

# 精神分裂症患者不同时期血清细胞因子水平及肠道菌群宏基因组学研究

郜见亮<sup>1</sup>, 张爱国<sup>1</sup>, 姚理慧<sup>1</sup>, 陈苑苑<sup>1</sup>, 程鹏<sup>1</sup>, 苏虹<sup>3</sup>, 张许来<sup>1,2</sup>

**摘要** 目的 比较精神分裂症患者不同时期肠道菌群与细胞因子水平的变化,分析其与疾病症状之间的相关性,探索精神分裂症患者肠道菌群的变化对分裂症患者症状的影响。方法 纳入住院分裂症患者不同时期各40例,收集病程资料、性别、年龄、体质指数(BMI)等资料,收集血清,用超敏电化学发光分析技术检测患者细胞因子的水平,使用阳性与阴性症状量表(PANSS)评估分裂症患者的病情严重程度,采用MetaGeneMark进行患者肠道菌群的宏基因组测序。结果 患者急性期血清白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-10(IL-10)、白细胞介素-17(IL-17)、白细胞介素-23(IL-23)和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平均高于缓解期,两者结果有统计学的意义( $P < 0.05$ )。阳性与阴性症状量表(PANSS)阳性因子分

与TNF- $\alpha$ 和IL-17呈负相关( $r = -0.323, P < 0.05$ ;  $r = -0.356, P < 0.05$ ); IL-23与量表阴性因子得分显示正相关( $r = -0.349, P < 0.05$ ); IL-6与量表认知因子得分显示正相关( $r = -0.388, P < 0.05$ ); IL-23与量表总分呈正相关( $r = -0.368, P < 0.05$ )。急性期分裂症患者粪便样本内检测出的微生物多样性低于缓解期分裂症微生物的多样性,急性期与缓解期患者肠道菌群物种组成存在一定差异。结论 精神分裂症急性期血清细胞因子水平高于缓解期,部分细胞因子水平与临床症状存在相关性,患者的不同时期肠道微生物物种组成及多样性均发生了改变。

**关键词** 精神分裂症; 细胞因子; 肠道菌群; 宏基因

中图分类号 R 749.3

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2022)07-1142-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.07.024

2022-05-19 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81773518)

作者单位: <sup>1</sup> 安徽医科大学附属心理医院精神科, 合肥 230032

<sup>2</sup> 安徽省精神卫生中心, 安徽省精神心理疾病临床研究中心, 合肥 230022

<sup>3</sup> 安徽医科大学公共卫生学院流行病与卫生统计学系, 合肥 230032

作者简介: 郜见亮, 男, 本科, 副主任医师;

张许来, 男, 本科, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: Xulaizhang@ahmhcetnre.com

精神分裂症是一组病因、临床表现、治疗反应及病程不同的疾病。多起病于青壮年, 疾病对患者的影响通常严重而持续<sup>[1]</sup>。研究<sup>[2]</sup>表明精神分裂症存在免疫异常, 炎症因子的水平发生变化。但在疾病不同时期炎症因子水平是否具有差异, 不同时期炎症因子水平与疾病临床症状之间的病理生理机制

after catheter ablation(CA) of atrial fibrillation. **Methods** 92 patients with atrial fibrillation of CA who hospitalized in the Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University for the first time from July 2018 to December 2020 were collected. **Results** From the 3rd postoperative month to the 6th postoperative month, atrial fibrillation outpatients should follow-up each month. 92 patients were collected, of which 3 were missing during follow-up, 89 were followed up, and late postoperative recurrence ratio was 24%. Compared with patients without recurrence, re-current patients were significantly higher in age, smoking (30%), diabetes mellitus (38%), heart failure (29%), platelet count, left atrial diameter(LA), CHADS<sub>2</sub>, and CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc scores; furthermore Logistic regression analyzed variance factors that were not included in the score: CHADS<sub>2</sub>(OR = 13.473, 95% CI: 3.804 - 47.713), LA(OR = 1.193, 95% CI: 1.049 - 1.356) ( $P < 0.05$ ); CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc(OR = 5.363, 95% CI: 2.822 - 10.193), LA(OR = 1.245, 95% CI: 1.087 - 1.426) ( $P < 0.05$ ). ROC curves predicted the values of two sets of scores for late recurrence after CA, AUC(CHADS<sub>2</sub>) = 0.8578 (95% CI: 0.7618 - 0.9539), AUC(CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc) = 0.8848 (95% CI: 0.7985 - 0.9711). **Conclusion** LA, CHADS<sub>2</sub> and CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc scores are independent risk factors for late recurrence after CA of atrial fibrillation, and CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc scores have better predictive value.

