

肠道菌群及 5-HT 在大气 PM_{2.5} 暴露致小鼠抑郁焦虑样行为中的作用

唐佳婕^a, 郑佳雪^a, 宋倩^a, 康惠文^a, 崔亚奇^b, 张雪梅^b, 尚璇^a, 蒋守芳^a

华北理工大学 a. 公共卫生学院 b. 生命科学学院, 河北唐山 063210



DOI 10.11836/JEOM22100

摘要:

[背景] 研究表明, PM_{2.5} 暴露与中枢神经系统疾病密切相关, 可引起认知功能障碍, 也会改变肠道菌群的组成, 但关于肠道菌群在 PM_{2.5} 所致小鼠抑郁焦虑样行为中的作用研究很少。

[目的] 观察大气 PM_{2.5} 暴露对小鼠抑郁焦虑样行为及肠道菌群组成的影响, 探讨肠道菌群调控 5-羟色胺 (5-HT) 在大气 PM_{2.5} 暴露致小鼠抑郁焦虑样行为中的作用。

[方法] 8 周龄雄性 SPF 级 C57BL/6J 小鼠随机分为对照组 (NS 组)、益生菌组 (LGG 组)、PM_{2.5} 组 (PM 组)、联合暴露组 (PML 组), 每组 6 只。PM 组和 PML 组小鼠采用细颗粒物实时染毒系统进行 PM_{2.5} 暴露, 浓度为室外的 8 倍, 每天 6 h, 每周 6 d, 共 7 周。LGG 组和 PML 组小鼠灌胃鼠李糖乳杆菌, NS 组和 PM 组灌胃等量生理盐水。高架十字迷宫实验和旷场实验评价小鼠焦虑和抑郁状态。利用 16S rRNA 高通量测序技术测定小鼠粪便中肠道菌群丰度、多样性和结构组成。ELISA 法检测血清和海马组织中 5-HT 水平。Spearman 相关分析肠道差异菌群与海马组织 5-HT 水平、小鼠抑郁焦虑样行为指标的相关关系。

[结果] PM 组小鼠开臂次数百分比的 $M(P_{25}, P_{75})$ 为 0.0%(0.0%, 33.3%), 低于 NS 组 [47.7%(25.0%, 50.8%)] 和 PML 组 [46.9%(40.0%, 50.0%)], 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。PM 组运动总距离和中央区停留时间 ($\bar{x} \pm s$) 分别为 (2.01±0.90) m、(10.31±1.99) s, 均低于 NS 组 [(3.80±0.89) m, (14.47±3.07) s]; PML 组运动总距离为 (2.73±1.12) m, 低于 NS 组和 LGG 组 [(4.21±1.08) m], 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 NS 组相比, PM 组 Simpson 指数升高 ($P < 0.05$); 与 LGG 组相比, PML 组的 Simpson 指数下降 ($P < 0.05$)。Beta 多样性分析结果表明各组小鼠之间肠道菌群组成存在差异。与 NS 组和 LGG 组相比, PM 组及 PML 组丹毒丝菌科、杜氏杆菌属细菌丰度升高, 普雷沃氏菌科_UCG-001 属丰度降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。PM 组小鼠海马组织 5-HT 水平为 (135.02±10.31) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 低于 NS 组 [(178.77±43.15) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$] 和 LGG 组 [(224.85±22.98) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]; PML 组小鼠 5-HT 水平 [(161.27±15.81) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$] 低于 LGG 组 ($P < 0.05$)。海马组织中 5-HT 水平与普雷沃氏菌科_UCG-001 属的相对丰度呈正相关 ($r=0.6090$, $P=0.012$), 开臂次数百分比与杜氏杆菌属的相对丰度呈负相关 ($r=-0.4630$, $P=0.023$)。

[结论] 大气 PM_{2.5} 暴露可引起小鼠抑郁焦虑样行为, 并与肠道菌群的多样性及相对丰度改变和 5-HT 水平降低有关, 添加益生菌后抑郁焦虑样行为得以改善。

关键词: 大气细颗粒物; 肠道菌群; 5-羟色胺; 抑郁焦虑; 16S rRNA

Role of intestinal flora and 5-HT in depression- and anxiety-like behaviors in mice exposed to PM_{2.5} TANG Jiajie^a, ZHENG Jiaxue^a, SONG Qian^a, KANG Huiwen^a, CUI Yaqi^b, ZHANG Xuemei^b, SHANG Xuan^a, JIANG Shoufang^a (a. School of Public Health b. School of Life Science, North China University of Science and Technology, Tangshan, Hebei 063210, China)

Abstract:

[Background] Some studies have shown that PM_{2.5} exposure is closely related to central nervous system diseases that lead to cognitive dysfunction and change the composition of intestinal flora. However, there are few studies on the role of intestinal flora in PM_{2.5}-induced depression- and anxiety-like behaviors in mice.

[Objective] To observe the effects of PM_{2.5} exposure on depression- and anxiety-like behaviors and the composition of intestinal flora in mice, and to explore the role of intestinal flora in regulating 5-hydroxytryptamine (5-HT) in depression- and anxiety-like behaviors in mice exposed to PM_{2.5}.

