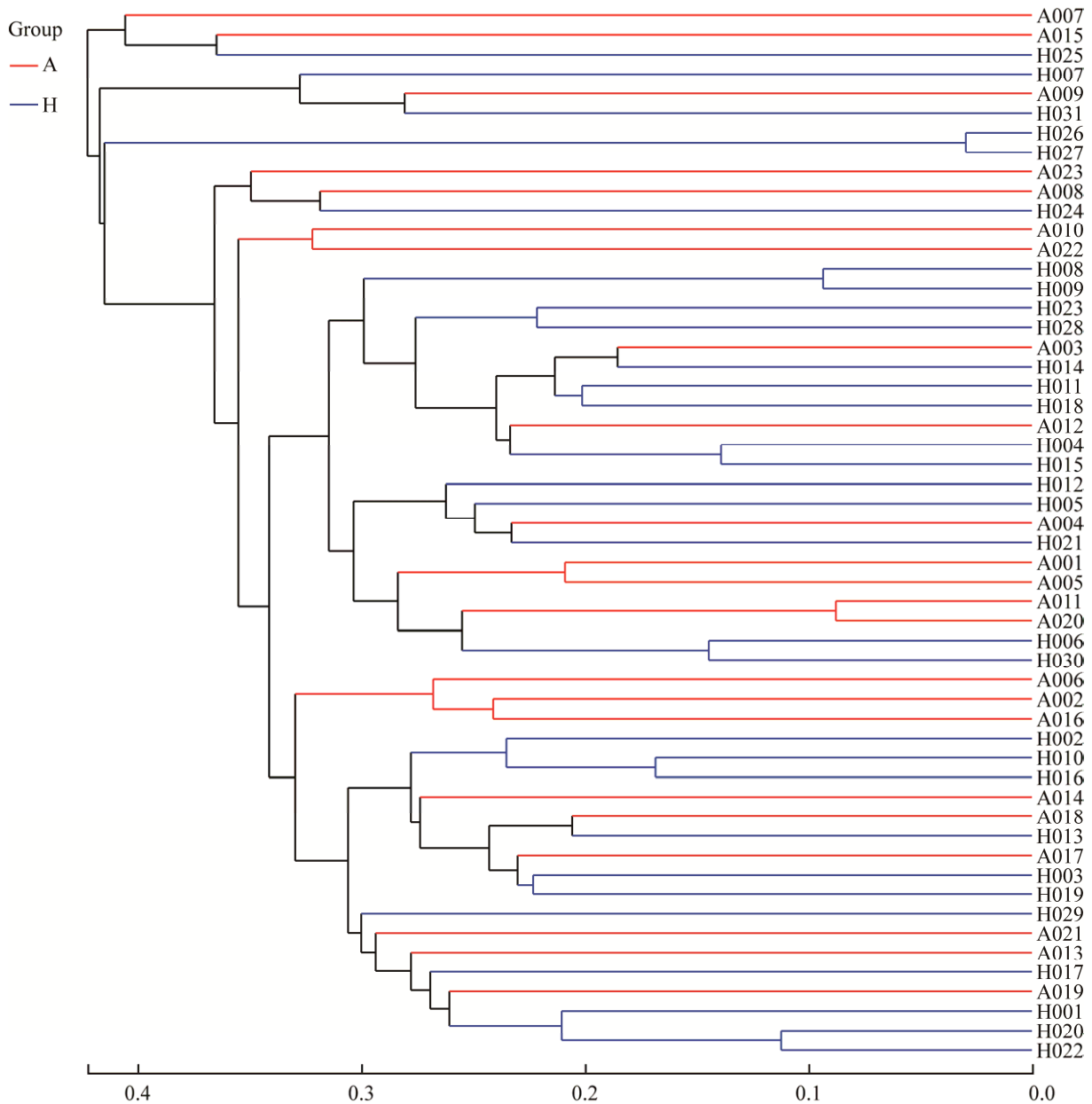


图 1 样本层级聚类分析 A: 抑郁组, 用红色标识; H: 对照组, 用蓝色标识

Figure 1 Sample level cluster analysis. Group A is depressed, marked in red; Group H is the control group, marked in blue.

