

学科新探

DOI: 10.16305/j.1007-1334.2026.z20250813008

慢性胃炎湿证患者舌苔菌群特征研究

蔡彬彬^{1,2}, 尤致远^{1,2}, 徐艺峰^{1,2}, 陆俊红^{1,2}, 王忆勤^{1,2}, 郝一鸣^{1,2}

1. 上海中医药大学(上海 201203); 2. 上海市健康辨识与评估重点实验室/中医四诊信息化实验室(上海 201203)

【摘要】 **目的** 通过分析慢性胃炎湿证、非湿证患者的舌苔菌群特征,探究舌苔菌群与证候间的相关性,为该病证客观化及生物学研究提供数据支持。**方法** 选取慢性胃炎患者 328 例,根据中医辨证标准,将其分为湿证组(153 例)与非湿证组(175 例),其中湿证组包含寒湿困脾组(70 例)和脾胃湿热组(83 例),非湿证组包含脾胃虚寒组(98 例)和胃阴不足组(77 例);健康者 50 例,设为健康对照组。运用 16S rDNA 高通量测序技术检测并分析各组舌苔菌群的丰度及多样性,应用 Spearman 法进行舌苔菌群与证候间的相关性分析。**结果** ①差异菌属显示:与健康对照组比较,寒湿困脾组有 18 个菌属丰度具有显著性差异 [$P<0.05$, 线性判别(LDA) >0.7],脾胃湿热组也有 18 个菌属具有显著性差异 ($P<0.05$, LDA >0.7),这两组差异菌属中有 17 个相同菌属,其中 7 个菌属丰度在健康对照组中显著降低 ($P<0.05$, LDA >0.7),10 个菌属丰度在健康对照组中显著上升 ($P<0.05$, LDA >0.7);与脾胃虚寒组比较,寒湿困脾组有 4 个菌属具有显著性差异 ($P<0.05$, LDA >0.7);与脾胃湿热组比较,寒湿困脾组在门水平上有 1 个菌门具有显著性差异 ($P<0.05$, LDA >0.7)。②相关性分析显示:脾胃湿热证与 7 个菌属呈显著相关性,与月形单胞菌属 ($R=0.21$, $P<0.001$)、巨球型菌属 ($R=0.34$, $P<0.001$)、奇异菌属 ($R=0.28$, $P<0.001$) 呈正相关,与梭杆菌属 ($R=-0.21$, $P<0.001$)、卡氏菌属 ($R=-0.24$, $P<0.001$)、孪生球菌属 ($R=-0.29$, $P<0.001$)、嗜血杆菌属 ($R=-0.28$, $P<0.001$) 呈负相关;脾胃虚寒证与消化链球菌属 ($R=0.25$, $P<0.001$)、卡氏菌属 ($R=0.23$, $P<0.001$) 呈显著正相关。**结论** 慢性胃炎湿证(寒湿困脾证、脾胃湿热证)与非湿证(脾胃虚寒证、胃阴不足证)及健康者的舌苔菌群在门、属水平存在显著差异,且脾胃湿热证、寒湿困脾证与特定菌属呈现相关性,提示舌苔微生物群落特征可作为慢性胃炎湿证的客观生物学标志,为中医湿证客观化研究提供了新的微生物学依据。**【关键词】** 慢性胃炎;湿证;舌苔;菌群;微生物组学;中医诊断

Characterization of tongue coating microbiota in chronic gastritis patients with dampness syndromes

CAI Binbin^{1,2}, YOU Zhiyuan^{1,2}, XU Yifeng^{1,2}, LU Junhong^{1,2}, WANG Yiqin^{1,2}, HAO Yiming^{1,2}

1. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Shanghai Key Laboratory of Health Identification and Assessment/Laboratory of TCM Four Diagnostic Information, Shanghai 201203, China

Abstract: Objective To explore the correlation between tongue coating microbiota and traditional Chinese medicine (TCM) syndromes by analyzing the characteristics of tongue coating microbiota in chronic gastritis patients with and without dampness syndromes, thereby providing data support for the objectification and biological research of dampness syndromes. **Methods** A total of 328 chronic gastritis patients were enrolled and divided into the dampness syndrome group ($n=153$) and non-dampness syndrome group ($n=175$) according to TCM syndrome differentiation criteria. The dampness syndrome group was further subdivided into the cold-dampness affecting the spleen (CDAS) subgroup ($n=70$) and damp-heat in the spleen-stomach (DHSS) subgroup ($n=83$), while the non-dampness syndrome group included the deficiency-cold of spleen-stomach (DCSS) subgroup ($n=98$) and stomach-yin deficiency (SYD) subgroup ($n=77$). Additionally, 50 healthy volunteers were recruited as the healthy control (HC) group. High-throughput 16S rDNA sequencing technology was used to detect and analyze the abundance and diversity of tongue coating microbiota in each

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82174279, 81703982);
上海市科委科技计划项目(21DZ2271000)

[作者简介] 蔡彬彬,女,硕士研究生,主要从事中医湿证的
机制研究工作

[通信作者] 郝一鸣,研究员,硕士研究生导师;

E-mail: hymjj888@163.com

group. Spearman correlation analysis was used to investigate the relationship between tongue coating microbiota and TCM syndromes.

Results ① Differential bacterial genera analysis: Compared with the HC group, 18 bacterial genera showed significant differences in abundance in the CDAS subgroup ($P<0.05$, $LDA>0.7$), and also 18 bacterial genera exhibited significant differences in the DHSS subgroup ($P<0.05$, $LDA>0.7$). Among these differential genera, 17 were shared between the two subgroups. Of these shared genera, 7 showed significantly decreased ($P<0.05$, $LDA>0.7$) abundance and 10 showed significantly increased ($P<0.05$, $LDA>0.7$) abundance in the HC group. Compared with the DCSS subgroup, 4 bacterial genera displayed significant differences in the CDAS subgroup ($P<0.05$, $LDA>0.7$). At the phylum level, 1 phylum showed a significant difference between the CDAS subgroup and the DHSS subgroup ($P<0.05$, $LDA>0.7$). ② Correlation analysis: DHSS syndrome was significantly correlated with 7 bacterial genera: it was positively correlated with *Selenomonas* ($R=0.21$, $P<0.001$), *Megasphaera* ($R=0.34$, $P<0.001$), *Atopobium* ($R=0.28$, $P<0.001$), and negatively correlated with *Fusobacterium* ($R=-0.21$, $P<0.001$), *Catonella* ($R=-0.24$, $P<0.001$), *Gemella* ($R=-0.29$, $P<0.001$), *Haemophilus* ($R=-0.28$, $P<0.001$). DCSS syndrome was significantly correlated with 2 bacterial genera: it was positively correlated with *Peptostreptococcus* ($R=0.25$, $P<0.001$), *Catonella* ($R=0.23$, $P<0.001$). **Conclusions** Significant differences in tongue coating microbiota composition exist at both the phylum and genus levels among chronic gastritis patients with dampness syndromes (CDAS, and DHSS), patients with non-dampness syndromes (DCSS, and SYD) and healthy individuals. Moreover, DHSS syndrome and CDAS syndrome correlate with specific bacterial genera. These findings suggest that the characteristics of the tongue coating microbial community may serve as objective biomarkers for dampness syndromes in chronic gastritis, providing novel microbiological evidence for the objectification research of TCM dampness syndromes.