基金项目

河北省大学生创新创业训练计划项目 (R2020036, X2018108); 河北省自然科学基金项目 (H2021209008)

作者简介

唐佳婕 (1998—), 女, 本科生;
E-mail: 1209870405@qq.com

通信作者

蒋守芳, E-mail: jiangshoufang@163.com

伦理审批 已获取

利益冲突 无申报

收稿日期 2022-03-18

录用日期 2022-10-13

文章编号 2095-9982(2022)12-1343-07

中图分类号 R114

文献标志码 A

引用

唐佳婕, 郑佳雪, 宋倩, 等. 肠道菌群及 5-HT 在大气 PM_{2.5} 暴露致小鼠抑郁焦虑样行为中的作用 [J]. 环境与职业医学, 2022, 39(12): 1343-1349.

本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM22100

Funding

This study was funded.

Correspondence to

JIANG Shoufang, E-mail: jiangshoufang@163.com

Ethics approval Obtained

Competing interests None declared

Received 2022-03-18

Accepted 2022-10-13

To cite

TANG Jiajie, ZHENG Jiaxue, SONG Qian, et al. Role of intestinal flora and 5-HT in depression- and anxiety-like behaviors in mice exposed to PM_{2.5} [J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2022, 39(12): 1343-1349.

Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM22100

[Methods] Eight-week-old male SPF C57BL/6J mice were randomly divided into control group (NS group), probiotic group (LGG group), PM_{2.5} group (PM group), and combined exposure group (PML group), 6 mice in each group. Mice in the PM group and the PML group were exposed to PM_{2.5} in a dynamic exposure cabinet for 6 h per day, 6 d a week for 7 consecutive weeks, and the PM_{2.5} concentrations were approximately 8 times higher than the outdoor concentration. The LGG group and the PML group were orally administered with *Lactobacillus rhamnosus* while the NS group and the PM group were orally administered with the same amount of saline. Elevated plus maze test and open field test were used to detect depression and anxiety in mice. Fecal samples of mice were collected to evaluate intestinal flora abundance, diversity, and structure between groups using high-throughput sequencing of 16S rRNA. ELISA was employed to detect the levels of 5-HT in serum and hippocampus. Spearman correlation was used to analyze the correlations of differential intestinal flora with 5-HT level in hippocampus and depression- and anxiety-like behavior indicators in mice.

[Results] The percentage of open-arm entry [$M(P_{25}, P_{75})$] in the PM group was 0.0% (0.0%, 33.3%), lower than those in the NS group [47.7% (25.0%, 50.8%)] and the PML group [46.9% (40.0%, 50.0%)], and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The total travelled distance and the time spent in central area ($\bar{x} \pm s$) in the PM group were (2.01±0.90) m and (10.31±1.99) s respectively, shorter than those of the NS group [(3.80±0.89) m, (14.47±3.07) s], the total travelled distance in the PML group [(2.73±1.12) m] was shorter than those of the NS group and the LGG group [(4.21±1.08) m], and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Compared to the NS group, the Simpson index of the PM group significantly increased ($P < 0.05$). Compared to the LGG group, the Simpson index of the PML group significantly decreased ($P < 0.05$). The results of Beta diversity analysis showed that there were differences in the composition of intestinal flora among the four groups of mice. Compared with the NS group and the LGG group, the abundances of Erysipelotrichaceae and *Dubosiella* in the PM group and the PML group increased, while the abundances of *Prevotellaceae_UCG-001* decreased, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). In hippocampus, the level of 5-HT in the PM group [(135.02±10.31) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$] was lower than those in the NS group [(178.77±43.15) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$] and the LGG group [(224.85±22.98) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$], and the level of 5-HT in the PML group [(161.27±15.81) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$] was lower than that in the LGG group ($P < 0.05$). 5-HT level in hippocampus was significantly positively correlated with the relative abundance of *Prevotellaceae_UCG-001* ($r=0.6090$, $P=0.012$). The percentage of open-arm entry was significantly negatively correlated with the relative abundance of *Dubosiella* ($r=-0.4630$, $P=0.023$).

[Conclusion] Atmospheric PM_{2.5} exposure may cause depression- and anxiety-like behaviors in mice. The observed behavior dysfunction may be associated with the changes in diversity and relative abundance of intestinal flora as well as the decrease of 5-HT level. Such depression- and anxiety-like behaviors are alleviated after adding probiotics.

Keywords: ambient fine particulate matter; intestinal flora; 5-hydroxytryptamine; depression and anxiety; 16S rRNA

京津冀地区大气污染较严重, 冬季雾霾频发, 2019年京津冀及周边地区空气质量为中度污染及以上级别时的首要污染物为细颗粒物(fine particulate matter, PM_{2.5})^[1]。PM_{2.5}可通过呼吸道进入体内, 随血液循环而影响机体多个系统。2015—2018年在加拿大、中国台湾地区、英国和美国进行的四项队列研究结果显示, PM_{2.5}浓度每增加 10 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$, 痴呆症发生风险增加 3.26 倍; 在亚组分析中, PM_{2.5}浓度每增加 10 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$, 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)发病风险增加 4.82 倍^[2]。研究显示, 暴露于 PM_{2.5}的人群表现出高度焦虑症状^[3], 妊娠期 PM_{2.5}暴露诱导仔鼠认知和情绪障碍^[4]。然而, 目前 PM_{2.5}致病机制尚未阐明。

