

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2023.01.009

20 例不同证型原发性干燥综合征患者口腔菌群特征

柏志义¹, 李媛¹, 王海瑜¹, 卢斯仪¹, 白雪娇¹, 朱跃兰², 侯秀娟²✉

1. 北京中医药大学, 北京市朝阳区北三环东路 11 号, 100029; 2. 北京中医药大学东方医院

[摘要] **目的** 观察并比较阴虚津亏型与津液失布型原发性干燥综合征(pSS)患者口腔菌群的差异。**方法** 20 例 pSS 女性患者辨证分为阴虚津亏组 9 例, 津液失布组 11 例, 另将 8 例健康女性设为正常组。收集各组受试者年龄及 pSS 患者病程等一般资料, 采用口干视觉模拟评分(VAS)及简化版口腔干燥量表(SXI)评估患者口干严重程度; 收取所有受试者口腔含漱液, 抽提口腔含漱液样本细菌总 DNA 进行 PCR 扩增, 针对 16S rDNA 基因的 V3-V4 区进行 Illumina NovaSeq 高通量测序, 得到口腔菌群生物信息数据。基于有效数据进行组间可操作分类单元(OTU)分析; 采用线性判别分析法分析组间群落差异; 采用 Chao1 指数、Shannon 指数、observed OTU 指数分析物种 Alpha 多样性, 并进行组间 Beta 多样性分析。**结果** 两组患者病程及各组受试者年龄比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。津液失布组口干 VAS 评分为(4.00±1.73)分, 阴虚津亏组为(7.00±2.06)分; 津液失布组 SXI 评分为(12.45±1.81)分, 阴虚津亏组为(20.33±3.54)分, 两组 VAS 评分、SXI 评分差异均有统计学意义($P<0.01$)。口腔菌群测序后获得有效序列 2 366 361 条, 聚类后正常组、津液失布组、阴虚津亏组分别获得 1288、1989、1770 个特征 OTU。与正常组比较, 津液失布组、阴虚津亏组厚壁菌门丰度均升高, 阴虚津亏组梭杆菌门、卟啉单胞菌属丰度降低, 韦荣氏球菌属丰度升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 津液失布组与阴虚津亏组各菌门、各菌属水平比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。正常组优势菌门为梭杆菌门、螺旋体门、软壁菌门、互养菌门, 优势菌属为梭杆菌属、密螺旋体属、卟啉单胞菌属、不动杆菌属; 津液失布组优势菌门为 GN02、SR1, 优势菌属为链球菌属; 阴虚津亏组优势菌门为厚壁菌门, 优势菌属为韦荣氏球菌属、放线菌属。与正常组比较, 阴虚津亏组 Shannon 指数明显下降($P<0.05$), Chao1 指数、observed OTU 指数差异无统计学意义($P>0.05$); 与正常组及阴虚津亏组比较, 津液失布组各指数差异均无统计学意义($P>0.05$)。Beta 多样性分析显示, 正常组与津液失布组、阴虚津亏组口腔菌群组成结构差异均具有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 阴虚津亏组与津液失布组组成结构差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 不同证型的 pSS 患者口腔微环境各有其特征性优势菌, 阴虚津亏型患者口腔菌群组成结构变化及优势菌丰度变化均较津液失布型患者更显著。

[关键词] 原发性干燥综合征; 口腔菌群; 阴虚津亏; 津液失布

干燥综合征(Sjogren's syndrome, SS)是以淋巴细胞增殖以及外分泌腺进行性损伤为特征的一种自身免疫病, 在我国人群中患病率约为 0.33%~0.77%, 以中老年女性多见^[1]。SS 属于中医学“燥痹”范畴, 临床上可分为原发性干燥综合征(pSS)和继发性干燥综合征(sSS)两类。我们认为 pSS

病在“津液”, 其关键病机为津液的生成及输布异常, 可分为津液生成不足所致的阴虚津亏证、津液输布异常所致的津液失布证。舌诊是中医学望诊体系中的重点, 通过观察舌体、舌质、舌苔、舌底络脉的变化可以大体把握疾病的内在病理变化情况。舌居口中, 舌象异常也代表着口腔微环境的异常, 而不同舌象所代表的不同中医证候类型其口腔局部微生态有很大可能存在差别。本研究以“舌象-证型-口腔微环境”的相关性为基础, 对 pSS 不同证型所代表的口腔微环境特征及差异性进行分析, 旨