### 2.5 抑郁组肠道菌群多样性与抑郁症状相关性检验结果

经检验, HAMDS 评分、Shannon、Chao1 指数之间呈显著性相关, Simpson 指数与其他指标相关性不显著(表 5); 在检测各菌群相对丰

度和抑郁症状的相关性中, 由于菌群种类庞大, 因此仅截取属和种水平上相对丰度前 50 的菌群(表 6)。结果显示, 在属水平上, 脱硫弧菌属、柯林斯菌属、阿德勒克罗伊茨菌属、CAG-352 与抑郁症状达到显著性相关( $r=0.47, P=0.04$ ;

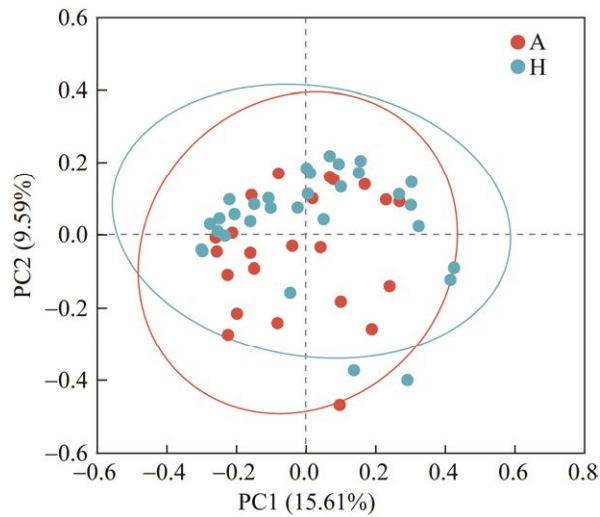


图2 主坐标分析(PCoA)结果 A: 抑郁组; H: 对照组

Figure 2 PCoA result. Group A: Depressed group; Group H: Control group.

$r=0.52$ ,  $P=0.02$ ;  $r=0.53$ ,  $P=0.02$ ;  $r=0.50$ ,  $P=0.03$ ); 在种水平上, 产气柯林斯菌、*Adlercreutzii* sp.和 CAG-352 sp.与抑郁症状的相关具有显著性( $r=0.56$ ,  $P=0.01$ ;  $r=0.53$ ,  $P=0.02$ ;  $r=0.50$ ,  $P=0.03$ )。

### 3 讨论与结论

#### 3.1 肠道菌群多样性分析

肠道菌群和抑郁症的关系目前仍有许多争议。本研究在  $\alpha$  多样性分析和  $\beta$  多样性分析中, 抑郁组和对照组菌群多样性无统计学差异 ( $P>0.05$ )。本研究与 Zheng 等<sup>[10]</sup>研究结果相同, 但在 Kelly 等<sup>[6]</sup>研究中发现抑郁症患者的肠道菌群较健康人的多样性有所下降。然而 Shen 等<sup>[7]</sup>的研究结果却相反, 他们发现抑郁症患者与健康

表3 属水平上组间差异显著性检验

Table 3 Significance test of differences between groups at genus

Species name	Mean (%)	Sd (%)	Lower ci	Upper ci	<i>P</i>	Effect size
布劳特氏菌属 <i>Blautia</i>	11.66	7.34	-13.56	-1.19	0.02*	-7.38
考拉杆菌属 <i>Phascolarctobacterium</i>	1.71	3.11	0.04	2.45	0.04*	1.24
UCG-002	0.57	0.64	0.02	0.58	0.04*	0.30
CAG-352	0.48	0.90	0.18	2.50	0.02*	1.33
泰瑞氏菌属 <i>Tyzzarella</i>	0.48	0.87	0.04	0.68	0.03*	0.36
UBA1819	0.41	1.04	0.01	0.75	0.04*	0.38
瘤胃球菌属 <i>Ruminococcus</i>	0.32	0.39	-0.57	-0.01	0.04*	-0.29
颤螺菌属 <i>Oscillospiraceae</i>	0.20	0.22	0.05	0.22	0.00**	0.13
解黄酮菌属 <i>Flavonifractor</i>	0.19	0.33	0.05	0.29	0.01*	0.18
迟缓埃格特菌属 <i>Eggerthella</i>	0.16	0.25	0.00	0.21	0.04*	0.11
萨特氏菌属 <i>Sutterella</i>	0.08	0.17	0.01	0.14	0.02*	0.08
Family XIII AD3011	0.08	0.09	0.00	0.09	0.03*	0.05
毛螺菌科 UCG-010 <i>Lachnospiraceae</i> UCG-010	0.07	0.14	0.00	0.10	0.05*	0.05
梭状芽胞杆菌属 <i>Erysipelatoclostridium</i>	0.06	0.12	0.00	0.09	0.04*	0.05
脱硫弧菌属 <i>Desulfovibrio</i>	0.03	0.05	0.00	0.04	0.03*	0.02
CAG-56	0.03	0.03	0.00	0.03	0.02*	0.01
DTU089	0.02	0.04	0.00	0.03	0.05*	0.01
厌氧球菌属 <i>Anaerotruncus</i>	0.01	0.02	0.00	0.02	0.01**	0.01
霍尔曼氏菌属 <i>Holdemania</i>	0.01	0.01	0.00	0.01	0.00**	0.01
克里斯滕森菌属 <i>Christensenella</i>	0.01	0.02	0.00	0.02	0.02*	0.01