**Key words** atrial fibrillation; catheter ablation; CHADS<sub>2</sub> scores; CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc scores

尚不明确。另有研究表明,肠道菌群的失调与抑郁<sup>[3]</sup>、焦虑<sup>[4]</sup>以及精神分裂症<sup>[5]</sup>有关。该研究比较了精神分裂症急性期和缓解期患者的血清细胞因子水平,以及其与疾病症状之间的相关性;通过 Meta-GeneMark 进行基因预测,对比精神分裂症急性发作期和缓解期肠道菌群的变化。

## 1 材料与方法

**1.1 病例资料** 纳入2018年6月—2019年12月安徽省精神卫生中心(合肥市第四人民医院)精神分裂症住院患者80例,其中急性期患者(急性组)40例,缓解期患者(缓解组)40例。入组标准:①患者及其家属知情并自愿签署知情同意书;②年龄20~60岁,符合《ICD-10 精神与行为障碍分类》精神分裂症诊断标准;③抗精神病药物治疗方案符合遵守精神分裂症诊疗规范;④急性组:入院后 PANSS 评分 $\geq 60$ 分;缓解组:经规范治疗后, PANSS 评分 $< 60$ 分。排除标准:①患有颅脑外伤、神经系统疾病及其他慢性躯体疾病,如高血压、糖尿病;② I 级亲属有精神病史;③有酒精、尼古丁其它精神活性物质依赖史;④妊娠期或哺乳期女性患者;⑤合并恶性肿瘤、自身免疫学疾病等或肠道感染性疾病治愈未超过3个月;⑥入组前接受电抽搐治疗;⑦近三个月有抗生素、糖皮质激素、益生菌制剂及其他免疫抑制剂使用史。本研究经安徽省精神卫生中心伦理委员会批准(批号: HSY-IRB-PJ-JZB-001)。

## 1.2 方法

**1.2.1 一般资料** 收集研究对象一般人口学资料,包括:年龄、性别、住址、文化程度、体质量、家族史、饮食习惯等。

**1.2.2 PANSS 量表<sup>[6]</sup> 评定** 首先对培训人员进行一致性培训,后由2名主治医师及以上职称的专科医师,采用 PANSS 量表对精神分裂症患者的症状进行评估,得出总分和因子分。因子分包括阳性因子条目,阴性因子条目,认知因子条目,兴奋因子条目,抑郁因子条目。

**1.2.3 血液样本采集及检测** 每名受试者空腹早晨7:00左右,由专人采集静脉血样本( $\sim 5$  ml)。后送至检验科,以3000 r/min 的转速离心5 min。分析前,血清样本储存在 $-80$  °C下。使用超敏电化学发光分析技术(Meso Scale Discovery)方法以测量血清炎症的生物标志物水平(IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-23 和 TNF- $\alpha$ )。完成后集中送至专业公司采用超敏电化学发光分析技术方法进行检验上述炎症

因子水平。Meso Scale Discovery 方法介绍:超敏电化学发光分析技术(Meso Scale Discovery)灵敏度可0.05 pg/ml,有效线性范围达6 log。