基金项目: 国家自然科学基金(81874438); 北京市丰台区临床重点专科(风湿科)项目; 北京中医药大学东方医院“1166”人才培养计划(040204001001002006)

✉ 通讯作者: houxujuan2008@163.com, (010)67689721

在为临床辨治 pSS 提供思路。本研究通过北京中医药大学东方医院伦理委员会批准（批件号：JDF-IRB-2021051402）。

1 资料

1.1 诊断标准

西医诊断标准根据美国风湿病学会/欧洲抗风湿病联盟（ACR/EULAR）pSS 标准^[2]制定。

中医辨证标准参考《中医常见证诊断标准（下）》^[3]、《实用中医风湿病学》^[4]并结合 pSS 的主要特征性表现制定。

1) 阴虚津亏证。主症：(1) 口燥咽干，渴欲饮水，或吞咽干性食物需频繁饮水帮助；(2) 两眼干涩无泪，眼部磨砂感。次症：(1) 多发龋齿或猖獗龋齿；(2) 腮腺肿大；(3) 皮肤干燥；(4) 女性阴道干涩；(5) 手足心热，心烦失眠；(6) 形体消瘦；(7) 大便干结，小便短黄。舌脉：舌干燥红绛，有裂纹，苔少或剥脱或无苔；脉细数。

2) 津液失布证。主症：(1) 口燥咽干，渴而不欲饮水，甚或饮则不适；(2) 两眼干涩无泪，眼部磨砂感。次症：(1) 疲倦乏力、易汗出、低热、纳差便溏、关节疼痛；(2) 脘腹痞满、肢困身乏、大便黏腻不爽；(3) 皮肤紫癜、肌肤甲错、局部刺痛；(4) 猖獗龋齿、腮腺肿大、关节肿痛。舌脉：舌淡嫩胖大或有齿痕，脉迟缓无力；舌质紫暗，或有瘀点瘀斑，苔少或无苔，舌下络脉瘀曲，脉细涩；舌红苔薄黄而干，脉细数。

凡具备主症 2 项，或主症 1 项、次症 2 项，结合舌脉，即可诊断。

1.2 纳入标准

pSS 患者纳入标准：1) 符合以上西医诊断及中医辨证标准；2) 女性，年龄 40~70 岁；3) 唾液腺受损程度为中度，即唾液流率为 0.1~0.7 ml/min，或腺体超声评估分级为 2 级或 3 级，或病情活动度评分为轻度或中度；4) 近 1 周内未饮用酸奶、牛奶、乳酸菌饮品；5) 近 3 个月内未服用抗生素；6) 签署知情同意书。

健康受试者纳入标准：1) 女性，年龄 40~70 岁；2) 无口干、口腔溃疡等口腔相关疾病；3) 近 1 周内未饮用酸奶、牛奶、乳酸菌饮品；4) 近 3 个月内未服用抗生素；5) 签署知情同意书。

1.3 排除标准

1) 合并其他口腔疾病；2) 合并糖尿病、病毒性肝炎等可能引起口干症状的疾病；3) 合并有其

他风湿性疾病如系统性红斑狼疮、类风湿关节炎、白塞病等；4) 既往 3 个月内使用激素治疗。

1.4 一般资料

纳入 2021 年 1-12 月北京中医药大学东方医院风湿科门诊及住院部的 pSS 患者，共 20 例。根据既往 pSS 口腔菌群相关文献^[5-7]中的样本量多为 8 例以上，同时满足生物学重复 ≥ 3 的最小样本量要求，设置本研究中各组最低样本量为 8 例。根据中医辨证标准将 20 例 pSS 患者分为津液失布组 11 例、阴虚津亏组 9 例，同时期招募的健康受试者 8 例设为正常组。

1.5 主要试剂及仪器

PBS 缓冲液（pH7.4，货号：10010023），美国 Gibco 公司；含 HF 缓冲液的高保真 PCR 混合物（货号：M0531S）、高保真 DNA 聚合酶（货号：M0530S），美国 New England Biolabs 公司；建库试剂盒（货号：FC-121-3001），美国 Illumina 公司。生物分析仪（型号：Agilent 2100），美国 Agilent 公司；超声波破碎仪（型号：Covaris S2 System），美国 Massachusetts 公司；测序仪（型号：Novaseq 6000 PE250），美国 Illumina 公司；琼脂糖水平电泳仪（型号：DYCP-32C 型），北京市六一仪器厂；离心机（型号：D3024R），美国 Scilogex 公司；PCR 仪（型号：T100PCR），美国 Bio-Rad 公司。

