

基于孟德尔随机化的肠道菌群与耳鸣之间的因果关系

梁茵菲,周靖诗,张姝琪,李凌伟,顾 晶,温志阳,吴冬雪,黎志成,曾祥丽

(中山大学附属第三医院耳鼻咽喉—头颈外科,广州 510630)



曾祥丽,主任医师,博士研究生/博士后导师,中山大学附属第三医院耳鼻咽喉—头颈外科副主任、耳内科主任、眩晕耳鸣诊疗中心主任,岭南医院耳鼻喉科主任。担任国际耳内科医师协会中国分会副主席、中国医师协会耳鼻咽喉科分会耳内科学组副组长、中国中西医结合学会耳鼻咽喉科学分会耳鸣专家委员会副主委、中国医疗保健国际交流促进会耳内科学分会副主委、眩晕分会及听力学分会常务委员、中国听力医学发展基金会(第5届、第6届)专家委员会常务委员、中国医药教育协会眩晕专业委员会常务委员、中华老年医学会耳科分会常务委员、广东省女医师协会医学人文委员会主任委员、广东省儿童听力保健协会副主任委员。担任《中华耳科学杂志》《临床耳鼻咽喉头颈外科杂志》《山东大学耳鼻喉眼学报》《听力学及言语疾病杂志》期刊编委,《中华耳鼻咽喉头颈外科杂志》通讯编委,《中华医学杂志》、*Laryngoscope* 期刊审稿专家,教育部博士论文评审专家。主持国家自然科学基金项目、广东省科技计划项目、广州市科技计划项目等8项课题,以第一作者或通信作者发表论文100余篇,其中SCI期刊论文20篇。出版个人专著《耳鸣与睡眠障碍 曾祥丽2021年观点》,参编教材、专著11部,获国家发明专利1项。

摘要 **目的:**基于孟德尔随机化(MR)研究方法探索肠道菌群与耳鸣之间的因果关系。**方法:**使用MiBioGen联盟开展的全基因组关联研究(GWAS)($n=18\,340$)个体中肠道微生物群的数据,与耳鸣的汇总统计数据——来自英国生物样本数据库发布的数据进行两样本MR研究。使用统计模型逆方差加权(IVW)为主要结果,简单模式法(simple mode)、模型选择法(MR-Egger)、加权中位数法(weighted median)和加权模型(weighted mode)作为补充检验,分析肠道微生物群与耳鸣之间的因果关系,Cochran的Q检验和MR-Egger回归法验证结果的稳定性和异质性。**结果:**IVW分析显示,梭菌纲(class: Clostridia)($OR=0.968\,2$, $95\%\,CI:0.941\,4\sim0.995\,8$, $P=0.024\,2$)、瘤胃球菌属(genus: Ruminococcus)($OR=0.959\,4$, $95\%\,CI:0.928\,4\sim0.991\,6$, $P=0.014\,1$)和梭菌目(order: Clostridiales)($OR=0.968\,3$, $95\%\,CI:0.941\,3\sim0.995\,8$, $P=0.024\,3$)菌群丰度升高可能会降低耳鸣发病风险;柔壁菌门(phylum: Tenericutes)($OR=1.022\,1$, $95\%\,CI:1.001\,2\sim1.043\,4$, $P=0.037\,9$)、柔膜菌纲(class: Mollicutes)($OR=1.022\,1$, $95\%\,CI:1.001\,2\sim1.043\,4$, $P=0.037\,9$)、脱硫弧菌属(genus: Desulfovibrio)($OR=1.031\,4$, $95\%\,CI:1.003\,9\sim1.059\,6$, $P=0.024\,7$)和未命名属(genus: unknowngenus)($OR=1.034\,5$, $95\%\,CI:1.014\,4\sim1.055\,0$, $P=0.000\,7$)菌群丰度升高可能会增加耳鸣发病的风险。工具变量未发现水平多效性及异质性。**结论:**梭菌纲、瘤胃球菌属和梭菌目可能是耳鸣的潜在保护菌群,柔壁菌门、柔膜菌纲、脱硫弧菌属和未命名属可能是耳鸣的潜在危害因素。