**1.2.4 粪便标本采集** 在患者入组1周内要求研究对象在早上使用无菌粪便干燥盒收集粪便标本,密封、编号,粪便样本放入有冰袋的保温盒中,尽快送置 $-80$  °C冰箱保存。

**1.2.5 粪便标本 DNA 提取** 采用德国 QIAGEN 公司的 QIAamp DNA 试剂盒,严格按照产品操作说明书进行操作,按一定的生物保护程序,在安全柜中提取样本总 DNA。通过 Agencourt AMPure XP-Mediumki 软件选择片段,保证样品的条带能集中在300~400 bp左右,进行文库检测后,通过预设的联合探针锚定聚合技术进行上机测序。

**1.2.6 测序数据处理** 由专业的生物检测公司检测处理,并出具报告。

**1.2.7 宏基因组** 采取 Denovo 套装、预测基因及基因集构建,使用预定组装的软件 MEGAHIT 对样品进行 Denovo 的组装。依据 MetaGeneMark 和 CD-Hit 程序完成对基因测序和基因构建,再后来利用 MEGAN 进行所需的物种注释和代谢的丰度统计。

**1.3 统计分析** 运用 SPSS 20.0 进行数据统计分析。结果中正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间的定量资料分析运用独立  $t$  检验;定性资料比较采用卡方检验。采用 Pearson 分析相关性,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 一般资料分析** 该研究总共纳入分裂症的急性期患者(急性组)和缓解期患者(缓解组)各40例。急性组性别为男性19例,女性21例,平均年龄为( $32.93 \pm 9.44$ )岁, BMI 为( $23.80 \pm 3.55$ )  $\text{kg}/\text{m}^2$ ;缓解组男性22例,女性18例,平均年龄为( $32.05 \pm 7.83$ )岁, BMI 为( $24.79 \pm 1.80$ )  $\text{kg}/\text{m}^2$ ;两组间性别组成、年龄和 BMI 差异均无统计学意义( $\chi^2 = 0.05$ ,  $P = 0.856$ ;  $Z = -0.169$ ,  $P = 0.871$ ;  $t = -1.571$ ,  $P = 0.122$ )。

**2.2 两组血清细胞因子水平的比较** 急性组清 IL-6 ( $t = 8.988$ ,  $P < 0.001$ )、IL-10 ( $Z = -3.551$ ,  $P < 0.001$ )、IL-17 ( $Z = -6.038$ ,  $P < 0.001$ )、IL-23 ( $Z = -5.138$ ,  $P < 0.001$ ) 和 TNF- $\alpha$  ( $Z = -6.928$ ,  $P < 0.001$ ) 浓度均明显高于缓解组,两组结果分析有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

**2.3 急性组 PANSS 各因子与细胞因子水平的关联性分析** Pearson 相关分析显示,急性组患者的阳

性因子分与 IL-17 和 TNF- $\alpha$  水平呈负相关 ( $P < 0.05$ ); 阴性因子分与 IL-23 水平呈正相关 ( $P < 0.05$ ); 认知因子分与 IL-6 水平呈正相关 ( $P < 0.05$ ); PANSS 总分与 IL-23 水平呈正相关 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

**2.4 缓解组 PANSS 各因子与细胞因子水平的相关性分析** Pearson 相关分析显示, 缓解组患者的细胞因子水平与 PANSS 各因子分及总分均无明显相关性。见表 3。

**2.5 急性期和缓解期患者肠道菌群基因多样性及**

**物种差异** 通过对两组符合检测要求的粪便样本进行肠道菌群宏基因分析, 共预测了 1 321 604 个基因 (图 1A)。Alpha 的多样性分析 (图 1B) 显示微生物多样性急性组指数 (shannon) 低于缓解组; Beta 的多样性 (图 1C) 分析两组表明微生物物种的差异组成具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 排名前 30 的研究差异物种 StamPPlot 展图 (图 2) 表明: 急性组拟杆菌属和埃希氏杆菌属丰度较缓解组升高 ( $P < 0.05$ ), 而乳酸菌属、普氏菌属丰度较缓解组降低 ( $P < 0.05$ ); 缓解组的粪杆菌属丰度升高 ( $P < 0.05$ )。