Keywords: chronic gastritis; dampness syndromes; tongue coating; microbiota; microbiomics; traditional Chinese medicine diagnosis

慢性胃炎是我国人群中最常见的消化系统疾病。随着生活方式的改变和社会经济水平的提高,慢性胃炎的发病率逐年升高,严重影响国民健康和生活质量。湿证是慢性胃炎常见的中医证候,而湿邪亦是其发生发展的重要病机之一。《黄帝内经》言“舌为脾之外候”,《形色外诊简摩》曰“苔乃胃气之所熏蒸”,随着疾病的发生发展,脾胃的生理、病理变化逐渐反映在舌苔变化上。舌苔作为附着于舌背上的可见层,由细菌、真菌、血液代谢物、唾液和脱落的角化上皮组成,这些上皮来源于丝状乳头^[1]。丝状乳头是构成舌苔的一种特定结构,这种舌黏膜的特定结构在舌头表面形成许多裂纹和褶皱^[2],容易导致微生物群落的定植、生长与繁殖。因此,舌苔菌群作为口腔菌群的重要组成部分,其组成变化可反映胃部疾病发展。

近年来,16S rDNA 高通量测序技术突破了传统培养技术的局限,成为常用的证候研究方法,为深入解析舌苔菌群与慢性胃炎证候之间的关联提供了新途径。本研究将采集的慢性胃炎湿证(寒湿困脾证、脾胃湿热证)、非湿证(脾胃虚寒证、胃阴不足证)患者和健康者的舌苔样本,运用16S rDNA 高通量测序技术分析慢性胃炎湿证与非湿证的舌苔差异菌群,并探究舌苔菌群与证候间的关联性,以期慢性胃炎湿证机制研究提供生物学基础。

1 资料与方法

1.1 研究对象来源 本研究慢性胃炎患者均来自于2021年3月至2022年12月上海中医药大学附属

龙华医院门诊及胃镜室;健康者来源于上海中医药大学健康本科生和研究生。本研究方案经上海中医药大学附属龙华医院医学伦理委员会批准(批准号:2021LCSY085)。

1.2 诊断标准 西医诊断标准参考《中国慢性胃炎诊治指南(2022年,上海)》^[3],中医辨证标准主要根据《慢性胃炎中医诊疗专家共识(2023)》^[4]中相关内容。

1.3 纳入标准 慢性胃炎患者:①符合上述诊断标准;②近6个月内未使用过抗生素药物;③近1周内未食用乳酸菌、益生菌食品及槟榔;④年龄18~80岁;⑤签订知情同意书。

健康者:①无胃病史及当前胃部不适,且无全身各系统器质性病变;②近1个月内无舌、口、鼻、咽等局部病变;③近3个月内未使用抗生素药物;④舌质淡红、苔薄白而润;⑤年龄18~80岁;⑥签订知情同意书。

1.4 排除标准 慢性胃炎患者:①患有十二指肠溃疡、胃溃疡、胃出血及肠道疾病者;②合并严重的心、肺、肝、肾等脏器疾病或精神疾病者;③妊娠或准备妊娠及哺乳期妇女;④过敏体质或药物过敏者;⑤吸烟、酗酒者;⑥排除典型的兼夹证型者。

健康者:①妊娠或准备妊娠及哺乳期妇女;②过敏体质或药物过敏者;③吸烟、酗酒者。

1.5 样本采集 慢性胃炎患者在胃镜检查服用消泡剂前采集舌苔样本,健康者在晨起空腹时采集舌苔样本,所有受试者均确保6~8h的空腹时间。具

体方法:嘱受试者用9%氯化钠溶液漱口1~2次,之后用无菌拭子在受试者舌苔刮取2次,随后将带有样本的拭子头放入5 mL离心管中于-80℃冰箱保存,待采集样本数量满足后进行微生物组学检测。样本采集时均由2名副高及以上职称的医师独立辨证,仅纳入辨证结果一致的病例。

1.6 微生物组学检测 首先使用十六烷基三甲基溴化铵法从不同样本中提取DNA。针对微生物群落的16S rDNA V3~V4可变区,使用特异性引物341F(5'-CCTACGGGCGWGCAG-3')、805R(5'-GACTACH VGGGTATCTAATCC-3')进行聚合酶链反应(PCR)扩增。扩增反应在25 μL体系中进行,具体程序如下:98℃初始变性30 s;接着进行32轮循环,每轮包括98℃变性10 s、54℃退火30 s、72℃延伸45 s;循环结束后于72℃下进行10 min最终延伸。PCR产物通过2%琼脂糖凝胶电泳进行确认,最后合格的扩增子在Illumina NovaSeq测序平台上进行高通量测序。

1.7 统计学方法

1.7.1 基线统计方法 采用SPSS 25.0软件对基线数据进行统计学分析。计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,符合正态分布者采用 t 检验,否则采用秩和检验;计数资料采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

1.7.2 生物信息学分析 α 、 β 多样性分析与物种分析。 α 多样性分析主要通过simpson、chao1和goods coverage指数来反映微生物多样性、丰度和均匀性。稀释曲线可直接反映测序数据量的合理性,还可间接反映出样品的丰度,当曲线趋于平缓时,说明数据量渐近合理,更多的数据量只会产生少量新的物种。 β 多样性是指不同环境群落之间的物种差异性,与上述的 α 多样性共同构成了总体多样性或生物异质性。 β 多样性的分析方法非度量多维尺度分析(NMDS)是一种基于样本距离矩阵的排序方法,胁强系数用以度量二维NMDS的拟合优度。使用SILVA(Release 138)和NT-16S数据库做物种分类及