使用 *t* 检验比较两组间的差异性

*t* test was used to compare the differences between the two groups. \*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P<0.01$ .

表 4 种水平上组间差异显著性检验

Table 4 Significance test of differences between groups at species

Species name	Mean (%)	Sd (%)	Lower ci	Upper ci	P	Effect size
布劳特氏菌属 <i>Blautia</i> sp.	7.32	5.53	-11.69	-0.62	0.03*	-6.15
考拉杆菌属肠球菌属 <i>Phascolarctobacterium faecium</i>	1.63	3.12	0.06	2.47	0.04*	1.27
CAG-352 菌属 CAG-352 sp.	0.47	0.90	0.18	2.48	0.02*	1.33
泰瑞氏菌属 <i>Tyzzarella</i> sp.	0.46	0.86	0.03	0.66	0.03*	0.35
<i>Bacteroides dorei</i>	0.45	1.06	0.04	0.81	0.03*	0.43
细枝真杆菌属 <i>Eubacterium ramulus</i>	0.41	0.48	0.05	0.43	0.01*	0.24
UBA-1819 菌属 UBA-1819 sp.	0.41	1.04	0.01	0.75	0.04*	0.38
卵形拟杆菌 <i>Bacteroides ovatus</i>	0.33	0.71	0.04	0.56	0.02*	0.30
屎拟杆菌 <i>Parabacteroides merdae</i>	0.33	0.63	0.03	0.50	0.03*	0.26
瘤胃球菌属 <i>Ruminococcus</i> sp.	0.32	0.39	-0.57	-0.01	0.04*	-0.29
黄杆菌属 <i>Flavonifractor</i> sp.	0.19	0.34	0.05	0.30	0.01**	0.18
颤螺菌属 <i>Oscillospiraceae</i> sp.	0.19	0.22	0.04	0.22	0.00**	0.13
优杆菌属 <i>Eubacterium</i> sp.	0.16	0.13	-0.28	-0.03	0.01*	-0.15
迟缓埃格特菌属 <i>Eggerthella lenta</i>	0.15	0.25	0.00	0.21	0.04*	0.11
柯林斯菌属斯特氏杆菌 <i>Collinsella stercoris</i>	0.07	0.20	0.00	0.15	0.05*	0.07
毛螺菌科_UCG-010 菌种 <i>Lachnospiraceae</i> UCG-010	0.07	0.14	0.00	0.10	0.05*	0.05
Family_XIII_AD3011 sp.	0.06	0.08	0.00	0.07	0.03*	0.04
瘤胃球菌科下菌种 <i>Ruminococcaceae</i> sp.	0.05	0.06	0.02	0.06	0.00**	0.04
<i>Erysipelatoclostridium ramosum</i>	0.05	0.11	0.00	0.09	0.05*	0.04
另枝菌属 sp. cv1 <i>Alistipes</i> sp. cv1	0.03	0.06	0.00	0.05	0.02*	0.03

使用 t 检验比较两组间的差异性

t test was used to compare the differences between the two groups. \*: P<0.05; \*\*: P<0.01.

表 5 抑郁组肠道菌群整体多样性和抑郁症状间相关性检验

Table 5 Correlation between overall diversity of gut microbiota and depressive symptoms in depression group

Index	HAMDS	Shannon	Simpson	Chao1
HAMDS	1.00			
Shannon	0.46*	1.00		
Simpson	-0.38	-0.84**	1.00	
Chao1	0.45*	0.60**	-0.28	1.00

使用斯皮尔曼相关性检验. 下同

Values are by Spearman's correlation coefficient. \*: P<0.05; \*\*: P<0.01. The same below.