肠道菌群对人类健康与疾病的重要影响已成为近年来的研究热点^[5]。肠道菌群可影响多种脑部疾病, 如 AD、帕金森病和自闭症等, 其失调还可导致抑郁、焦虑、精神分裂、痴呆以及痴呆样行为和心理症状等神经认知障碍^[6]。一项临床随机对照研究表明, 益生菌短双歧杆菌能够改善疑似轻度认知障碍老年人的认知功能^[7]。肠道菌群与大脑之间存在双向作用, 被称为微生物-肠-脑轴^[8]。5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)是微生物-肠-脑轴中的重要神经递质, 参与调节

情绪和认知, 与情绪障碍、焦虑障碍和抑郁^[9]等多种疾病密切相关。5-HT水平降低可导致抑郁症的发生是目前较为公认的神经生物学理论^[10]。人群血清 5-HT 浓度升高可以治疗焦虑性失眠, 缓解焦虑情绪^[11]。

PM_{2.5}暴露可改变小鼠肠道细菌群落的丰度及肠道微生物群的组成^[12], 其可能通过影响肠道菌群激活肠脑轴, 引起神经系统功能障碍^[13]。本研究拟探讨小鼠暴露大气 PM_{2.5}后抑郁焦虑样行为及肠道菌群的变化, 并添加鼠李糖乳杆菌(益生菌)调节肠道菌群, 探讨 PM_{2.5}对小鼠认知及焦虑抑郁样行为的影响是否与肠道菌群及 5-HT 水平变化有关。

1 对象与方法

1.1 试剂与仪器

PM_{2.5}在线浓缩富集系统、小动物全身动态暴露系统(北京慧荣和科技有限公司, 中国), 高架十字迷宫实验装置、旷场实验装置(上海欣软科技信息有限公司, 中国), 小鼠 5-HT 检测试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司, 中国), 鼠李糖乳杆菌(北纳创联生物技术有限公司, 中国), MRS 琼脂培养基、MRS 肉汤培养基(北京索莱宝科技有限公司, 中国)。

1.2 益生菌的培养与配制

将鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus*)接种于MRS肉汤培养基中,37℃培养24h,4℃低温4000 r·min⁻¹离心15 min(离心半径12 cm),收集菌体沉淀,生理盐水洗涤3次,重悬菌体,调整鼠李糖乳杆菌悬液浓度为1×10⁹ CFU·mL⁻¹。

1.3 实验动物分组与染毒

选取8周龄雄性SPF级C57BL/6J小鼠24只,体重(20±2)g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司[动物合格证号:华阜康SCXK(京)2019-0008]。普通饮食,自由饮水,室内温度在18~23℃,湿度30%~60%,光照按昼夜节律。适应性饲养一周后,随机分为对照组(NS组)、益生菌组(LGG组)、PM_{2.5}组(PM组)、联合暴露组(PML组),每组6只。NS组和PM组每日灌胃生理盐水,LGG组和PML组每日按照体重灌胃鼠李糖乳杆菌悬液(0.01 mL·g⁻¹)。PM组和PML组小鼠灌胃结束后采用PM_{2.5}在线浓缩富集系统和小动物全身动态染毒系统进行PM_{2.5}染毒。根据唐山市近两年PM_{2.5}的年均浓度、取暖期PM_{2.5}的平均浓度和前期预实验结果,PM_{2.5}染毒浓度约为室外浓度的8倍,每天6h,每周6d,持续染毒7周,染毒柜内PM_{2.5}浓度实时显示。使用气溶胶监测仪监测室外、洁净室内PM_{2.5}浓度。NS组和LGG组饲养于洁净室内,PM组和PML组染毒日PM_{2.5}染毒结束后饲养于洁净室内。本研究已通过华北理工大学实验动物伦理委员会审查批准(LX2019092)。

1.4 高架十字迷宫实验

高架十字迷宫装置(elevated plus maze test, EPMT)由一对开臂和一对闭臂组成,用以评价小鼠焦虑状态。啮齿类动物由于天性趋向于在黑暗的闭臂中活动,好奇心和探索性又驱使其进入开臂中。实验开始时小鼠被放置在迷宫的中心区域,面向一侧开臂,记录5 min内小鼠的运动情况,包括:进入开臂次数(open arm entry, OE),实验时间内进入开臂的总次数;开臂停留时间(open arm time, OT),实验时间内在开臂停留的总时间;开臂次数百分比(OE%),即实验时间内动物进入开臂次数/进入开臂和闭臂总次数之和×100%;开臂时间百分比(OT%),即实验时间内动物进入开臂时间/进入开臂和闭臂总时间之和×100%。

以上各项指标数值均与小鼠焦虑程度成反比。

1.5 旷场实验

旷场实验箱置于安静的实验室中,将小鼠放在40 cm×40 cm旷场箱体中心,箱体正上方设置摄像机,

记录小鼠自由活动5 min的活动轨迹。分析运动总距离(m)、进入中央区次数(次)、停留中央区时间(s)。三项指标可评价实验动物的探索行为,指标数值下降,表示探索行为减少,能够评价实验动物的抑郁状态。每只小鼠活动结束后,清理小鼠粪便和尿液,酒精清洗旷场箱,以免影响下一只小鼠活动。

1.6 肠道菌群分析

1.6.1 粪便肠道菌群DNA提取 染毒结束后,次日清晨采用应激排便方法,收集小鼠新鲜粪便放置于无菌EP管中,迅速放在干冰上并转移到-80℃冰箱。采用十六烷基三甲基溴化铵法提取样本粪便肠道菌群DNA,琼脂糖凝胶电泳检测DNA纯度和浓度。