后续分析可以更加准确地分析物种的组成,注释结果也更加完整准确;注释阈值:置信度 >0.7 。

线性判别(LDA)Effect Size分析(LEfSe)。LEfSe差异分析可找到组间丰度上具有显著性差异的物种,且能更加直观展现组间所有层级的差异物种;注释阈值:置信度 >0.7 。具体为先利用Kruskal-Wallis秩和检验检测所有的特征物种,通过检测不同组间的物种丰度差异,获得显著性差异物种;再利用Wilcoxon秩和检验检测上步获得的显著性差异物种的所有亚种是否都趋同于同一分类级别;最后使用LDA法,得到最终的差异物种。相关性分析使用Spearman法计算相关性系数(Corr)矩阵、相关性 P 值(P -value)矩阵。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 本研究共纳入慢性胃炎患者328例,根据中医辨证标准,将其分为湿证组(153例)与非湿证组(175例),其中湿证组包含寒湿困脾组(70例)和脾胃湿热组(83例),非湿证组包含脾胃虚寒组(98例)和胃阴不足组(77例);健康者50例,设为健康对照组,各分组基本信息见表1。经统计,寒湿困脾组、脾胃湿热组、脾胃虚寒组、胃阴不足组、健康对照组在性别、体重指数(BMI)方面,差异均无统计学意义($P>0.05$);在年龄方面差异具有统计学意义($P<0.05$),符合慢性胃炎患病率与年龄呈正相关的观点^[5]。寒湿困脾组、脾胃湿热组、脾胃虚寒组、胃阴不足组在质子泵抑制剂(PPI)使用情况方面,差异无统计学意义($P>0.05$)。

为了评估年龄对结果的影响,本研究对健康对照组与各证候组进行了主成分分析(PCA),以分析年龄对整体菌群结构的影响。结果显示,不同年龄层次的样本在PCA得分图上呈现随机混杂分布,未观察到明显的年龄相关聚类现象。这表明在本研究人群中,年龄并未引起舌苔菌群整体结构出现显著系统性偏移。见图1。

表1 各组基线资料比较

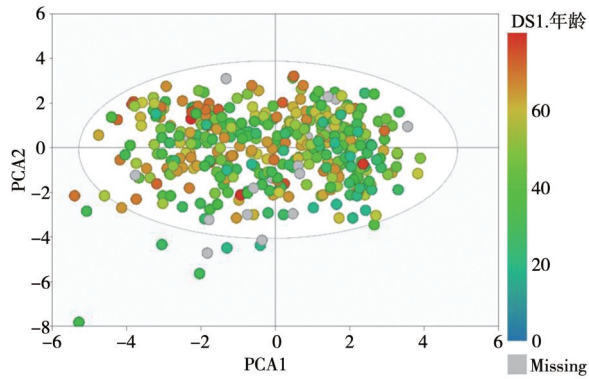
项目	寒湿困脾组($n=70$)	脾胃湿热组($n=83$)	脾胃虚寒组($n=98$)	胃阴不足组($n=77$)	健康对照组($n=50$)
年龄/岁	46.40±14.61*	51.22±15.27*	48.14±13.57*	49.18±15.68*	21.82±2.83
性别(男/女)/例	30/40	38/45	43/55	31/46	24/26
BMI/(kg/m ²)	22.45±3.48	23.04±3.16	22.08±3.96	22.22±3.35	22.48±3.92
PPI使用情况(服用/未服用)/例	19/51	31/52	22/76	24/53	0/50

注: BMI为体重指数, PPI为质子泵抑制剂;与健康对照组比较, * $P<0.05$ 。

2.2 舌苔菌群分析

2.2.1 α 多样性分析 与健康对照组比较,寒湿困脾组、脾胃湿热组、脾胃虚寒组、胃阴不足组chao1

指数均较高($P<0.05$),而simpson指数和goods coverage指数无显著性差异($P>0.05$)。上述结果说明,健康对照组舌苔微生物物种数目较少,而在多



注:PCA1、PCA2分别代表基于年龄数据提取的第一、第二主成分;图中每个散点代表1例受试者,颜色深浅代表年龄梯度,缺失值为灰色。

图1 健康对照组与各证候组的年龄主成分分析
样性和均匀性方面与寒湿困脾组、脾胃湿热组、脾胃虚寒组、胃阴不足组相似。见表2。

表2 各组α多样性指数比较

组别	n	simpson 指数	chao1 指数	goods coverage 指数
健康对照组	50	0.94±0.03	261.93±54.71	1.00±0.00
寒湿困脾组	70	0.94±0.04	330.09±94.78*	1.00±0.00
脾胃湿热组	83	0.94±0.03	318.88±73.42*	1.00±0.00
脾胃虚寒组	98	0.94±0.03	321.38±85.57*	1.00±0.00
胃阴不足组	77	0.94±0.03	317.75±92.77*	1.00±0.00

注:与健康对照组比较,*P<0.05。

由图2可见,舌苔菌群丰度 chao1 指数的稀释曲线平缓,但在测序数据量达到最大时尚未饱和;舌苔菌群多样性 simpson 指数的稀释曲线平缓且饱和,说明本研究所有样本的微生物多样性已被基本测出。

2.2.2 β多样性分析 在各组的比较中,寒湿困脾组与健康对照组相比肋强系数为0.16、寒湿困脾组与脾胃虚寒组相比肋强系数为0.16、寒湿困脾组与脾胃湿热组相比肋强系数为0.15、脾胃湿热组与健康对照组相比肋强系数为0.16、胃阴不足组与脾胃湿热组相比肋强系数为0.16,说明各组舌苔的菌群构成具有一定的差异性。

2.2.3 物种分析 根据扩增子序列变体(ASV)注释结果和各样本 ASV 丰度表,获得7个水平的物种丰度表,分别是界、门、纲、目、科、属、种,并针对不同水平物种丰度表进行各组物种组成分析。

选取丰度最高的30个物种进行分类,用堆叠柱状图展示各组属水平的相对丰度。由图3可见,普雷沃氏菌属_7(*Prevotella_7*)、韦荣氏球菌属(*Veillonella*)、奈瑟菌属(*Neisseria*)、嗜血杆菌属(*Haemophilus*)、链球菌属(*Streptococcus*)、梭杆菌属