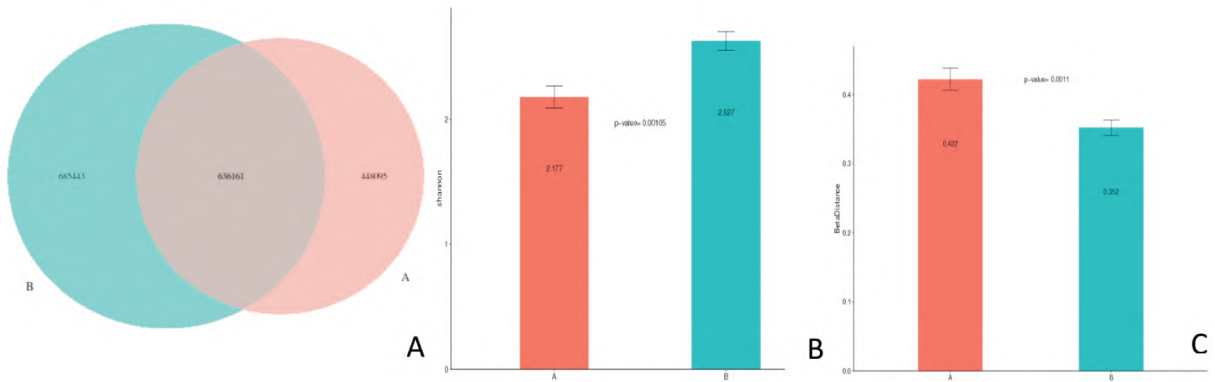


图 1 2 组粪便样本的肠道菌群宏基因分析

红色: 急性组; 蓝色: 缓解组; A: 肠道菌群宏基因预测量; B: Alpha 的多样性分析; C: Beta 的多样性分析

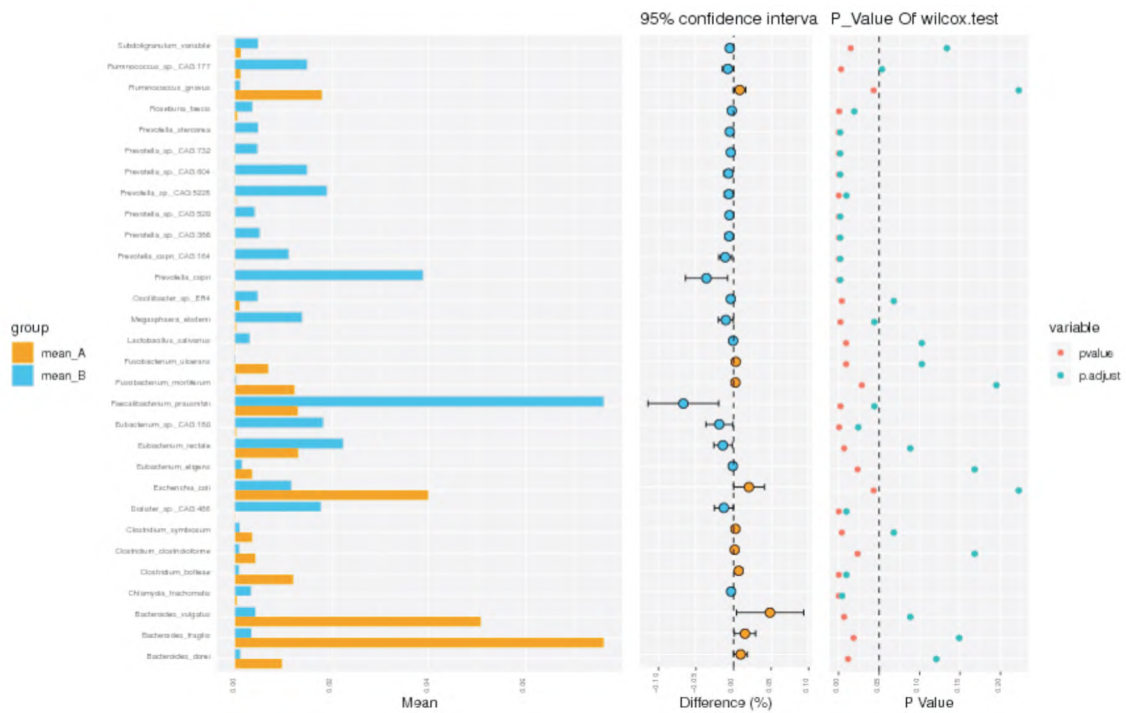


图 2 2 组粪便样本排名前 30 肠道菌群丰度比较

棕色: 急性组; 蓝色: 缓解组

表1 2组血清细胞因子水平比较(pg/ml  $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	IL-6	IL-10	IL-17	IL-23	TNF- $\alpha$
急性期	40	39.11 $\pm$ 7.03	33.67 $\pm$ 6.25	61.86 $\pm$ 8.03	48.57 $\pm$ 12.43	112.21 $\pm$ 18.37
缓解期	40	24.69 $\pm$ 7.26	27.25 $\pm$ 4.78	42.79 $\pm$ 11.22	25.15 $\pm$ 15.15	72.05 $\pm$ 14.44
t 值		8.663	-3.624	-5.998	-4.678	-7.151
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表2 急性组细胞因子与 PANSS 各因子分的相关性( $\bar{x} \pm s$  n=40)

细胞因子	阳性因子	阴性因子	认知因子	兴奋因子	抑郁因子	总分
IL-6	0.128	0.002	0.388	-0.105	0.137	0.144
IL-10	0.049	0.169	0.008	0.082	0.189	0.096
IL-17	-0.323	-0.044	-0.114	0.157	0.077	-0.159