1.6.2 PCR扩增及高通量测序 取适量样本DNA于离心管中,用无菌水稀释样本至1 ng·μL⁻¹。扩增16S rRNA的V4-V5区序列,通用引物对为341F(5'-CCTAYGGG-BGCASCAG-3')和806R(5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3')。使用TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit建库试剂盒构建文库,构建好的文库经过Qubit和Q-PCR定量,文库合格后,使用NovaSeq6000上机测序。

1.6.3 生物信息学分析 采用chao1指数和Simpson指数评价小鼠肠道菌群Alpha多样性, chao1指数增加表示菌群物种丰度增加, Simpson指数增加表示群落多样性增加。无度量多维标法定法(non-metric multidimensional scaling, NMDS)属于多维尺度分析(multidimensional scaling, MDS),分析基于距离值的秩次信息评估,用于评价Beta多样性,组内样本点距离近说明样本重复性强,组间样本点距离远说明不同组样本距离在秩次上的差异大,当胁迫系数Stress<0.2时,表明NMDS分析具有可靠性,可以准确反映样本间的差异程度。采用Adonis检验分析群落结构差异,R²表示不同分组对样本差异的解释度,即分组方差与总方差的比值,R²越大表示分组对差异的解释度越高。采用线性判别分析(linear discriminant analysis effect size, LEfSe)判断各组差异菌群。

1.7 血清和海马组织神经递质5-HT水平测定

摘眼球取血,室温静置1h后,于4℃,3000 r·min⁻¹离心10 min(离心半径12 cm),取上清。取血后,断头,冰上分离海马组织。采用ELISA法,按说明书步骤检测血清和海马组织中5-HT水平。

1.8 统计学分析

采用SPSS 25.0软件进行统计学分析,符合正态分布的资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析进行组间比较,组间两两比较采用LSD检验;不满足正态分布

的资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示, 组间比较采用秩和检验; 相关分析采用 Spearman 相关。双侧检验, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

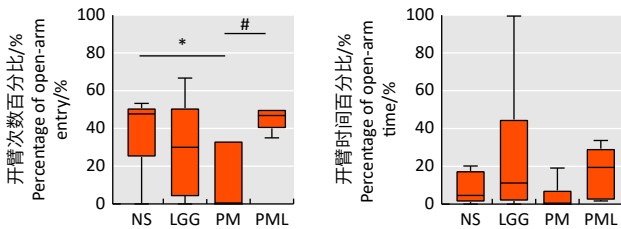
2 结果

2.1 $PM_{2.5}$ 浓度

$PM_{2.5}$ 染毒时间从 2020 年 11 月 20 日到 2021 年 1 月 7 日, 每天 6 h, 每周 6 d, 共 7 周。室外、洁净室和染毒柜内 $PM_{2.5}$ 浓度的 $M(P_{25}, P_{75})$ 分别为 50.2(36.0, 66.1)、11.5(6.0, 15.8)、407.8(294.9, 545.4) $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$; 染毒柜内 $PM_{2.5}$ 浓度约为室外浓度的 8 倍。

2.2 小鼠抑郁焦虑样行为

高架十字迷宫试验结果显示: 与 NS 组相比, PM 组 OE% 减少; 与 PM 组相比, PML 组开臂次数百分比增加, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 各组小鼠开臂时间百分比差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 1。旷场试验结果如表 1 所示, 与 NS 组相比, PM 组运动总距离和中央区停留时间均减少 ($P < 0.05$)。与 NS 组和 LGG 组相比, PML 组运动总距离减少, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。



[注] *: 与 NS 组相比, $P < 0.05$; #: 与 PM 组相比, $P < 0.05$ 。
[Note] *: Compared with the NS group, $P < 0.05$; #: Compared with the PM group, $P < 0.05$ 。

图 1 高架十字迷宫中各组小鼠行为学比较

Figure 1 Comparison of mouse behaviors in elevated plus maze

表 1 旷场实验中小鼠运动总距离、中央区停留时间和进入次数结果比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 1 Total travelled distance, residence time in central area, and entry times in open field test ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别 (Group)	运动总距离/m (Total travelled distance/m)	中央区停留时间/s (Residence time/s)	中央区进入次数 (Entry times)
NS	3.80±0.89	14.47±3.07	2.44±1.42
LGG	4.21±1.08	15.05±3.96	2.78±0.97
PM	2.01±0.90 ^a	10.31±1.99 ^a	2.67±1.22
PML	2.73±1.12 ^{ab}	12.53±2.66	2.56±1.33
F	8.974	4.564	0.119
P	<0.001	0.009	0.949

[注] a: 与 NS 组相比, $P < 0.05$; b: 与 LGG 组相比, $P < 0.05$ 。
[Note] a: Compared with the NS group, $P < 0.05$; b: Compared with the LGG group, $P < 0.05$ 。

2.3 肠道菌群分析

2.3.1 Alpha 多样性分析

从表 2 可见, 4 组间 chao1

指数差异无统计学意义; LGG、PM 组的 Simpson 指数较 NS 组均有增加 ($P < 0.05$), 而 PML 组 Simpson 指数低于 LGG 组 ($P < 0.05$)。