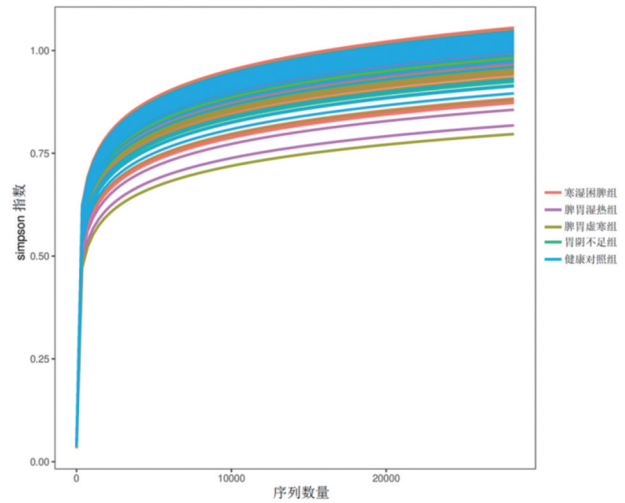
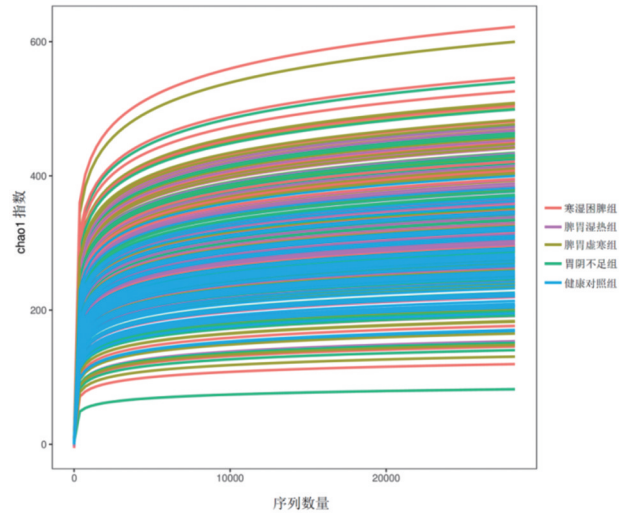


图2 各组舌苔菌群丰度、多样性稀释曲线图

(*Fusobacterium*)、普雷沃氏菌属(*Prevotella*)、放线菌属(*Actinomyces*)、拟普雷沃氏菌属(*Alloprevotella*)、纤毛菌属(*Leptotrichia*)等菌属均在各组中明显聚集。但各菌属在各组中的丰度不同,卟啉菌属(*Porphyromonas*)在寒湿困脾组中丰度最高,普雷沃氏菌属在脾胃湿热组中丰度最高,拟普雷沃氏菌属在脾胃虚寒组中丰度最高,普雷沃氏菌属_7在胃阴不足组中丰度最高。

2.2.4 差异菌群分析 结果发现,在脾胃湿热组与胃阴不足组之间未检测到显著差异菌群。

(1)寒湿困脾组与健康对照组舌苔差异菌群

与健康对照组相比,寒湿困脾组中丰度显著上升的菌属有月形单胞菌属(*Selenomonas*)、*Absconditabacteriales_SRI_unclassified*、消化链球菌属(*Peptostreptococcus*)、巨球形菌属(*Megasphaera*)、拟普雷沃氏菌属、普雷沃氏菌属、韦荣氏球菌属、普雷沃氏菌属_7($P<0.05, LDA>0.7$);丰度显著下降的菌

属有链球菌属、嗜血杆菌属、放线菌属、梭杆菌属、毛球菌属(*Trichococcus*)、罗斯氏菌属(*Rothia*)、孪生球菌属(*Gemella*)、颗粒链菌属(*Granulicatella*)、毛

绒厌氧杆菌属(*Lachnoanaerobaculum*)和乳杆菌属(*Lactobacillus*, $P < 0.05$, $LDA > 0.7$)。见图 4。

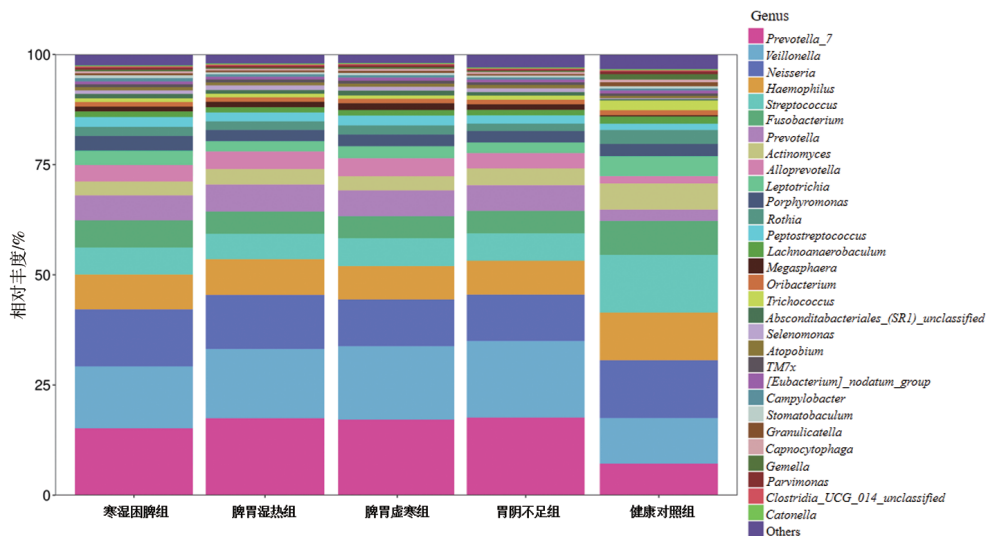


图 3 各组舌苔菌群属水平相对丰度图

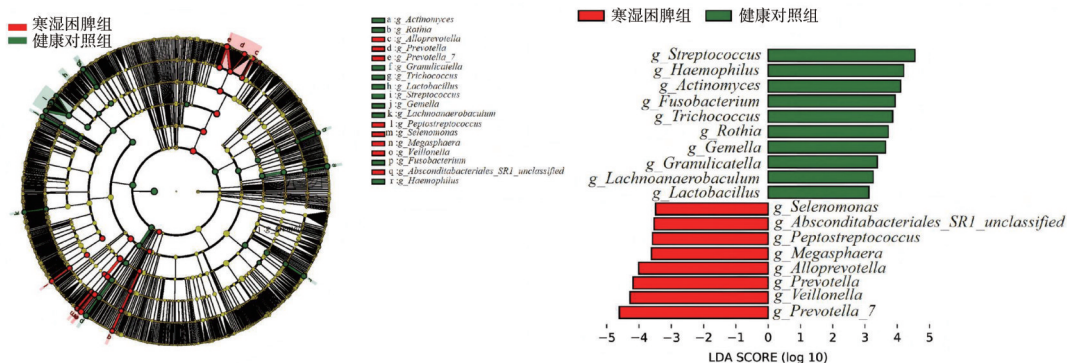


图 4 寒湿困脾组与健康对照组比较的多级物种层级树图和线性判别(LDA)分析柱图

(2)脾胃湿热组与健康对照组舌苔差异菌群

与健康对照组相比,脾胃湿热组中消化链球菌属、月形单胞菌属、巨球形菌属、拟普雷沃氏菌属、普雷沃氏菌属、韦荣氏球菌属、普雷沃氏菌属_7丰度显

著上升($P < 0.05$, $LDA > 0.7$);链球菌属、梭杆菌属、放线菌属、嗜血杆菌属、纤毛菌属、毛球菌属、罗斯氏菌属、孪生球菌属、颗粒链菌属、毛绒厌氧杆菌属和乳杆菌属丰度显著下降($P < 0.05$, $LDA > 0.7$)。见图 5。