2 方法

2.1 观察指标及方法

2.1.1 口干严重程度 采用口干视觉模拟评分（VAS）^[8]及简化版口腔干燥量表（SXI）^[9]评估两组患者口干严重程度。VAS 可视分析标尺共 10 cm，其中“0”表示口腔湿润、无口干感觉，“1~3”表示轻度口干，“4~6”表示中度口干，“7~10”表示重度口干。SXI 量表包括：1) 感觉口腔干燥；2) 进食干燥的东西感觉困难；3) 进餐时口腔感觉干燥；4) 吞咽食物困难；5) 嘴唇感觉干燥。使用 5 分 Likert 量表评分，根据“从不”“几乎没有”“偶尔有”“经常”“很频繁”分别计为 1、2、3、4、5 分。

2.1.2 口腔菌群检测 各组受试者均于 8:00-10:00 进行取样。受试者取样前 30 min 内不进食、饮水、吸烟或嚼口香糖。取样前 20 min 用纯净水漱口并吐尽残留液体，静坐 20 min。样本采集：含漱 PBS 缓冲液（pH7.4）10 ml，含漱液在口中至少保持 2 min；含漱液吐于 15 ml 无菌离心管中，立即旋

紧瓶盖；4℃、4000 r/min 离心(半径 10 cm)10 min，弃上清液，取沉淀转移至 2 ml EP 管中；收集完毕后，贴好标签，-20℃保存，0.5 h 内转移至-80℃冰箱保存备用。

1) DNA 抽提和 PCR 扩增。采用 CTAB 对样本的基因组 DNA 进行提取，之后利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的纯度和浓度，取适量的样品于离心管中，使用无菌水稀释样品至 1 ng/μl。使用 341F (5'-CCTAYGGGRBGCASCAG-3') 和 806R (5'-GGA-CTACNNGGTATCTAAT-3') 引物对 V3+V4 可变区进行 PCR 扩增。

2) Illumina NovaSeq 测序。根据 PCR 产物浓度进行等浓度混样，充分混匀以后使用 1×TAE 浓度 2% 的琼脂糖凝胶电泳纯化 PCR 产物，选择割胶回收目标条带。使用建库试剂盒进行文库的构建，构建好的文库经过 Qubit 定量和文库检测，合格后使用 NovaSeq 6000 PE250 测序仪进行上机测序。

3) 生物信息学分析。对测序得到的原始序列数据进行过滤处理，得到有效数据。基于有效数据进行可操作分类单元 (OTU) 聚类，形成 OTU 物种丰度谱。分析每组特征微生物对组间差异的贡献度，特征微生物表示在对应分组中的丰度相对较高，设置线性判别分析 (LDA) 筛选值，LDA 值代表每组物种对差异影响的大小^[10]，LDA>2 表明差异有统计学意义。采用 Shannon 稀释性曲线、observed species 稀释性曲线分析物种饱和度，采用 Chao1 指数、Shannon 指数、observed OTU 指数分析物种 Alpha 多样性，并进行组间 Beta 多样性分析。

2.2 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。计量资料均符合正态分布，采用($\bar{x} \pm s$)表示，多组间比较用单因素方差分析，两两比较方差齐时用 LSD 检验，方差不齐时用 Dunnett's T^s 检验。组间群落差异分析采用 LDA 法，采用 Kruskal Wallis 非参数检验比较各组之间 Alpha 多样性指数，采用多元方差分析组间 Beta 多样性。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组受试者一般资料比较

津液失布组患者平均年龄 (59.54±7.95) 岁，平均病程 (108.80±32.80) 个月；阴虚津亏组平均年龄 (60.11±10.37) 岁，平均病程 (73.44±51.33) 个月；正常组平均年龄 (52.25±5.01) 岁。各组受试者年龄比较差异无统计学意义，两组患者病程比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

3.2 两组患者口干 VAS 评分和 SXI 评分比较

津液失布组患者口干 VAS 评分为 (4.00±1.73) 分，阴虚津亏组为 (7.00±2.06) 分，两组比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)。津液失布组 SXI 评分为 (12.45±1.81) 分，阴虚津亏组为 (20.33±3.54) 分，两组比较差异有统计学意义 ($P<0.01$)。