表 2 各组小鼠肠道菌群 Alpha 多样性分析 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

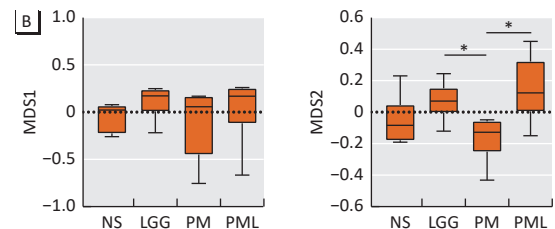
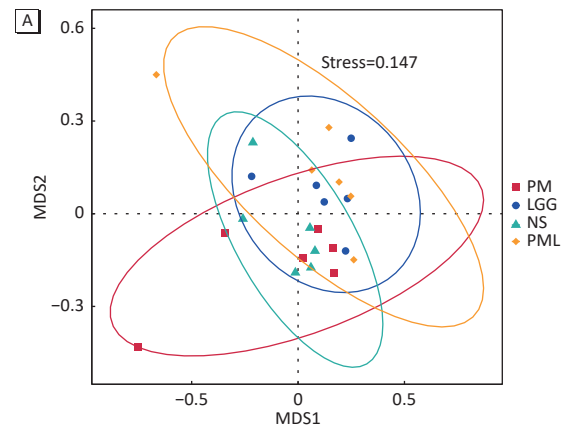
Table 2 Alpha diversity in intestinal flora ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别 (Group)	chao1	Simpson
NS	415.39±54.95	0.929±0.013
LGG	497.71±85.13	0.951±0.016 ^a
PM	432.37±131.36	0.957±0.011 ^a
PML	455.69±80.51	0.918±0.030 ^b
F	0.898	5.566
P	0.459	0.006

[注] a: 与 NS 组相比, $P < 0.05$; b: 与 LGG 组相比, $P < 0.05$ 。
[Note] a: Compared with the NS group, $P < 0.05$; b: Compared with the LGG group, $P < 0.05$ 。

2.3.2 Beta 多样性分析

图 2A 中每个点表示一份样本。Stress 值为 0.147 (< 0.2), 可以准确反映样本间的差异程度。图 2A 显示各样本交织在一起, 进一步分析各组样本在 MDS1、MDS2 两条轴上的分布。图 2B 为各组样本在 MDS1、MDS2 两条轴上距离矩阵的数值排序, PM 组与 LGG 组、PM 组与 PML 组样本可被区分开, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。



[注] A: NMDS 分析; B: 各组于 MDS 两条轴上的分布。*: 与 PM 组相比, $P < 0.05$ 。

[Note] A: Non-metric multi-dimensional scaling; B: Distribution of each group on the two axes of MDS. *: Compared with the PM group, $P < 0.05$ 。

图 2 各组小鼠肠道菌群 Beta 多样性比较

Figure 2 Comparison of gut microbial Beta diversity

2.3.3 群落结构差异分析

如表 3 所示, 与 NS 组比较, LGG 组和 PM 组的群落结构组成不同 ($P < 0.05$); 与

LGG 组比较, PM 组和 PML 组肠道菌群结构组成不同 ($P < 0.05$); PM 组和 PML 组之间也有差异 ($P < 0.05$)。

表 3 组间物种差异分析 (Adonis 检验, $n=6$)

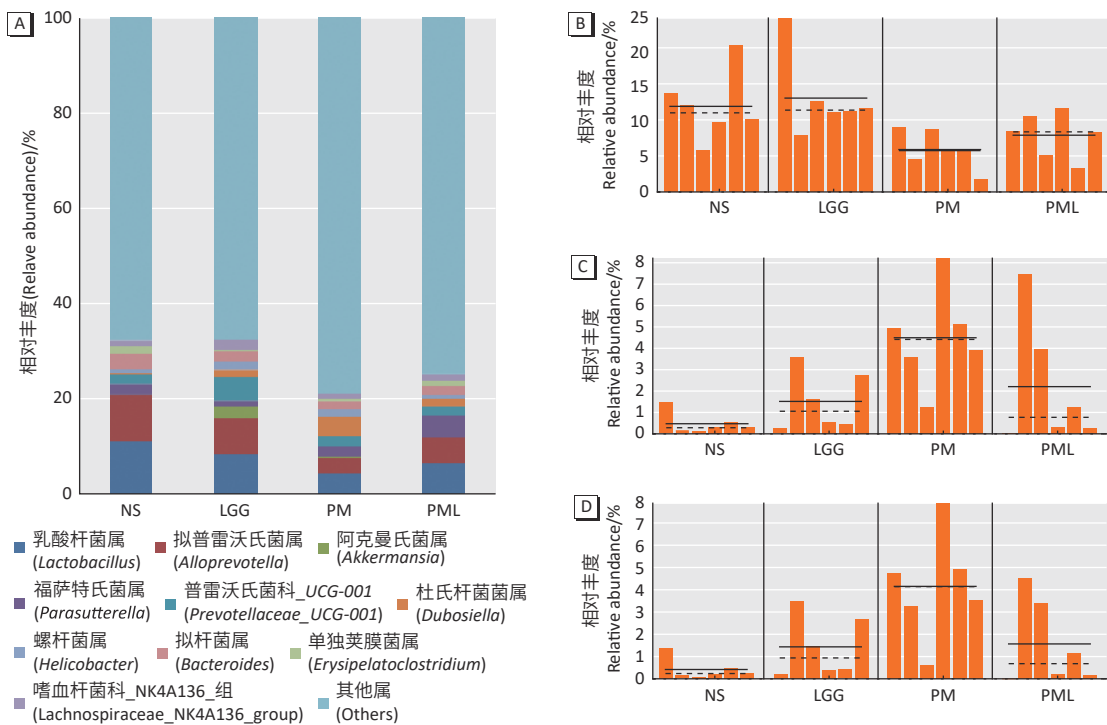
组别(Group)	R^2	P
NS-LGG	0.1965	0.003
NS-PM	0.3154	0.002
NS-PML	0.1301	0.128
LGG-PM	0.2571	0.004
LGG-PML	0.1755	0.041
PM-PML	0.2890	0.007