关键词 耳鸣;肠道菌群;孟德尔随机化;因果推断

中图分类号:R740;R764.45 文献标志码:A 文章编号:1005-930X(2024)10-1390-08

DOI:10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.10.012

The causal relationship between gut microbiota and tinnitus based on Mendelian randomization

LIANG Yinfei, ZHOU Jingshi, ZHANG Shuqi, LI Lingwei, GU Jing, WEN Zhiyang, WU Dongxue, LI Zhicheng, ZENG Xiangli. (Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China)

Abstract **Objective:** To explore the causal relationship between gut microbiota and tinnitus based on Mendelian randomization (MR) research method. **Methods:** Data on the gut microbiota in individuals from the genome wide association study (GWAS) ($n=18,340$) using the MiBioGen consortium, and the summary statistical data of tinnitus were obtained from published data in the UK Biobank for a two sample MR study. Using statistical model inverse variance weighting (IVW) as the main result, simple mode method, model selection method (MR-Egger), weighted median method, and weighted model were used to supplement the examination of the causal rela-

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 82171151);广州市科技计划产学研协同创新重大专项(No. 201704030081)

[通信作者] 黎志成, E-mail: lzcheng@mail.sysu.edu.cn; 曾祥丽, E-mail: zxiangli@mail.sysu.edu.cn

[收稿日期] 2024-08-13

relationship between gut microbiota and tinnitus. Cochran's Q-test and MR Egger regression were used to verify the stability and heterogeneity of the results. **Results:** IVW analysis showed that an increase in the abundance of *class. Clostridia* ($OR=0.9682$, 95% CI : 0.9414-0.9958, $P=0.0242$), *genus. Ruminococcus 1* ($OR=0.9594$, 95% CI : 0.9284-0.9916, $P=0.0141$), and *order. Clostridiales* ($OR=0.9683$, 95% CI : 0.9413-0.9958, $P=0.0243$) might reduce the risk of tinnitus; the increased abundance of *phylum. Tenericutes* ($OR=1.0221$, 95% CI : 1.0012-1.0434, $P=0.0379$), *class. Mollicutes* ($OR=1.0221$, 95% CI : 1.0012-1.0434, $P=0.0379$), *genus. Desulfovibrio* ($OR=1.0314$, 95% CI : 1.0039-1.0596, $P=0.0247$), and *genus. unknowngenus* ($OR=1.0345$, 95% CI : 1.0144-1.0550, $P=0.0007$) might increase the risk of tinnitus. No horizontal pleiotropy or heterogeneity was found in instrumental variables. **Conclusion:** *Class. Clostridia*, *genus. Ruminococcus 1*, and *order. Clostridiales* may be potential protective bacterial groups for tinnitus, while *phylum. Tenericutes*, *class. Mollicutes*, *genus. Desulfovibrio*, and *genus. unknowngenus* may be potential risk factors for tinnitus.

Keywords tinnitus; gut microbiota; Mendelian randomization; causal inference

耳鸣是一种脱离外界声、电刺激源而存在的一种异常听觉体验,成年群体的综合发病率约为14.4%^[1]。目前围绕耳鸣的形成及发展机制开展了大量研究,但至今尚未能对其阐述清晰。普遍观点认为,外周听觉系统由于噪声、衰老、药物等因素的暴露而出现损伤^[2-3],导致外周输入的听觉信号减少,打破了听觉中枢的“兴奋—抑制”平衡,引起各级听觉中枢的代偿性活性增强,出现听觉传导通路的超兴奋性,从而产生耳鸣^[4-5]。目前耳鸣中枢机制是耳科学领域亟需探索的难点问题。

近年来研究显示,神经炎症可能是耳鸣形成的潜在病理生理基础^[6-7]。耳鸣动物模型发现,噪声或水杨酸暴露会导致耳蜗、下丘及听觉皮层等听觉传导通路出现肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 、白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 等促炎因子水平的升高^[8-9],并与模型动物初级听觉皮层活性的“兴奋—抑制”失衡密切相关^[8,10-11],而通过敲除TNF- α 基因或使用TNF- α 阻滞剂不仅可以预防造模后动物的神经炎症,还可以改善耳鸣相关行为表现^[8,12]。耳鸣患者外周血TNF- α 和IL-1 β 浓度与耳鸣感知、情绪困扰等临床特征密切相关^[13]。TNF- α 基因的多态性也会影响噪声环境下耳鸣的易感性^[12,14-15]。研究发现,通过向正常小鼠或TNF- α 基因敲除小鼠的听觉皮层中注入TNF- α ,同样可以引起耳鸣样行为^[8]。有研究指出,耳鸣患者听觉皮层中 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)的含量显著降低^[16],GABA作为大脑中主要的抑制性神经递质^[17],多种神经递质与耳鸣活动相关。