3.3 各组受试者口腔菌群分析结果

3.3.1 数据拆分结果及各组 OTU 差异韦恩图 测序数据拆分后获得有效序列 2 366 361 条，有效序列范围为 54 470~102 710 条，平均 84 512 条。各组患者口腔菌群多样性指数均>4，实际 OTU 数目均>200，且稀释曲线趋于平缓，表明现有测序深度已涵盖样本中能够检测到的所有物种，本次测序结果可反映当前样本中所包含的微生物多样性信息，继续增加测序深度已无法检测到大量的尚未发现的新 OTU。

津液失布组、阴虚津亏组、正常组样本聚类得到的 OTU 差异韦恩图显示，3 组共有 630 个相同的 OTU，正常组有 1288 个特征 OTU，阴虚津亏组有 1770 个特征 OTU，津液失布组有 1989 个特征 OTU。各组口腔菌群 OTU 韦恩图见图 1。

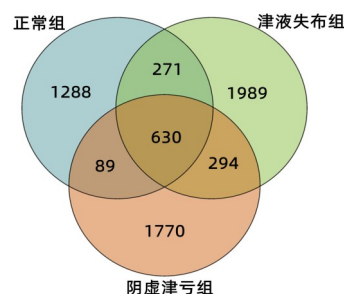


图 1 原发性口腔干燥综合征不同证型患者和正常组受试者口腔菌群操作分类单元韦恩图

3.3.2 各组受试者口腔菌群丰度差异分析 根据所占比例确定 5 个优势群落，各组口腔菌群组成在门水平方面的优势群落丰度比较见表 1。与正常组相比，津液失布组和阴虚津亏组厚壁菌门丰度均升高，阴虚津亏组梭杆菌门丰度降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。津液失布组与阴虚津亏组各菌门水平比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。

根据所占比例确定 9 个优势群落，各组口腔菌群组成在属水平方面的优势群落丰度比较见表 2。与正常组相比，阴虚津亏组韦荣氏球菌属丰度升高，卟啉单胞菌属丰度降低 ($P<0.05$)。津液失布组与阴虚津亏组各菌属丰度差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

表1 原发性口腔干燥综合征不同证型患者和正常组受试者口腔菌群门水平优势群落丰度比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	厚壁菌门	拟杆菌门	变形菌门	梭杆菌门	放线菌门
正常组	8	0.21±0.05	0.23±0.06	0.28±0.14	0.13±0.05	0.06±0.03
津液失布组	11	0.34±0.12 ^{a)}	0.24±0.07	0.20±0.11	0.11±0.03	0.06±0.05
阴虚津亏组	9	0.39±0.13 ^{a)}	0.25±0.06	0.18±0.08	0.07±0.05 ^{b)}	0.09±0.06

注: a) 与正常组比较, $P < 0.05$; b) 与正常组比较, $P < 0.01$ 。

表2 原发性口腔干燥综合征不同证型患者和正常组受试者口腔菌群属水平优势群落丰度比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	普雷沃菌属	链球菌属	奈瑟球菌属	韦荣氏球菌属	梭杆菌属
正常组	8	0.14±0.04	0.08±0.05	0.14±0.12	0.03±0.02	0.10±0.05
津液失布组	11	0.18±0.07	0.16±0.09	0.08±0.07	0.09±0.08	0.07±0.03
阴虚津亏组	9	0.19±0.06	0.16±0.08	0.05±0.08	0.13±0.08 ^{a)}	0.05±0.05
组别	例数	嗜血杆菌属	罗氏菌属	卟啉单胞菌属	纤毛菌属	
正常组	8	0.04±0.02	0.04±0.02	0.06±0.02	0.03±0.01	
津液失布组	11	0.05±0.04	0.04±0.04	0.03±0.03	0.04±0.03	
阴虚津亏组	9	0.08±0.04	0.03±0.03	0.02±0.03 ^{a)}	0.02±0.01	