2.3.4 肠道菌群物种组成分析 如图 3A 所示, 在属水平上, 各组小鼠肠道菌群主要由乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、拟普雷沃氏菌属 (*Alloprevotella*)、阿克曼氏菌属

(*Akkermansia*)、普雷沃氏菌科_UGC-001 属 (*Prevotellaceae_UCG-001*)、杜氏杆菌属 (*Dubosiella*) 组成。采用 LEfSe 分析发现四组小鼠存在三种差异菌群, 如图 3(B、C、D) 所示, 与 NS 组和 LGG 组相比, PM 组及 PML 组杜氏杆菌属、丹毒丝菌科丰度升高, 普雷沃氏菌科丰度降低 ($P < 0.05$)。

2.4 各组小鼠血清和海马组织的 5-HT 水平

如图 4A 所示, 各组血清 5-HT 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。图 4B 显示, 与 NS 组比较, LGG 组海马组织 5-HT 水平升高, PM 组 5-HT 水平降低, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 LGG 组相比, PM 组和 PML 组海马 5-HT 水平均降低, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

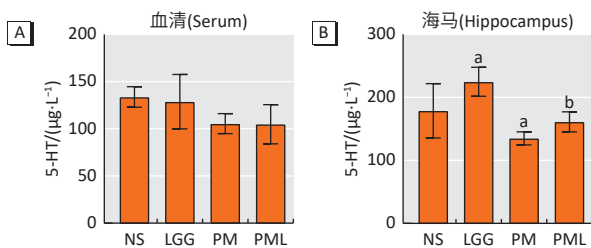


[注] A: 属水平上排名前 10 的菌群分布; B: 普雷沃氏菌科相对丰度; C: 丹毒丝菌科相对丰度; D: 杜氏杆菌属相对丰度。

[Note] A: Distribution of top 10 intestinal flora at the genus level; B: Relative abundance of Prevotellaceae; C: Relative abundance of Erysipelatoclostridium; D: Relative abundance of *Dubosiella*.

图 3 各组样本菌群结构差异分析 ($n=6$)

Figure 3 Differences in composition of intestinal flora ($n=6$)



[注] a: 与 NS 组相比, $P < 0.05$; b: 与 LGG 组相比, $P < 0.05$ 。

[Note] a: Compared with the NS group, $P < 0.05$; b: Compared with the LGG group, $P < 0.05$.

图 4 小鼠血清 (A) 和海马组织 (B) 5-HT 水平

Figure 4 The levels of 5-HT in serum (A) and hippocampus (B) of mice

2.5 小鼠抑郁焦虑样行为和肠道菌群的相关分析

采用 Spearman 相关分析的方法评估小鼠海马组织中 5-HT 水平及小鼠抑郁焦虑样行为与肠道差异菌群的相关性。如图 5(A、B) 所示, 小鼠海马组织中 5-HT 水平与普雷沃氏菌科_UGC-001 属的相对丰度存在正相关关系 ($r=0.6090, P=0.012$); 小鼠开臂进入次数百分比与杜氏杆菌属的相对丰度存在负相关关系 ($r=-0.4630, P=0.023$)。另外, 未发现其他抑郁焦虑样行为指标与肠道菌群的相对丰度存在相关性。

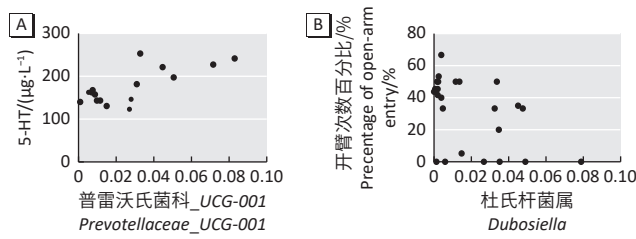


图5 小鼠海马组织 5-HT 水平 (A) 及抑郁焦虑样行为 (B) 与属水平差异菌群相对丰度的相关性分析

Figure 5 Correlations of differential intentional flora at genus level with 5-HT level (A) and depression- and anxiety-like behaviors (B) of mice