表 6 抑郁组菌群相对丰度和抑郁症状间相关性检验

Table 6 Correlation between relative abundance of microbiota and depressive symptoms in depression group

Species name	Correlation	P
脱硫弧菌属 <i>Desulfovibrio</i>	0.47	0.04*
柯林斯菌属 <i>Collinsella</i>	0.52	0.02*
阿德勒克罗伊茨菌属 <i>Adlercreutzia</i>	0.53	0.02*
CAG-352 sp.	0.50	0.03*
产气柯林斯菌属 <i>Collinsella aerofaciens</i>	0.56	0.01*



人相比肠道菌群多样性更高。从众多的研究结果上看, 抑郁症患者肠道菌群的整体多样性和健康人相比是否有差异尚无定论, 这仍需进一步探讨。造成这种结果可能的原因有很多, 如研究对象入组标准的不一致。在 Shen 等的研究里, 招募的研究对象年龄限制在 18-65 岁, 抑郁组 HAMD 得分需大于 24 分<sup>[7]</sup>; 而本研究的研究对象年龄限制在 20-75 岁, 抑郁组 HAMD 得分大于 18 分。此外, 不同地区的饮食习惯、粪便的取样标准不一等也可能对肠道菌群具有较大的影响, 因此建立实验组和对照组入组、匹配上统一的标准, 以及取样与检测指导性的大纲对进一步的研究是至关重要的。

### 3.2 抑郁组和对照组肠道菌群差异性分析

从两组菌群的差异性检验结果可以看到, 不论是属水平还是种水平, 布劳特氏菌(*Blautia*)的相对丰度在表现显著差异的菌落中都占有优势地位。布劳特氏菌是一种同型产乙酸菌, 这类细菌既可以利用 CO<sub>2</sub> 产生乙酸, 也可以利用乙酸生长。乙酸作为一种短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFA), 对人体具有很多功效, 如提供能量、调节 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)的表达、穿过血脑屏障发挥生理作用、减轻炎症反应等<sup>[11]</sup>。近年来, 肠道菌群代谢短链脂肪酸防治抑郁症的研究逐渐成为该领域的研究重点, 也开展了相关的试验。例如, 在动物实验中, 发现抑郁组小鼠粪便中 SCFA 的含量较对照组小鼠明显降低<sup>[12]</sup>。另一项人体试验中, 研究人员通过相色谱法测量健康人群和抑郁人群粪便中 SCFA 含量, 也同样发现抑郁人群的粪便 SFCA (乙酸、丙酸、丁酸等)较正常人显著减少<sup>[13]</sup>。在过往的肠道菌群研究中, 通常认为患有抑郁症的病人肠道中有益菌相对丰度减少, 有害菌相对丰度上升。本研究提出假设, 布劳特氏菌在肠道这种缺氧环境中, 可以通过对肠道中有机

物进行代谢发酵产生短链脂肪酸(乙酸)给人体供益, 而在抑郁人群中, 布劳特氏菌相对丰度则显著减少。在今后的研究中, 短链脂肪酸防治抑郁症的研究可以是一个重点的研究方向, 开展对抑郁症患者的纵向研究, 探究患者肠道中布劳特氏菌等产生短链脂肪酸的菌群在抑郁症发生发展中的影响机制, 可以对抑郁症的防治提供新的方向。

### 3.3 肠道菌群多样性与抑郁症状的相关性分析

本研究的相关性检验发现抑郁组的 HAMD 得分和 Shannon、Chao1 指数具有显著的相关性 ( $P < 0.05$ )。值得注意的是, 在本研究中, 两组肠道菌群多样性无明显差异, 但是抑郁组中菌群整体多样性却与抑郁症状相关性显著。可能的一个解释是, 相较于肠道菌群整体多样性, 一些特定的有益菌或致病菌对个体抑郁症状产生的影响更显著, 这些菌群会诱发抑郁症状的发生并且会持续影响症状的发展。肠道菌群多样性和抑郁症状间存在相关性也得到一些研究的支持。例如, Kleiman 等<sup>[14]</sup>在一项神经性厌食症住院患者的研究中, 研究人员招募了 16 名研究对象, 通过 454 焦磷酸测序检测研究对象的肠道菌群, 结果显示患者的抑郁症状和  $\alpha$  多样性存在显著的正相关。也有少量的研究涉及特定的菌群与抑郁症状的相关研究。例如, Lin 等<sup>[15]</sup>的研究发现, 普雷氏菌属、克雷伯杆菌属在肠道菌群中的相对丰度与抑郁症患者 HAMD 得分显著相关; 国内也有研究发现普拉梭菌属的相对丰度和抑郁症状具有显著的负相关<sup>[16]</sup>。就本研究结果而言, 肠道菌群的多样性随着症状的加重而上升, 我们认为这可能与患者肠道内有害菌(如脱硫弧菌)的增加有关, 这些菌群通过代谢产物影响抑郁症的发生发展, 这需要进一步的研究去探索。尽管这些研究发现抑郁症患者