IL-23	0.055	0.349	0.121	0.088	0.152	0.368
TNF- $\alpha$	-0.356	-0.136	-0.043	0.129	0.160	-0.201

表3 缓解组细胞因子与 PANSS 各因子分的相关性( $\bar{x} \pm s$  n=40)

细胞因子	阳性因子	阴性因子	认知因子	兴奋因子	抑郁因子	总分
IL-6	0.144	0.137	-0.161	0.068	0.043	0.107
IL-10	0.013	0.098	0.077	-0.166	0.135	0.053
IL-17	0.069	-0.079	-0.011	0.087	0.136	-0.066
IL-23	0.102	-0.043	0.122	0.091	-0.173	0.133
TNF- $\alpha$	0.073	0.152	-0.007	-0.122	0.111	0.115

### 3 讨论

目前有多项研究<sup>[2, 8-10]</sup>证实精神分裂症患者存在免疫学异常。该研究发现精神分裂症急性期患者的血清 IL-6、IL-10、IL-17、IL-23 和 TNF- $\alpha$  浓度均高于缓解期患者( $P < 0.01$ )，与 Upthegrove et al<sup>[2]</sup>的报告结果不完全一致，后者发现急性期精神分裂症患者血清炎症因子浓度升高的有 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$ ，浓度降低只有 IL-10。造成这种差异的原因可能是精神分裂症各亚型之间的免疫学异常存在差异。该研究还显示分裂症急性期细胞因子水平与患者临床症状存在相关性，该结果提示炎症性反应参与了精神分裂症的发病，并影响了精神分裂症的严重程度。