肠道菌群通过炎症免疫、神经内分泌和迷走神经系统等途径影响大脑功能,称为微生物—肠—脑轴(microbiota-gut-brain axis, MGB轴)。MGB轴参与了多种神经系统疾病的发生,如帕金森病、自闭症等^[18-19]。肠道生态失调影响GABA和5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)等神经递质的产生^[20],并

通过增加促炎细胞因子和激活的小胶质细胞来促进神经炎症过程。这些改变的神经递质谱和触发的促炎介质也在耳鸣中被发现^[16,21],提出了“肠道菌群失调导致的神经递质改变及神经系统炎症是耳鸣产生的病理生理基础”这一理论假设。由于肠道菌群容易受到年龄、环境、饮食模式和生活方式等混杂因素的影响^[4],较难通过观察性研究对肠道菌群与耳鸣的因果关系进行探讨,因此至今尚缺乏实质且高质量的研究证据支持。

孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)分析是利用与暴露因素具有强相关的基因单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)作为工具变量(instrumental variables, IVs),来评估暴露因素与结局之间的因果关系。MR已被广泛应用于探索肠道菌群与疾病之间的关系,如代谢性疾病^[22]、自身免疫性疾病^[23]、类风湿性关节炎^[24]、心血管疾病^[25]。本研究拟通过双样本MR探讨肠道菌群与耳鸣之间的因果关系。

1 方法

1.1 数据来源 肠道菌群宿主基因数据来源于MiBioGen联盟开展的一项大规模肠道菌群研究^[26],其中包含13 266例欧洲人种在内的共18 340例受试者的基因数据。依据16S rRNA的V4、V3~V4和V1~V2可变区对肠道菌群进行菌属分类;再通过微生物群落定量性状位点(microbiota quantitative trait loci, mbQTL)映射分析来鉴定影响肠道菌群丰度水平的宿主基因SNPs。耳鸣患者基因数据来源于英国生物样本数据库IEU OpenGWAS project (<https://gwas.mrcieu.ac.uk>)分享的ukb-d-4803_0基因数据集。受测人群均为欧洲人种,其中包括83 615例耳鸣患者和34 267例从未有耳鸣经历的对照者。本研究纳入欧洲人种的基因数据进行双样本MR分析,研究分析流程见图1。

1.2 IVs的筛选 依据以下流程筛选MR分析所需的IVs^[27]: (1)挑选与每个菌属相关的SNPs($P<1.0\times 10^{-5}$); (2)使用1000 Genomes项目的欧洲样本数据作为参考面板,计算SNPs之间的连锁不平衡(linkage disequilibrium, LD),保留 $R^2<0.001$ (聚集窗口大小=10 000 kb)且 P 值最小的SNPs; (3)剔除次要等位基因频率(minor allele frequency, MAF) ≤ 0.01 的SNPs; (4)当存在同型SNPs时,使用MAF信息推断正向链等位基因。

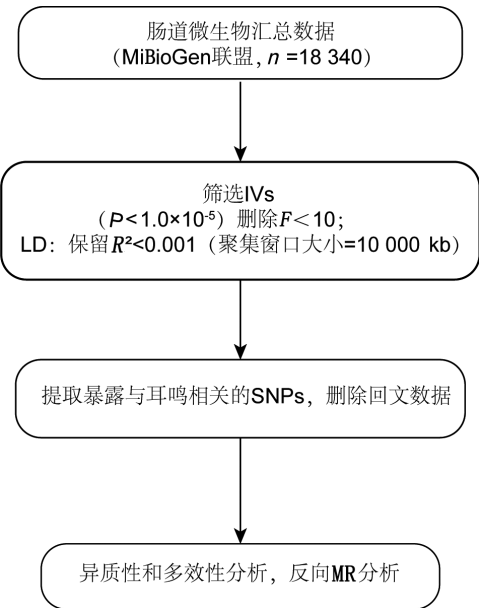


图1 MR肠道微生物与耳鸣研究流程图

1.3 MR统计分析 基于R平台(version 4.2.1),本研究使用Twosample MR(version 0.5.6)及q value等工具包,通过逆方差加权(inverse variance weighted, IVW)、模型选择法(MR_Egger)、加权中位数法(weighted median)、加权模型(weighted mode)等方法,探讨肠道菌群与耳鸣之间的因果关联。