注: a) 与正常组比较, $P < 0.05$ 。

3.3.3 各组受试者口腔菌群组间差异筛选结果

在门水平上, 阴虚津亏组、津液失布组与正常组组间比较, 正常组优势菌门为梭杆菌门 (LDA 值为 4.17, 下同)、螺旋体门 (3.96)、软壁菌门 (3.54)、互养菌门 (3.13); 津液失布组优势菌门为 GN02 (3.37)、SR1 (3.03); 阴虚津亏组优势菌门为厚壁菌门 (4.65)。在属水平上, $LDA > 2$ 的菌种数量较多, 因此选择 $LDA > 4$ 条件下的特征微生物。阴虚津亏组、津液失布组、正常组比较, 正常组优势菌属为梭杆菌属 (4.50)、密螺旋体属 (4.27)、卟啉单胞菌属 (4.25)、不动杆菌属 (4.12); 津液失布组优势菌属为链球菌属 (4.67); 阴虚津亏组优势菌属为韦荣球菌属 (4.74)、放线菌属 (4.31)。

3.3.4 各组受试者口腔菌群多样性分析 各组口腔菌群 Alpha 多样性指数比较: 表3示, 与正常组比较, 阴虚津亏组 Shannon 指数明显下降 ($P < 0.05$), chao1、observed OTU 指数差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 津液失布组各指数差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 阴虚津亏组与津液失布组各指数比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表3 原发性口腔干燥综合征不同证型患者和正常组受试者口腔菌群 Alpha 多样性指数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	chao1 指数	observed OTU 指数	Shannon 指数
正常组	8	564.29±90.75	562.50±91.24	6.87±0.39
津液失布组	11	550.97±90.97	549.64±90.68	6.65±0.39
阴虚津亏组	9	513.57±129.52	513.00±129.47	6.37±0.46 ^{a)}

注: a) 与正常组相比, $P < 0.05$

各组口腔菌群 Beta 多样性分析比较: 表4示, 正常组与津液失布组、正常组与阴虚津亏组口腔菌群组成结构差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 阴虚津亏组与津液失布组组成结构差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表4 原发性口腔干燥综合征不同证型患者和正常组受试者口腔菌群 Beta 多样性分析多元方差分析结果

比较组别	pseudo-F 检验	P 值	q 值
正常组与津液失布组	1.728700	0.010	0.015
正常组与阴虚津亏组	3.090798	0.001	0.003
津液失布组与阴虚津亏组	1.313328	0.094	0.094

注: q 值为校正过的 P 值, $q < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

4 讨论

从本研究韦恩图来看, 正常组、津液失布组、阴虚津亏组均检测到大量的特征性 OTU 序列, 可明显将 3 组样本区分开来, 证实本研究分组方式较为合理, 具有一定的研究价值。通过对各组口腔菌群的优势群落的丰度差异分析发现, 与正常组比较, 阴虚津亏组厚壁菌门、韦荣氏球菌属丰度升高而梭杆菌门、卟啉单胞菌属丰度降低, 津液失布组厚壁菌门丰度升高; 津液失布组与阴虚津亏组两组之间未见丰度有差异的菌种, 提示相对津液失布组而言, 阴虚津亏组与正常组相比菌群丰度有差异的菌门、菌属较多, 阴虚津亏组患者口腔微生态失衡更加严重。此外, 阴虚津亏组韦荣氏球菌属丰度 (0.13±0.08) 是正常组丰度 (0.03±0.02) 的 4 倍以上, 这与其他研究^[11]结果一致, 提示韦荣氏球菌属可以作为 pSS 患者的口腔微生物标志物。结合

本研究对患者口干症状的评价, 阴虚津亏组口干 VAS 评分、SXI 评分明显高于津液失布组, 提示阴虚津亏组患者口腔干燥的主观症状更加突出, 在一定程度上表明阴虚津亏组患者病情更严重。

本研究运用线性判别法进一步在门水平和属水平方面寻找各组口腔菌群的优势菌种, 结果发现正常组、津液失布组、阴虚津亏组之间特征菌种存在一定的差异。阴虚津亏组优势菌属为韦荣氏球菌属、放线菌属, 津液失布组优势菌属为链球菌属, 在属水平上的菌群物种可以明确显示各组间物种的差异性^[12], 因此以相关菌属为代表的口腔微环境可以用于揭示 pSS 不同证型之间的差异。Alpha 多样性指数主要用于分析单个样品中菌群的丰富度(即种类、数量)与均匀度^[13], 其中 chao1 指数和 Observed OTU 指数用于反映样品中菌群的丰富度^[14], Observed OTU 指数代表样本中实际发现的 OTU 数量, chao1 指数是基于观测结果所预测出的理论丰富度, 其值越高, 表明该样本菌群丰富度越高^[15]; Shannon 指数代表该样本菌群组成的数量及均匀度, 数值越高则该样本菌群数量和均匀度越高, 多样性越复杂^[13]。本研究分析不同证型口腔菌群的 Alpha 多样性, 结果显示仅阴虚津亏组与正常组之间的 Shannon 指数差异具有统计学意义, 说明阴虚津亏组菌群数量和均匀度较正常组显著下降; 而正常组与津液失布组、津液失布组与阴虚津亏组的组间差异均无统计学意义, 提示以上组别之间菌群丰度及均匀度差异均不明显。