的肠道菌群多样性与症状的严重程度存在相关性,但国内外却少有发现重叠菌群,相关的研究也还需要更多的实验去佐证。

在特定菌群的相对丰度与抑郁症状的相关性检验中,我们发现了脱硫弧菌属(*Desulfovibrio*, DSV)等菌群与抑郁症状具有相关性。通过病例对照研究法可以进一步发现,在抑郁组和对照组中具有明显差异的菌群里,仅有 DSV 和 CAG-352 两种菌群与抑郁症状显著相关。其中有关脱硫弧菌的研究较丰富,一些研究成果可以为探讨该菌和抑郁症的关系提供参考。脱硫弧菌为一种硫酸盐还原菌(sulphate-reducing bacteria, SRB),是结肠 SRB 中的优势菌群,在肠道中可以分解 SCFA、有机酸等营养物质并还原硫酸盐产生  $H_2S$ ,对肠道上皮细胞产生毒害作用,导致细胞凋亡和慢性炎症<sup>[17]</sup>。目前,有关 DSV 的研究多集中在胃肠道疾病,并认为 DSV 与胃肠道疾病密切。例如, Yachida 等<sup>[18]</sup>发现,在结肠癌患者 III/IV 期中 DSV 的数量显著增加。Hirano 等<sup>[19]</sup>报道,与非炎症性肠病影响的肠道部位相比,溃疡性结肠炎患者炎症部位的 DSV 更少。值得注意的是,在一项将 DSV 与人口腔表皮样癌细胞(human oral epidermoid carcinoma cells) KB 细胞共同培养的实验中,DSV 可以感染 KB 细胞导致 IL-6 的增加,表明脱硫弧菌属可能具有调节免疫反应的能力<sup>[20]</sup>。在抑郁症的发病机制中,细胞因子假说认为,IL-6 和 TNF- $\alpha$  等促炎症细胞因子在抑郁症的发生过程中水平会上升,IL-10、TGF- $\beta$  等抗炎细胞因子水平则会下降,引起个体出现免疫反应炎症方向的趋势<sup>[21]</sup>。因此,在抑郁症患者中,DSV 可能通过影响个体炎症反应进而影响抑郁症的发生发展。

我们还注意到,柯林斯菌属(*Collinsella*)与抑郁症状呈显著正相关,尽管该菌属在抑郁

组和对照组中未表现出的显著差异,但其下属菌种 *Collinsella stercoris* 在两组肠道中有明显区别。柯林斯菌属在以往的研究中也被认为和炎症反应有关。例如,一项南美人群溃疡性结肠炎和肠道微生物的研究发现,溃疡性结肠炎患者肠道中柯林斯菌属含量较正常人明显增多<sup>[22]</sup>。在另一项肠道微生物通过内源性大麻素系统(endocannabinoid, EC)调节炎症标志物中的研究中也发现,柯林斯菌属可能通过和调节 EC 系统发挥一些促炎作用,而 ECs 的增加与促炎细胞因子(TNF- $\alpha$  和 IL-6)减少之间具有强相关性<sup>[23]</sup>。因此,柯林斯菌属可能也是通过调节个体炎症反应的途径从而影响到抑郁症状的发生。

从本研究和以往的研究结果来看,肠道菌群可能通过调节免疫系统影响炎症反应和代谢 SCFAs 两种方式参与到抑郁症的发生机制中。脱硫弧菌属和柯林斯菌属等具有辅助评估抑郁症严重程度,以及进一步探讨这些菌群通过何种途径影响抑郁症的潜力,可以为后续的纵向研究提供支持。

本研究还存在一些不足。首先,考虑到抗抑郁药物对肠道菌群平衡的影响,本研究只招募了首次发作的抑郁症患者,但仍有一些可能会影响到肠道菌群的因素未被考虑到,例如饮食习惯,在后续的研究中可以在入组时施测《健康及饮食调查问卷》等来排除异常饮食带来的干扰<sup>[24]</sup>。其次,本研究缺少纵向的探讨,在以后的研究可以对研究对象施加跟踪,探究在服药期间不同病程阶段肠道菌群的变化情况。