3 讨论

研究表明,大气 $PM_{2.5}$ 暴露与人的抑郁、焦虑行为密切相关^[14-15]。本研究结果显示,小鼠暴露于较高浓度的 $PM_{2.5}$ 会产生抑郁焦虑样行为。暴露于 $PM_{2.5}$ 小鼠肠道菌群丰度和多样性增加,与文献研究结果一致^[16-17],肠道菌群组成也发生了变化,这可能是其菌群丰度和多样性增加的原因。鼠李糖乳杆菌是一种重要的益生菌,其代谢产物具有抑菌活性,可增强动物对某些致病菌的抵抗作用^[11]。给予该益生菌干预后 $PM_{2.5}$ 暴露小鼠的菌群结构发生了改变,这些结果表明 $PM_{2.5}$ 暴露可导致小鼠肠道菌群失调。研究还发现, $PM_{2.5}$ 暴露后杜氏杆菌属和丹毒丝菌科相对丰度增加,而丹毒丝菌科被证实与炎症相关的胃肠道疾病和结肠直肠癌有关^[18];在葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠急性结肠炎中杜氏杆菌属丰度升高^[19]。补充益生菌后在一定程度上改善了小鼠的抑郁焦虑样行为,相关分析显示杜氏杆菌属与小鼠抑郁焦虑样行为相关,提示 $PM_{2.5}$ 暴露小鼠抑郁焦虑样行为可能与菌群失调有关。本研究仅显示出属水平上的差异菌群,还需进一步研究明确这些菌的生物学效应。

以往研究显示,肠道菌群可影响 5-HT 释放,进而影响中枢神经系统,导致行为和认知变化^[9]。本研究发现, $PM_{2.5}$ 暴露小鼠海马组织 5-HT 水平相对较低,益生菌组小鼠海马组织中 5-HT 水平增加,而且添加益生菌的 $PM_{2.5}$ 暴露小鼠 5-HT 水平有所升高。大脑海马区域参与和抑郁症相关的情绪、行为和记忆过程,抑郁症状的产生与大脑突触 5-HT 表达减少有关,5-HT 表达增加可缓解抑郁症状^[20]。重度抑郁症患者,肠道菌群的构成发生改变,普雷沃氏菌科相对丰度低于健康人群^[21]。本研究发现 $PM_{2.5}$ 暴露后普雷沃氏菌属相对丰度减少,且海马 5-HT 水平与普雷沃氏菌属成正相关。因此,研究结果提示 $PM_{2.5}$ 引起小鼠肠道菌群失衡,尤

其是普雷沃氏菌属相对丰度减少,海马组织 5-HT 水平下降,引起小鼠抑郁焦虑样行为;而补充益生菌后,普雷沃氏菌属相对丰度有所增加,小鼠海马 5-HT 水平也相应升高,抑郁焦虑样行为得以缓解。

综上所述,本研究表明 $PM_{2.5}$ 暴露可引起肠道菌群失衡,影响海马 5-HT 水平,这可能与 $PM_{2.5}$ 所致抑郁焦虑样行为相关,为研究 $PM_{2.5}$ 暴露对健康的影响提供了新的思路。但 $PM_{2.5}$ 暴露引起的肠道菌群失调如何通过肠脑轴调控影响认知功能障碍需要深入探讨。本研究尚存在一些不足,虽然实验设计是根据唐山市近两年取暖期 $PM_{2.5}$ 的平均浓度和前期实验结果设置了 $PM_{2.5}$ 染毒浓度,但仅为单一浓度染毒,今后需设置不同剂量组,以探究不同 $PM_{2.5}$ 浓度对肠道菌群的影响,以及肠道菌群失调与抑郁焦虑样行为之间的关系。

参考文献

- [1] 朱媛媛,高愈霄,汪巍,等. 2019年10~12月京津冀及周边“2+26”城市重污染减排效果评估[J]. 环境科学, 2020, 41(10): 4402-4412.
ZHU YY, GAO YX, WANG W, et al. Assessment of emergency emission reduction effect during the heavy air pollution episodes in Beijing, Tianjin, Hebei, and its surrounding area (“2+26”Cities) from October to December 2019[J]. Environ Sci, 2020, 41(10): 4402-4412.
- [2] TSAI TL, LIN YT, HWANG BF, et al. Fine particulate matter is a potential determinant of Alzheimer's disease: a systemic review and meta-analysis[J]. Environ Res, 2019, 177: 108638.
- [3] POWER MC, KIOUMOURTZOGLOU MA, HART JE, et al. The relation between past exposure to fine particulate air pollution and prevalent anxiety: observational cohort study[J]. BMJ, 2015, 350: h1111.
- [4] ZHAO C, XIE P, YONG T, et al. Airborne fine particulate matter induces cognitive and emotional disorders in offspring mice exposed during pregnancy[J]. Sci Bull, 2021, 66(6): 578-591.
- [5] 刘萍,罗本燕. 肠道微生态与中枢神经系统疾病的相关性[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2016, 42(4): 251-254.
LIU P, LUO BY. Correlation between intestinal microecology and central nervous system diseases[J]. Chin J Nerv Ment Dis, 2016, 42(4): 251-254.
- [6] HALVERSON T, ALAGIAKRISHNAN K. Gut microbes in neurocognitive and mental health disorders[J]. Ann Med, 2020, 52(8): 423-443.
- [7] KESIKA P, SUGANTHY N, SIVAMARUTHI BS, et al. Role of gut-brain axis, gut microbial composition, and probiotic intervention in Alzheimer's disease[J]. Life Sci, 2021, 264: 118627.
- [8] JIANG X, DING H, LIU Q, et al. Effects of peanut meal extracts fermented by *Bacillus natto* on the growth performance, learning and memory skills and gut microbiota modulation in mice[J]. Br J Nutr, 2020, 123(4): 383-393.
- [9] 李潇潇,卢圣锋,朱冰梅,等. 5-HT与肠道菌群及其在肠-脑相关疾病中的作用研究进展[J]. 中国康复医学杂志, 2019, 34(1): 116-119.
LI XX, LU SF, ZHU BM, et al. Research progress of 5-HT and gut microbiota and its role in gut-brain-related diseases[J]. Chin J Rehabil Med, 2019, 34(1): 116-119.
- [10] TULLY PJ, PENNINX BW. Depression and anxiety among coronary heart