Beta 多样性用于分析不同样本组间微生物群的组成结构的差异性^[15]。本研究发现, 正常组与津液失布组、正常组与阴虚津亏组的 Beta 多样性存在明显差异, 说明 pSS 患者口腔菌群组成结构发生了显著变化; 阴虚津亏组与津液失布组结构差异无统计学意义, 说明从菌群组成结构方面无法明显区分阴虚津亏组与津液失布组。但韦恩图所示的阴虚津亏组与津液失布组各有大量的特征性 OTU 序列, 提示两组菌群组成结构可能存在一定程度的差异性趋势, 但是该差异没有统计学意义, 这一结果也可能与研究纳入的样本数量较少有关。

综上, 本研究初步明确了 pSS 患者口腔菌群组成结构及部分优势菌群丰度发生了变化, 患者口腔菌群稳态失衡; 不同证型 pSS 患者口腔微环境中的特征菌门、特征菌属, 以及阴虚津亏组口腔菌群多样性显著改变。本研究受实际操作过程中门诊量及病例收集条件比较苛刻的限制, 研究纳入的样本数

量偏少, 导致研究结论可能存在一定的偏倚。后续会在此基础上进一步扩大病例数量, 探讨口腔微环境差异及舌诊在 SS 辨证中的重要性, 为中医辨证治疗 SS 提供更多依据。

参考文献

- [1] 张文, 厉小梅, 徐东, 等. 原发性干燥综合征诊疗规范[J]. 中华内科杂志, 2020, 59(4): 269-270.
- [2] SHIBOSKI CH, SHIBOSKI SC, SEROR R, et al. 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for primary Sjogren's syndrome: a consensus and data-driven methodology involving three international patient cohorts [J]. Ann Rheum Dis, 2017, 76(1): 9-16.
- [3] 朱文锋, 袁肇凯, 周小青, 等. 中医常见证诊断标准(下)[J]. 湖南中医药大学学报, 2008, 28(6): 3-10.
- [4] 王承德, 沈不安, 胡荫奇. 实用中医风湿病学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 531-542.
- [5] SIDDQUI H, CHEN T, ALIKO A, et al. Microbiological and bioinformatics analysis of primary Sjogren's syndrome patients with normal salivation [J]. J Oral Microbiol, 2016, 8: 31119. doi: 10.3402/jom.v8.31119.
- [6] LI MR, ZOU Y, JIANG Q, et al. A preliminary study of the oral microbiota in Chinese patients with Sjogren's syndrome [J]. Arch Oral Biol, 2016, 70: 143-148. doi: 10.1016/j.archoralbio.2016.06.016.
- [7] ZHOU S, CAI Y, WANG M, et al. Oral microbial flora of patients with Sicca syndrome [J]. Mol Med Rep, 2018, 18(6): 4895-4903.
- [8] 谢秀荣. 基于酸甘化阴理论乌梅喷雾剂对放射性口干症的研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2016.
- [9] THOMSON WM, VAN DER PUTTEN GJ, DE BAAT C, et al. Shortening the xerostomia inventory [J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2011, 112(3): 322-327.
- [10] 李菲. 湿疹患者湿证人群舌苔微生态的探索性研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2021.
- [11] ZHOU Z, LING G, DING N, et al. Molecular analysis of oral microflora in patients with primary Sjogren's syndrome by using high-throughput sequencing [J]. Peer J, 2018, 6: e5649. doi: 10.7717/peerj.5649.
- [12] 周志强. 原发性干燥综合征气阴两虚型患者肠道菌群特征的研究[D]. 杭州: 浙江中医药大学, 2019.
- [13] 王海瑜, 钱唐亮, 康天伦, 等. 肠道菌群与类风湿关节炎寒热证型相关性研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2020, 27(6): 44-49.
- [14] 彭玲玲, 梁仁久, 宁玲, 等. 小承气汤对重型颅脑损伤模型大鼠急性期肠道菌群的影响[J]. 中医杂志,

2022, 63(12):1170-1178.