Miller et al<sup>[8]</sup>和冯薇等<sup>[9]</sup>发现精神分裂症患者外周血 IL-6 水平与治疗前后 PANSS 总分和病程之间存在正相关。该研究结果显示精神分裂症急性期患者 IL-17 和 TNF- $\alpha$  水平与 PANSS 量表阳性因子得分与 TNF- $\alpha$  和 IL-17 呈负相关；IL-23 水平与阴性因子分呈正相关，与总分呈正相关，IL-6 水平与认知因子分呈正相关。这与以上研究结论有一致性，但是该研究所测定的炎症因子种类与上述研究不同，故结果不尽相同。总体来说，临床上的药物治疗可

以降低轻患者的炎症水平，急性期患者细胞因子水平与症状存在一定相关性。

有研究<sup>[10-11]</sup>表明：服用益生菌补充剂，精神分裂症患者的 PANSS 得分降低，提示改变肠道微生物的结构，可能会对精神分裂症的治疗效果产生影响。黄侠等<sup>[12]</sup>发现精神分裂症患者较正常人群肠道菌群结构特征发生了明显的变化。本研究结果表明急性发作期的精神分裂症患者样本内微生物丰度明显低于缓解期，两组之间微生物物种组成存在差异。本研究还显示：急性发作期精神分裂症患者拟杆菌属、普氏菌属和埃希氏杆菌属物种丰度高于缓解期。与张言武等<sup>[13]</sup>的研究结果一致。另外，本研究表明精神分裂症急性期患者乳酸菌属丰度较缓解期明显降低，而有研究<sup>[14-15]</sup>显示：精神分裂症患者乳酸菌丰度明显升高，且与临床症状严重程度有关。造成这种差异的原因可能是研究方法不同、样本量大小差异、饮食结构差异等。

综上所述，本研究结果提示分裂症患者可能存在免疫功能的异常，且炎症因子的水平与疾病严重程度有关。同时也发现了该类患者存在肠道菌群的紊乱。细胞因子的种类很多，本研究仅选择了5种细胞因子，另外，该研究结果仅观察到患有分裂症疾病者肠道菌群存在异常。精神分裂症炎症水平的异常与肠道菌群的变化是否存在相关性，以及肠道菌群紊乱是如何对精神分裂症的发病产生影响的，需要纳入更多的样本，更深入的研究去探讨。

### 参考文献

- [1] Van Os J, Kapur S. Schizophrenia [J]. Lancet, 2009, 374 (9690): 635-45.
- [2] Upthegrove R, Manzanares-Teson N, Barnes N M. Cytokine function in medication-naive first episode psychosis: a systematic review and meta-analysis [J]. Schizophr Res, 155(1-3): 101-8.
- [3] Kelly J R, Borre Y, O'Brien C, et al. Transferring the blues: Depression-associated gut microbiota induces neurobehavioural changes in the rat [J]. J Psychiatr Res, 2016, 82: 109-18.
- [4] Shen Y, Xu J, Li Z, et al. Analysis of gut microbiota diversity and auxiliary diagnosis as a biomarker in patients with schizophrenia: a cross-sectional study [J]. Schizophr Res, 2018, 197: 470-7.