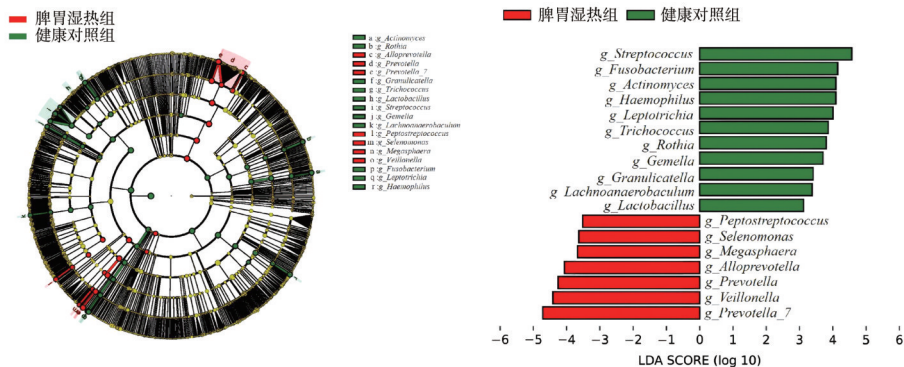


图 5 脾胃湿热组与健康对照组比较的多级物种层级树图和线性判别(LDA)分析柱图

(3)寒湿困脾组与脾胃虚寒组舌苔差异菌群
与脾胃虚寒组相比,寒湿困脾组中金黄杆菌属(*Chryseobacterium*)、解糖微小寄生菌(*Candidatus_Saccharibacteria_unclassified*)丰度显著上升($P <$

0.05, $LDA > 0.7$); 韦荣氏球菌属、梭状芽孢杆菌_vadinBB60 (*Clostridia_vadinBB60_group_unclassified*)丰度显著下降($P < 0.05, LDA > 0.7$)。见图6。

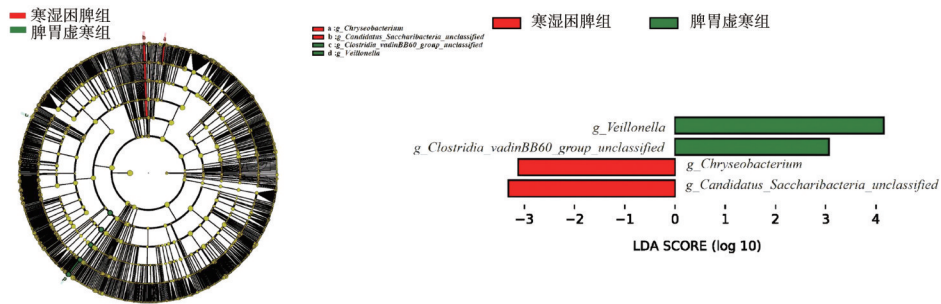


图6 寒湿困脾组与脾胃虚寒组比较的多级物种层级树图和线性判别(LDA)分析柱图

(4)寒湿困脾组与脾胃湿热组舌苔差异菌群
寒湿困脾组与脾胃湿热组在属水平未发现差异菌群;但在门水平上发现,寒湿困脾组中梭杆菌门

(*Fusobacteriota*)丰度显著升高($P < 0.05, LDA > 0.7$)。见图7。

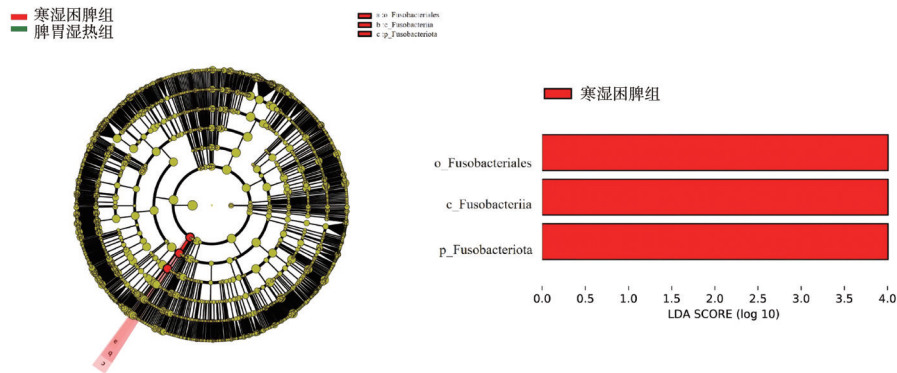


图7 寒湿困脾组与脾胃湿热组比较的多级物种层级树图和线性判别(LDA)分析柱图

2.3 相关性分析 为了进一步分析舌苔菌群与各证候的关联性,本研究将丰度前30的菌属与各证候进行相关性分析,并对分析结果实施校正。结果显示:寒湿困脾证与普雷沃氏菌属_7($R=0.15, P < 0.05$)、韦荣氏球菌属($R=0.13, P < 0.05$)、普雷沃氏菌属($R=0.17, P < 0.05$)呈正相关;与纤毛菌属($R=-0.14, P < 0.05$)、梭杆菌属($R=-0.13, P < 0.05$)、李生球菌属($R=-0.14, P < 0.05$)呈负相关。

0.05)、毛球菌属($R=-0.17, P < 0.05$)、李生球菌属($R=-0.29, P < 0.001$)、嗜血杆菌属($R=-0.28, P < 0.001$)、罗斯氏菌属($R=-0.18, P < 0.001$)呈负相关。