[15]刘先姜. 基于肠道菌群特征探讨 HBV 相关性慢性肝

病“脾虚”实质的研究[D]. 长沙:湖南中医药大学, 2021.

Characteristics of Mouth Flora in 20 Primary Sjogren's Syndrome Patients with Different PatternsBAI Zhiyi¹, LI Yuan¹, WANG Haiyu¹, LU Siyi¹, BAI Xuejiao¹, ZHU Yuelan², HOU Xiujuan²

1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100029; 2. Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine

ABSTRACT Objective To investigate the difference of mouth flora between *yin* deficiency and fluid depletion pattern and failure of body fluids distribution pattern in people with primary Sjogren's syndrome (pSS). **Methods** Twenty female with pSS were included and divided into *yin* deficiency and fluid depletion group (9 cases) and failure of body fluids distribution group (11 cases), and eight healthy women were set as normal group. General information including age, disease course were collected, and the severity of dry mouth was evaluated by visual analogue scale (VAS) and summated xerostomia inventory (SXI). Oral gargle samples were collected, and total bacterial DNA was extracted for PCR amplification. Illumina NovaSeq high-throughput sequencing was performed for V3-V4 region of 16S rDNA gene to obtain bioinformation data of mouth flora. Intergroup operational taxonomic unit (OTU) analysis was performed based on valid data, and linear discriminant analysis was used to analyze community difference between groups. The Chao1 index, Shannon index, and observed OTU index were used to analyze the alpha diversity of species, and the Beta diversity analysis between groups was carried out. **Results** There was no statistical difference in the course of disease between groups of different patterns, as well as in the age among all the three groups ($P > 0.05$). The VAS score of dry mouth in the failure of body fluids distribution group was 4.00 ± 1.73 , while that in the *yin* deficiency and fluid depletion group was 7.00 ± 2.06 ; correspondingly, the SXI score of the two groups was 12.45 ± 1.81 and 20.33 ± 3.54 ; there were significant differences in the VAS score and SCI score between the two groups ($P < 0.01$). Totally, 2,366,361 effective sequences were obtained after sequencing, and 1288 characteristic OTU were obtained through clustering in the normal group, 1989 in the failure of body fluids distribution group and 1770 in the *yin* deficiency and fluid depletion group, respectively. Compared to those in normal group, the abundance of Firmicutes significantly increased in the other two groups, and the abundance of Fusobacterium and Porphyromonas decreased, while the abundance of Veillonella increased in the *yin* deficiency and fluid depletion group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). There was no significant difference between the two groups with different TCM patterns in different bacterial phylum and genus levels ($P > 0.05$). The dominant bacteria phylum in the normal group were Fusobacteria, Spirochaetes, Tenericutes and Synergistetes, while the dominant bacterial genera were Fusobacterium, Treponema, Porphyromonas, and Acinetobacter. GN02 and SR1 were the dominant bacterial phyla in the failure of body fluids distribution group, and Streptococcus was the dominant genera. Firmicutes were the dominant phyla in the *yin* deficiency and fluid depletion group, and the dominant genera were Veillonella and Actinomycetes. Compared to those in the normal group, Shannon index in the *yin* deficiency and fluid depletion group decreased significantly ($P < 0.05$), while Chao1 index and observed OTU index showed no statistical difference ($P > 0.05$). There was no statistical difference in Shannon index, Chao1 index and observed OTU index comparing the failure of body fluids distribution group to the normal group and the *yin* deficiency and fluid depletion group ($P > 0.05$). Beta diversity analysis showed that there was statistically significant difference in the composition structure when comparing the normal group to the *yin* deficiency and fluid depletion group and the failure of body fluids distribution group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), while there was no statistically significant difference between the two groups with different TCM patterns ($P > 0.05$). **Conclusion** There are differences in the oral microenvironment of pSS with different TCM patterns, and each has its characteristic dominant bacteria; the changes of mouth flora composition and structure in *yin* deficiency and fluid depletion group are more significant than those in the failure of body fluids distribution group, as well as the changes of dominant bacteria abundance.

Keywords primary Sjogren's syndrome; mouth flora; *yin* deficiency and fluid depletion pattern; failure of body fluids distribution pattern

(收稿日期: 2022-05-26; 修回日期: 2022-09-09)

[编辑: 王利芬]