- disease patients: can affect dimensions and theory inform diagnostic disorder-based screening[J]. *J Clin Psychol*, 2012, 68(4): 448-461.
- [11] LUDWIG IS, BROERE F, MANURUNG S, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG-derived soluble mediators modulate adaptive immune cells[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1546.
- [12] WANG W, ZHOU J, CHEN M, et al. Exposure to concentrated ambient PM_{2.5} alters the composition of gut microbiota in a murine model[J]. *Part Fibre Toxicol*, 2018, 15(1): 17.
- [13] LI T, FANG J, TANG S, et al. PM_{2.5} exposure associated with microbiota gut-brain axis: Multi-omics mechanistic implications from the BAPE study[J]. *Innovation (Camb)*, 2022, 3(2): 100213.
- [14] MILLER JG, GILLETTE JS, MANCZAK EM, et al. Fine particle air pollution and physiological reactivity to social stress in adolescence: the moderating role of anxiety and depression[J]. *Psychosom Med*, 2019, 81(7): 641-648.
- [15] HAO G, ZUO L, XIONG P, et al. Associations of PM_{2.5} and road traffic noise with mental health: evidence from UK Biobank[J]. *Environ Res*, 2022, 207: 112221.
- [16] MUTLU EA, COMBA IY, CHO T, et al. Inhalational exposure to particulate matter air pollution alters the composition of the gut microbiome[J]. *Environ Pollut*, 2018, 240: 817-830.
- [17] LIU W, ZHOU Y, LI Y, et al. Effects of PM_{2.5} exposure during gestation on maternal gut microbiota and pregnancy outcomes[J]. *Chemosphere*, 2020, 247: 125879.
- [18] KIM JS, CHOE H, LEE YR, et al. *Intestinibaculum porci* gen. nov., sp. nov., a new member of the family *Erysipelotrichaceae* isolated from the small intestine of a swine[J]. *J Microbiol*, 2019, 57(5): 381-387.
- [19] WANG Y, TAO H, HUANG H, et al. The dietary supplement *Rhodiola crenulata* extract alleviates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice through anti-inflammation, mediating gut barrier integrity and reshaping the gut microbiome[J]. *Food Funct*, 2021, 12(7): 3142-3158.
- [20] MAHAR I, BAMBICO FR, MECHAWAR N, et al. Stress, serotonin, and hippocampal neurogenesis in relation to depression and antidepressant effects[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2014, 38: 173-192.
- [21] SANADA K, NAKAJIMA S, KUROKAWA S, et al. Gut microbiota and major depressive disorder: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Affect Disord*, 2020, 266: 1-13.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 丁瑾瑜)

· 告知栏 ·

《环境与职业医学》被 Scopus、DOAJ 数据库同时收录

由上海市疾病预防控制中心主办的《环境与职业医学》杂志(*Journal of Environmental and Occupational Medicine, JEOM*)被国际数据库 Scopus 和 DOAJ 同时收录!这是继本刊进入《世界期刊影响力指数报告》和 EBSCO 数据库后的又一重要进展。

《环境与职业医学》由上海市疾病预防控制中心主办,主要着眼于发表环境因素(自然、社会)、职业因素与人群健康的流行病学、毒理学内容的重要研究,以刊登中文文献为主(含英文摘要),月刊。所有被录用的稿件均经过同行专家评议。目前保持 CSCD(核心库)、北大核心、科技核心全收录。杂志主页: www.jeom.org。

作为中文期刊,《环境与职业医学》提供 700 字左右英文长摘要。被两大国际数据库 Scopus 和 DOAJ 同时收录,意味着本刊的期刊方针、声望、学术内容等获得了国际数据库的认可,促进了本刊国际化传播的力度,提高论文在国内外的被引频次,提高作者、期刊、工作单位在国内外的学术地位和知名度。

特别感谢支持《环境与职业医学》的各位专家、作者及读者,我们将不忘初心,砥砺前行!

Scopus(<https://www.scopus.com/>)数据库是由全球最大的出版社——爱思唯尔(Elsevier)推出的科研管理、学科规划数据库,是目前全球规模最大的文摘和引文数据库,具有严格的评审标准。期刊被 Scopus 数据库收录将有利于提升其国际知名度和影响力,打通与国际主流学术平台交流的通道,增强国际学术话语权。

DOAJ(<https://doaj.org/about/>)由瑞典隆德大学图书馆设立于 2003 年 5 月,收录经同行评审的开放存取期刊,涵盖了科学、技术、医学、社会科学、艺术和人文的所有领域。DOAJ 的使命是在全球范围内提高高质量、经同行评审的开放性学术研究期刊的知名度、可及性、声誉、使用率和影响力,不受学科、地理或语言的限制。

《环境与职业医学》编辑部