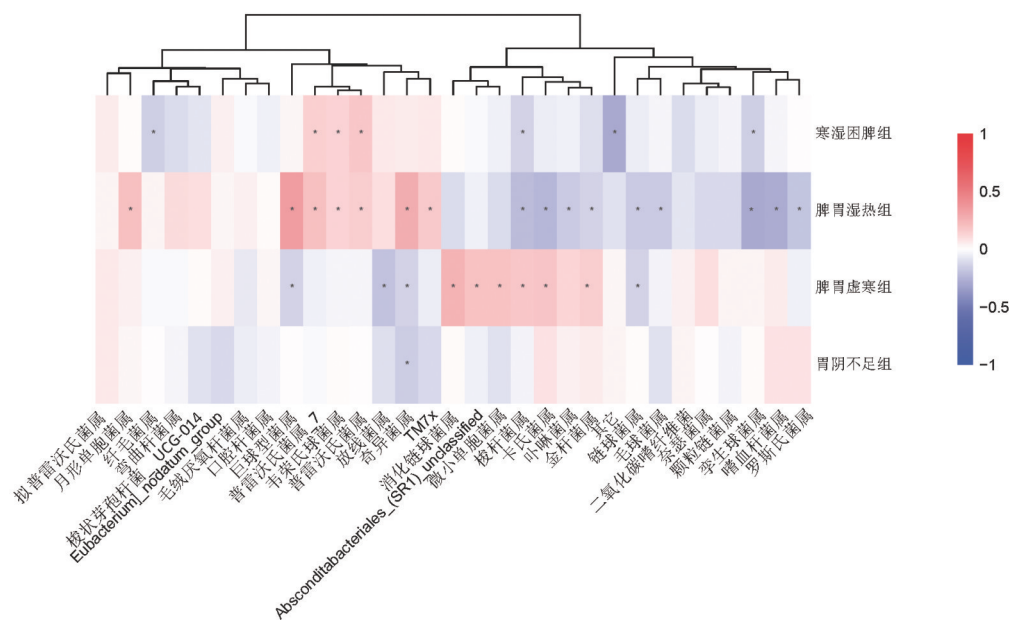
脾胃湿热证与月形单胞菌属($R=0.21, P < 0.001$)、巨球形菌属($R=0.34, P < 0.001$)、普雷沃氏菌属_7($R=0.20, P < 0.001$)、韦荣氏球菌属($R=0.13, P < 0.05$)、普雷沃氏菌属($R=0.16, P < 0.05$)、奇异菌属($R=0.28, P < 0.001$)、TM7x($R=0.16, P < 0.05$)呈正相关;与梭杆菌属($R=-0.21, P < 0.001$)、卡氏菌属($R=-0.24, P < 0.001$)、卟啉菌属($R=-0.17, P < 0.05$)、金杆菌属($R=-0.13, P < 0.05$)、链球菌属($R=-0.16, P <$

脾胃虚寒证与消化链球菌属($R=0.25, P < 0.001$)、Absconditabacteriales_(SR1)_unclassified($R=0.19, P < 0.001$)、微单胞菌属($R=0.19, P < 0.001$)、梭杆菌属($R=0.17, P < 0.001$)、卡氏菌属($R=0.23, P < 0.001$)、金杆菌属($R=0.15, P < 0.05$)呈正相关;与巨球形菌属($R=-0.13, P < 0.05$)、放线菌属($R=-0.19, P < 0.001$)、奇异菌属($R=-0.13, P < 0.05$)、链球菌属($R=-0.13, P < 0.05$)呈负相关。

胃阴不足证与奇异菌属($R=-0.15, P < 0.001$)呈负相关。综上见图8。

3 讨论

随着高通量测序技术的发展,越来越多的研究从微观层面揭示舌苔形成的生物学基础,从而使舌



注:图中红色代表正相关,蓝色代表负相关。*表示|R|>0.1且P<0.05,R为Spearman相关系数。

图8 慢性胃炎患者舌苔菌群与证候相关性热图

苔菌群成为传统舌诊的有益补充。有学者^[6-7]对慢性胃炎患者的腻苔和薄白苔进行了微生物学分析,发现某些菌群的丰度变化可能是腻苔形成的原因之一,同时这些变化也可能与疾病的发生密切相关。还有学者^[8]针对慢性胃炎不同病理阶段的患者舌苔进行微生物分析,发现舌苔微生物的丰度与慢性胃炎病情的发展有关。然而,在上述研究中,未将慢性胃炎证候纳入分析研究。

本研究利用 16S rDNA 高通量测序技术,分析慢性胃炎湿证组、非湿证组及健康对照组的舌苔菌群差异。结果显示,与健康对照组相比,寒湿困脾组患者舌苔中共发现 18 个差异菌属,其中丰度上升的菌属有 8 个、下降的菌属有 10 个;在脾胃湿热组中共发现 18 个差异菌属,其中丰度上升的菌属有 7 个、下降的菌属有 11 个;这两组差异菌属中有 17 个相同菌。值得注意的是,这 17 个共有的差异菌属中,有 7 个菌属在健康对照组中的丰度显著降低,分别是月形单胞菌属、巨球型菌属、拟普雷沃氏菌属、普雷沃氏菌属、韦荣氏球菌属、普雷沃氏菌属_7、消化链球菌属。而月形单胞菌属是消化系统的定殖菌^[9],Zhang 等^[10]通过对胃癌前病变各个阶段的患者胃黏膜进行微生物组学分析发现,该菌属的丰度从慢性浅表性胃炎到胃癌的阶段中不断上升。巨球型菌属是革兰氏阴性球菌,在溃疡性结肠炎患者舌苔中该菌属丰度显著高于健康者^[11]。此外,肠道菌群中的巨球型菌属与胃癌具有相关性^[12]。拟普雷

沃氏菌属在舌苔中丰度的上升与胃癌风险的增加有关^[13],有研究^[14]发现该物质在慢性胃炎伴胆汁反流的患者粪便样本中丰度上升。普雷沃氏菌属可促进慢性炎症的发生^[12],该物质还可作为胃癌的诊断标志物^[15]。韦荣氏球菌属与胃癌前病变的进展有关^[16];在肠化生伴幽门螺杆菌(Hp)感染患者的胃肠道中,该菌属的相对丰度高于浅表性胃炎伴 Hp 感染患者^[17];还有研究^[18]发现,韦荣氏球菌属下的小韦荣球菌在炎症性肠病患者的肠道中丰度增加。普雷沃氏菌属_7 在胆汁反流性胃炎患者的唾液中丰度上升^[14]。消化链球菌属可以诱导巨噬细胞产生促炎性细胞因子^[19]。该菌属下的厌氧消化链球菌可加重胃黏膜的炎症反应^[20]。由此可见,这 7 个菌属的丰度改变与慢性胃炎及其他消化系统疾病的进展存在关联,可能是慢性胃炎湿证组与健康对照组在菌群组成上的差异特征。然而,本研究存在部分患者服用 PPI 情况。已有多项研究^[21-23]表明,PPI 会升高口腔内链球菌属、梭杆菌属丰度,降低嗜血杆菌属、乳杆菌属、韦荣氏球菌属丰度。由于本研究结果显示,寒湿困脾组和脾胃湿热组中链球菌属、梭杆菌属、嗜血杆菌属、乳杆菌属丰度较健康对照组均显著降低,韦荣氏球菌属丰度较健康对照组呈显著升高,表明服用 PPI 对链球菌属、梭杆菌属、韦荣氏球菌属结果的可靠性影响较小,对嗜血杆菌属、乳杆菌属结果可能存在假阳性干扰,后续将进一步进行分析。