## REFERENCES

- [1] 杨路,董婷婷,凌燕,吕艳霞,禡宇明. 肠道屏障损伤及细菌移位在焦虑抑郁症诱导退行性神经症中的机制[J]. 中国微生态学杂志, 2020, 32(3): 352-357, 363. YANG L, DONG TT, LING Y, LYU YX, XUAN YM. Mechanism of gut barrier injury and bacterial

- translocation in anxiety-depression induced degenerative neurosis[J]. *Chinese Journal of Microecology*, 2020, 32(3): 352-357, 363 (in Chinese).
- [2] PEREIRA CG, PITON E, dos SANTOS BM, RAMANZINI LG, CAMARGO LFM, da SILVA RM, BOCHI GV. Microglia and HPA axis in depression: an overview of participation and relationship[J]. *The World Journal of Biological Psychiatry*, 2022, 23(3): 165-182.
- [3] KNUESEL T, MOHAJERI MH. The role of the gut microbiota in the development and progression of major depressive and bipolar disorder[J]. *Nutrients*, 2021, 14(1): 37.
- [4] ZHANG K, FUJITA Y, CHANG LJ, QU YG, PU YY, WANG SM, SHIRAYAMA Y, HASHIMOTO K. Abnormal composition of gut microbiota is associated with resilience versus susceptibility to inescapable electric stress[J]. *Translational Psychiatry*, 2019, 9: 231.
- [5] 漆靖, 蔡溢, 肖剑英, 孙李晴. 抑郁症患者肠道菌群研究[J]. *中国微生态学杂志*, 2018, 30(9): 1057-1060.
- QI J, CAI Y, XIAO JY, SUN LQ. Intestinal microbial community in patients with depression[J]. *Chinese Journal of Microecology*, 2018, 30(9): 1057-1060 (in Chinese).
- [6] KELLY JR, BORRE Y, O'BRIEN C, PATTERSON E, EL AIDY S, DEANE J, KENNEDY PJ, BEERS S, SCOTT K, MOLONEY G, HOBAN AE, SCOTT L, FITZGERALD P, ROSS P, STANTON C, CLARKE G, CRYAN JF, DINAN TG. Transferring the blues: depression-associated gut microbiota induces neurobehavioural changes in the rat[J]. *Journal of Psychiatric Research*, 2016, 82: 109-118.
- [7] SHEN Y, YANG X, LI GF, GAO JY, LIANG Y. The change of gut microbiota in MDD patients under SSRIs treatment[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11: 14918.
- [8] REGIER DA, KUHL EA, KUPFER DJ. The DSM-5: classification and criteria changes[J]. *World Psychiatry: Official Journal of the World Psychiatric Association: WPA*, 2013, 12(2): 92-98.
- [9] FEI N, ZHAO LP. An opportunistic pathogen isolated from the gut of an obese human causes obesity in germfree mice[J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(4): 880-884.
- [10] ZHENG SJ, ZHU YB, WU WD, ZHANG Q, WANG YQ, WANG ZR, YANG FD. A correlation study of intestinal microflora and first-episode depression in Chinese patients and healthy volunteers[J]. *Brain and Behavior*, 2021, 11(8): e02036.
- [11] 叶路芬, 宋旭娇, 马浩. 肠道菌群代谢产物短链脂肪酸与抑郁症关系的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(7): 424-429.
- YE LF, SONG XJ, MA H. Research progress on the relationship between short-chain fatty acids metabolized by intestinal flora and depression[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(7): 424-429 (in Chinese).
- [12] WU M, TIAN T, MAO Q, ZOU T, ZHOU CJ, XIE J, CHEN JJ. Associations between disordered gut microbiota and changes of neurotransmitters and short-chain fatty acids in depressed mice[J]. *Translational Psychiatry*, 2020, 10: 350.
- [13] SKONIECZNA-ŻYDECKA K, GROCHANS E, MACIEJEWSKA D, SZKUP M, SCHNEIDER-MATYKA D, JURCZAK A, ŁONIEWSKI I, KACZMARCZYK M, MARLICZ W, CZERWIŃSKA-ROGOWSKA M, PEŁKA-WYSIECKA J, DEC K, STACHOWSKA E. Faecal short chain fatty acids profile is changed in Polish depressive women[J]. *Nutrients*, 2018, 10(12): 1939.
- [14] KLEIMAN SC, WATSON HJ, BULIK-SULLIVAN EC, HUH EY, TARANTINO LM, BULIK CM, CARROLL IM. The intestinal microbiota in acute anorexia nervosa and during renourishment: relationship to depression, anxiety, and eating disorder psychopathology[J]. *Psychosomatic Medicine*, 2015, 77(9): 969-981.
- [15] LIN P, DING BY, FENG CY, YIN SW, ZHANG T, QI X, LÜ HY, GUO XK, DONG K, ZHU YZ, LI QT. *Prevotella* and *Klebsiella* proportions in fecal microbial communities are potential characteristic parameters for patients with major depressive disorder[J]. *Journal of Affective Disorders*, 2017, 207: 300-304.
- [16] JIANG HY, LING ZX, ZHANG YH, MAO HJ, MA ZP, YIN Y, WANG WH, TANG WX, TAN ZL, SHI JF, LI LJ, RUAN B. Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder[J]. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2015, 48: 186-194.
- [17] GIBSON GR, MACFARLANE GT, CUMMINGS JH. Occurrence of sulphate-reducing bacteria in human faeces and the relationship of dissimilatory sulphate reduction to methanogenesis in the large gut[J]. *The Journal of Applied Bacteriology*, 1988, 65(2): 103-111.
- [18] YACHIDA S, MIZUTANI S, SHIROMA H, SHIBA S, NAKAJIMA T, SAKAMOTO T, WATANABE H, MASUDA K, NISHIMOTO Y, KUBO M, HOSODA F, ROKUTAN H, MATSUMOTO M, TAKAMARU H, YAMADA M, MATSUDA T, IWASAKI M, YAMAJI