- [5] Zheng P, Zeng B, Liu M, et al. The gut microbiome from patients with schizophrenia modulates the glutamate-glutamine-GABA cycle and schizophrenia-relevant behaviors in mice [J]. *Sci Adv* 2019, 5(2): eaau8317.
- [6] 何燕玲, 张明园. 阳性和阴性症状量表的中国常模和因子分析[J]. *中国临床心理学杂志*, 2000, 8(2): 65-9.
- [7] 李文正, 夏磊, 张雨龙等. 慢性精神分裂症血脂代谢特征及其与HS-CRP的关系[J]. *安徽医科大学学报*, 2019, 54(12): 1975-9.
- [8] Miller B J, Buckley P, Seabolt W, et al. Meta-analysis of cytokine alterations in schizophrenia: clinical status and antipsychotic effects[J]. *Biol Psychiatry*, 2011, 70(7): 663-71.
- [9] 冯薇, 贾强, 谭淑平等. 稳定期精神分裂症患者血浆细胞因子水平与认知功能的相关研究[J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2019, 28(11): 983-7.
- [10] Ghaderi A, Banafshe H R, Mirhosseini N, et al. Clinical and metabolic response to vitamin D plus probiotic in schizophrenia patients[J]. *BMC Psychiatry*, 2019, 19(1): 77.
- [11] Okubo R, Koga M, Katsumata N, et al. Effect of bifidobacterium breve A-1 on anxiety and depressive symptoms in schizophrenia: a proof-of-concept study[J]. *J Affect Disord*, 2019, 245: 377-85.
- [12] 黄侠, 卓敏, 李时佳等. 精神分裂症患者肠道菌群结构特征初步观察与分析[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2019, 45(07): 401-6.
- [13] 张言武, 白丽君, 程强等. 精神分裂症发作期与缓解期肠道菌群高通量测序分析[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2018, 44(12): 5-9.
- [14] Schwarz E, Maukonen J, Hyttiäinen T, et al. Analysis of microbiota in first episode psychosis identifies preliminary associations with symptom severity and treatment response[J]. *Schizophr Res*, 2018, 192: 398-403.
- [15] Castro-Nallar E, Bendall M L, Pérez-Losada M, et al. Composition, taxonomy and functional diversity of the oropharynx microbiome in individuals with schizophrenia and controls [J]. *PeerJ*, 2015, 3: e1140.

## Abnormal serum cytokine levels and metagenomics of intestinal flora in patients with schizophrenia

Gao Jianliang<sup>1</sup>, Zhang Aiguo<sup>1</sup>, Yao Lihui<sup>1</sup>, Chen Yuanyuan<sup>1</sup>, Cheng Peng<sup>1</sup>, Su Hong<sup>3</sup>, Zhang Xulai<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Dept of Psychiatry, Affiliated Psychological Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022;

<sup>2</sup>Anhui Mental Health Center, Anhui Clinical Research Center for Mental Disorders, Hefei 230022;

<sup>3</sup>Dept of Epidemiology and Health Statistics, School of Public Health, Anhui Medical University, Hefei 230022)

**Abstract Objective** This study is designed to compare the changes of intestinal microflora and cytokine levels in patients with schizophrenia in different periods, analyze the correlation between intestinal microflora and disease symptoms, and explore the influence of intestinal microflora changes on the symptoms of patients with schizophrenia.

**Methods** 40 schizophrenic patients in different periods were included in the study, with their demographic data of age, body mass index (BMI), sex and course of disease collected. For each subject, serum was first collected for the levels of cytokines to be determined by an Meso Scale Discovery. The severity of schizophrenia was then assessed using negative and positive symptom scales. Finally macrofactor sequencing of intestinal flora was performed using MetaGeneMark.

**Results** Serum levels of interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), interleukin-17 (IL-17), interleukin-23 (IL-23), and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in the acute stage were higher than those in remission stage, and the results were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Negative and positive symptom Scale (PANSS) positive factor scores were negatively correlated with TNF- $\alpha$  and IL-17 ( $R = -0.312, P < 0.05$ ;  $R = -0.399, P < 0.05$ ); IL-23 was positively correlated with the negative factor score of the scale ( $R = -0.344, P < 0.05$ ). IL-6 was positively correlated with scale cognitive factor score ( $R = -0.339, P < 0.05$ ). IL-23 was positively correlated with the total score of the scale ( $R = -0.370, P < 0.05$ ). The microbial diversity detected in stool samples of patients with acute schizophrenia was lower than that of patients with remission, and certain difference was detected in the intestinal flora species composition between patients in the acute stage and in the remission stage.

**Conclusion** The level of serum cytokines in the acute stage of schizophrenia is higher than that in the remission stage, and some cytokines levels are correlated with clinical symptoms.

**Key words** schizophrenia; cytokine; intestinal flora; metagenomics