由于各证候组服用PPI的患者比例无显著性差异,因此以下证候组组间比较结果具有可靠性。在寒湿困脾组与脾胃湿热组的17个共有差异菌属中,有10个菌属在健康对照组中丰度显著上升,分别是孛生球菌属、毛绒厌氧杆菌属、乳杆菌属、嗜血杆菌属、梭杆菌属、放线菌属、毛球菌属、颗粒链菌属、链球菌属、罗斯氏菌属。孛生球菌属是胃肠道微生物^[24],Chen等^[25]在对牙周炎口腔微生物的研究中发现,该菌属的丰度在健康对照组中更高;本课题组前期研究^[26]也发现,胃癌前病变湿证患者舌苔中该菌属的丰度显著低于胃癌前病变非湿证组患者。Zhang等^[27]在对肠道运动障碍患者粪便检测中发现,毛绒厌氧杆菌属丰度下降,这可能与疾病的加重有关;Hua等^[28]发现该物质在舌苔中的丰度上升有可能与降低胃癌的风险有关。乳杆菌属可能具有抗Hp活性的功能^[29],同样有研究^[30]发现该物质具有潜在抗Hp感染和抗炎的作用。可见,孛生球菌属、毛绒厌氧杆菌属、乳杆菌属的丰度下降可能加重了慢性胃炎的疾病进展。链球菌属在慢性胃炎患者胃黏膜中的丰度显著高于健康人群^[31];进一步研究^[32]发现该菌属在慢性萎缩性胃炎患者胃黏膜中的丰度上升。罗斯氏菌属属于机会性病原体,与免疫功能低下的各种感染有关^[33]。链球菌属、罗斯氏菌属丰度的下降可能会减轻慢性胃炎的病变程度。嗜血杆菌属在健康的儿童和成人的喉中均有存在,属于正常菌群^[34]。梭杆菌属是口腔中常见的微生物,可以与宿主共生^[35]。放线菌属属于肠道共生菌之一^[36]。这提示慢性胃炎可能导致了嗜血杆菌属、梭杆菌属、放线菌属的丰度改变。目前尚未发现毛球菌属和颗粒链菌属在消化系统疾病中的相关研究。

寒湿困脾组与脾胃虚寒组相比共有4个差异菌属,其中金黄杆菌属和解糖微小寄生菌在寒湿困脾组中丰度上升,韦荣氏球菌属和梭状芽孢杆菌_vadinBB60在寒湿困脾组中丰度下降。金黄杆菌属属于机会致病菌,与人体免疫力低下和基础性疾病相关^[37]。解糖微小寄生菌是消化道微生物组成部分之一,有研究^[38]发现炎症性肠病患者唾液中该物质的丰度显著上升,这可能与炎症性肠病的发病机制有关。由此可见,金黄杆菌属和解糖微小寄生菌的丰度上升可以加重消化系统疾病的发展。韦荣氏球菌属和梭状芽孢杆菌_vadinBB60在寒湿困脾组中丰度下降,梭状芽孢杆菌_vadinBB60可能与消化道炎症呈负相关^[39]。这说明金黄杆菌属、解糖微小寄生

菌、韦荣氏球菌属、梭状芽孢杆菌_vadinBB60可能成为区分慢性胃炎湿证和非湿证的差异菌群。

在门水平上,寒湿困脾组与脾胃湿热组相比共有1个差异菌门,即梭杆菌门。与脾胃湿热组相比,该菌门在寒湿困脾组中的丰度显著上升。研究^[40]发现,梭杆菌门是慢性胃炎患者舌苔中的主要菌门之一。另有研究^[35]发现,梭杆菌门下的梭杆菌与结肠癌的发生相关。可见,梭杆菌门有可能成为区分慢性胃炎寒证和热证的差异菌门。

此外,本研究还分析了慢性胃炎湿证组与非湿证组同舌苔差异菌群的关联性。由于Spearman相关性分析的局限性,本研究仅筛选相关性系数绝对值大于0.2的结果进行分析。结果显示,脾胃湿热证与月形单胞菌属、巨球型菌属、奇异菌属呈显著正相关,与梭杆菌属、卡氏菌属、孛生球菌属、嗜血杆菌属呈显著负相关,提示此7种菌属的丰度变化可能与脾胃湿热证存在关联。此外,脾胃虚寒证与消化链球菌属、卡氏菌属呈显著正相关,说明此2种菌属的丰度变化可能与脾胃虚寒证存在关联。

本研究以慢性胃炎患者为研究对象,初步探讨了慢性胃炎湿证组、非湿证组同健康对照组的差异舌苔菌群,进行了舌苔菌群与证候的相关性分析,为慢性胃炎湿证在生物标志物研究和诊治提供了一定生物学研究依据。然而本研究仍存在若干局限性,在今后的研究中我们将进一步扩大样本量,设置非慢性胃炎湿证组作为对照,开展队列研究,整合多组学技术,进一步深化湿证本质研究。

参考文献:

- [1] SEERANGAIYAN K, JÜCH F, WINKEL E G. Tongue coating: its characteristics and role in intra-oral halitosis and general health-a review[J]. J Breath Res, 2018, 12(3): 034001.
- [2] XU J, XIANG C, ZHANG C, et al. Microbial biomarkers of common tongue coatings in patients with gastric cancer [J]. Microb Pathog, 2019, 127: 97-105.
- [3] 中华医学会消化病学分会, 中华医学会消化病学分会消化系统肿瘤协作组. 中国慢性胃炎诊治指南(2022年, 上海)[J]. 胃肠病学, 2023, 28(3): 149-180.
- [4] 中华中医药学会脾胃病分会. 慢性胃炎中医诊疗专家共识(2023)[J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(12): 5904-5911.
- [5] REDÉEN S, PETERSSON F, KECHAGIAS S, et al. Natural history of chronic gastritis in a population-based cohort[J]. Scand J Gastroenterol, 2010, 45(5): 540-549.
- [6] 李福凤, 赵洁, 庞小燕, 等. 慢性胃炎患者赋苔的口腔微生物指纹图谱分析[J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(10): 1331-1335.
- [7] 王慧雯, 郭春荣, 李莉, 等. 慢性萎缩性胃炎薄白苔微生物的群落结构组成分析[J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(6): 696-701.
- [8] 李娜. 基于16S rRNA基因测序技术研究不同病理阶段慢性胃炎的舌苔微生物特征[D]. 上海: 上海中医药大学, 2020.