- T, YACHIDA T, SOGA T, et al. Metagenomic and metabolomic analyses reveal distinct stage-specific phenotypes of the gut microbiota in colorectal cancer[J]. *Nature Medicine*, 2019, 25(6): 968-976.
- [19] HIRANO A, UMENO J, OKAMOTO Y, SHIBATA H, OGURA Y, MORIYAMA T, TORISU T, FUJIOKA S, FUYUNO Y, KAWARABAYASI Y, MATSUMOTO T, KITAZONO T, ESAKI M. Comparison of the microbial community structure between inflamed and non-inflamed sites in patients with ulcerative colitis[J]. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2018, 33(9): 1590-1597.
- [20] BISSON-BOUTELLIEZ C, MASSIN F, DUMAS D, MILLER N, LOZNIEWSKI A. *Desulfovibrio* spp. survive within KB cells and modulate inflammatory responses[J]. *Molecular Oral Microbiology*, 2010, 25(3): 226-235.
- [21] WICHERS M, MAES M. The psychoneuroimmunopathophysiology of cytokine-induced depression in humans[J]. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 2002, 5(4): 375-388.
- [22] ROSSO AD, AGUILERA P, QUESADA S, CEREZO J, SPIAZZI R, CONLON C, MILANO C, IRAOLA G, COLUCCIO-LESKOW F, PENAS-STEINHARDT A, BELFORTE FS. New insights in ulcerative colitis associated gut microbiota in South American Population: *Akkermansia* and *Collinsella*, two distinctive genera found in Argentine subjects[J]. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, 2020, 8(3): 169-185.
- [23] VIJAY A, KOURAKI A, GOHIR S, TURNBULL J, KELLY A, CHAPMAN V, BARRETT DA, BULSIEWICZ WJ, VALDES AM. The anti-inflammatory effect of bacterial short chain fatty acids is partially mediated by endocannabinoids[J]. *Gut Microbes*, 2021, 13(1): 1997559.
- [24] 荣晗, 徐丹, 刘铁榜, 王明帮, 赵杰, 刘泱慧, 杨海晨, 张建. 抑郁症患者肠道菌群丰度和种类及基因功能通路的病例对照研究[J]. *中华精神科杂志*, 2017, 50(3): 208-213.
- RONG H, XU D, LIU TB, WANG MB, ZHAO J, LIU YH, YANG HC, ZHANG J. A case-control study on the abundance, species and gene functional pathway of gut microbiota in patients with depression[J]. *Chinese Journal of Psychiatry*, 2017, 50(3): 208-213 (in Chinese).