- [9] RATH C B, SCHIRMEISTER F, FIGL R, et al. Flagellin glycoproteomics of the periodontitis associated pathogen *Selenomonas sputigena* reveals previously not described *O*-glycans and rhamnose fragment rearrangement occurring on the glycopeptides[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2018, 17(4): 721-736.
- [10] ZHANG X, LI C, CAO W, et al. Alterations of gastric microbiota in gastric cancer and precancerous stages[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 559148.
- [11] 姜慧, 丁庞华, 路琼琼, 等. 基于 16S rDNA 高通量测序技术的活动期溃疡性结肠炎大肠湿热证患者舌苔菌群多样性研究[J]. *中华中医药杂志*, 2022, 37(6): 3484-3488.
- [12] LARSEN J M. The immune response to *Prevotella* bacteria in chronic inflammatory disease[J]. *Immunology*, 2017, 151(4): 363-374.
- [13] WU J, XU S, XIANG C, et al. Tongue coating microbiota community and risk effect on gastric cancer[J]. *J Cancer*, 2018, 9(21): 4039-4048.
- [14] YANG N, XU J, WANG X, et al. The spatial landscape of the bacterial community and bile acids in the digestive tract of patients with bile reflux[J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 835310.
- [15] CHATTOPADHYAY I, GUNDAMARAJU R, JHA N K, et al. Interplay between dysbiosis of gut microbiome, lipid metabolism, and tumorigenesis: can gut dysbiosis stand as a prognostic marker in cancer?[J]. *Dis Markers*, 2022, 2022: 2941248.
- [16] LIU D, CHEN S, GOU Y, et al. Gastrointestinal microbiota changes in patients with gastric precancerous lesions[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 749207.
- [17] LIU Y, MA Y J, HUANG C Q. Evaluation of the gastric microbiome in patients with chronic superficial gastritis and intestinal metaplasia[J]. *Chin Med Sci J*, 2022, 37(1): 44-51.
- [18] ROJAS-TAPIAS D F, BROWN E M, TEMPLE E R, et al. Inflammation-associated nitrate facilitates ectopic colonization of oral bacterium *Veillonella parvula* in the intestine[J]. *Nat Microbiol*, 2022, 7(10): 1673-1685.
- [19] TANABE S, BODET C, GRENIER D. Peptostreptococcus micrococcal cell wall elicits a pro-inflammatory response in human macrophages[J]. *J Endotoxin Res*, 2007, 13(4): 219-226.
- [20] 欧阳耀斌. 厌氧消化链球菌通过 TLR4/TRIF/NF- κ B 信号通路促进胃黏膜病变[D]. 南昌: 南昌大学, 2022.
- [21] MISHIRO T, OKA K, KUROKI Y, et al. Oral microbiome alterations of healthy volunteers with proton pump inhibitor[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2018, 33(5): 1059-1066.
- [22] KAWAR N, PARK S G, SCHWARTZ J L, et al. Salivary microbiome with gastroesophageal reflux disease and treatment[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 188.
- [23] XIAO X, ZHANG X, WANG J, et al. Proton pump inhibitors alter gut microbiota by promoting oral microbiota translocation: a prospective interventional study[J]. *Gut*, 2024, 73(7): 1098-1109.
- [24] CHESDACHAI S, YETMAR Z A, TABAJA H, et al. Contemporary experience of abiotrophia, granulicatella and gemella bacteremia[J]. *J Infect*, 2022, 84(4): 511-517.
- [25] CHEN W P, CHANG S H, TANG C Y, et al. Composition analysis and feature selection of the oral microbiota associated with periodontal disease[J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 3130607.
- [26] XIAO X Q, ZHANG R L, LU J H, et al. Alterations of microorganisms in tongue coating of gastric precancerous lesion patients with a damp phlegm pattern [EB/OL]. *Biomed Res Int*, 2022 [2025-03-03]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2022/7210909>.
- [27] ZHANG X, LI N, CHEN Q, et al. Fecal microbiota transplantation modulates the gut flora favoring patients with functional constipation[J]. *Front Microbiol*, 2021, 12: 700718.
- [28] HUA Z, SHEN R, LU B, et al. Weifuchun alters tongue flora and decreases serum trefoil factor I levels in gastric intestinal metaplasia: A CONSORT-compliant article[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2022, 101(45): e31407.
- [29] 黄微微, 郭刚, 宋阳, 等. 人胃源乳杆菌耐受性及抗幽门螺杆菌活性的鉴定[J]. *中国人兽共患病学报*, 2013, 29(6): 556-561.
- [30] CUI Y, WANG C L, LIU X W, et al. Two stomach-originated *Lactobacillus* strains improve *Helicobacter pylori* infected murine gastritis[J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(4): 445-452.
- [31] LIU J, XUE Y, ZHOU L. Detection of gastritis-associated pathogens by culturing of gastric juice and mucosa[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2018, 11(4): 2214-2220.
- [32] CONTI L, BORRO M, MILANI C, et al. Gastric microbiota composition in patients with corpus atrophic gastritis[J]. *Dig Liver Dis*, 2021, 53(12): 1580-1587.
- [33] FATAHI-BAFGHI M. Characterization of the *Rothia* spp. and their role in human clinical infections[J]. *Infect Genet Evol*, 2021, 93: 104877.
- [34] KUKLINSKA D, KILIAN M. Relative proportions of *Haemophilus* species in the throat of healthy children and adults[J]. *Eur J Clin Microbiol*, 1984, 3(3): 249-252.
- [35] BRENNAN C A, GARRETT W S. *Fusobacterium nucleatum*-symbiont, opportunist and oncobacterium[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17(3): 156-166.
- [36] TREMAROLI V, BÄCKHED F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism[J]. *Nature*, 2012, 489(7415): 242-249.
- [37] 何树光. 216 株金黄色杆菌属的医院感染分布及耐药性分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2012, 22(16): 3661-3663.
- [38] QI Y, ZANG S Q, WEI J, et al. High-throughput sequencing provides insights into oral microbiota dysbiosis in association with inflammatory bowel disease[J]. *Genomics*, 2021, 113(1 Pt 2): 664-676.
- [39] LIU J, ZONG C, YU X, et al. Alanyl-glutamine (Ala-Gln) ameliorates dextran sulfate sodium (DSS)-induced acute colitis by regulating the gut microbiota, PI3K-Akt/NF- κ B/STAT3 signaling, and associated pulmonary injury[J]. *ACS Infect Dis*, 2023, 9(4): 979-992.
- [40] CUI J, HOU S, LIU B, et al. Species composition and overall diversity are significantly correlated between the tongue coating and gastric fluid microbiomes in gastritis patients[J]. *BMC Med Genomics*, 2022, 15(1): 60.

编辑: 马丽亚

收稿日期: 2025-08-13