IVs的异质性通过Cochran’s IVW Q统计量来量化;在每次IVs的筛选中通过“留一法”识别潜在的异质性SNPs;通过对正向MR分析存在因果关系的菌群进行反向MR分析,进一步明确肠道菌群与耳鸣之间的因果关系。IVs的强度通过公式 $F=R^2\times(N-1-K)/(1-R^2)\times K$ 来评估。其中 R^2 表示暴露在遗传变异中解释的方差比例, N 表示样本大小, K 表示工具数量,当 F 统计量大于10,则认为不存在显著的弱工具偏差。

2 结 果

2.1 肠道菌群与耳鸣的IVs筛选结果 基于肠道菌群数据集的211个已知肠道菌属与耳鸣患者基因数据集进行双样本MR分析。以IVW结果为主要依据,简单模式法(simple mode)、MR_Egger、weighted median和weighted mode作为补充检验,筛选出7种菌属(2纲、3属、1目和1门)与耳鸣存在因果关联。最后筛选结果见表1,共筛选出42个SNPs,且 F 均大于10,筛选出菌属均完善反向MR分析,无显著性。

表1 与耳鸣风险相关的7种肠道菌群相关的SNPs特征

暴露因素id	暴露因素	SNPs	EA	β	SE	P	F
GCST90016913	class.Clostridia.id.1859	rs10774377	A	0.052 7	0.011 4	3.24E-06	21.390 2
		rs112334273	G	0.064 1	0.012 7	3.81E-07	25.314 1
		rs13179700	T	0.051 2	0.011 0	3.37E-06	21.830 3
		rs2273429	A	-0.072 4	0.015 3	4.52E-06	22.363 7
		rs6814436	T	0.074 0	0.015 1	9.65E-07	24.075 1
GCST90016921	class.Mollicutes.id.3920	rs10108398	G	0.076 9	0.015 4	1.09E-06	24.959 6
		rs11890098	A	0.074 4	0.015 3	9.57E-07	23.550 7
		rs12566890	T	-0.101 1	0.023 1	3.65E-06	19.176 3
		rs3768491	A	-0.068 1	0.014 9	4.23E-06	20.875 3
		rs6043847	T	-0.114 9	0.024 9	4.55E-06	21.374 6
GCST90016987	genus.Desulfovibrio.id.3173	rs72901605	T	-0.084 2	0.017 8	3.26E-06	22.338 3
		rs74603314	T	0.221 6	0.046 3	1.56E-06	22.923 8
		rs11160353	T	-0.069 2	0.014 7	2.70E-06	22.059 1
		rs13066142	G	0.119 1	0.025 1	3.79E-06	22.550 2
		rs16863365	A	0.109 4	0.022 7	1.79E-06	23.234 9
		rs2853179	C	0.081 2	0.017 4	2.42E-06	21.717 7
		rs6580353	T	0.077 1	0.017 0	4.94E-06	20.632 0

续表 1

暴露因素 id	暴露因素	SNPs	EA	β	SE	P	F
GCST90017062	<i>genus.RuminococcusI.id.11373</i>	rs10769159	G	-0.064 0	0.011 0	5.29E-09	33.844 1
		rs11783695	G	-0.073 4	0.016 1	4.73E-06	20.688 6
		rs17781867	C	0.099 9	0.021 2	1.96E-06	22.274 6
		rs6493760	C	0.053 5	0.011 6	3.38E-06	21.334 5
		rs7117576	A	0.083 0	0.017 1	6.48E-07	23.561 2
		rs7583465	C	0.052 8	0.011 3	2.56E-06	21.952 1
GCST90017083	<i>genus.unknowngenus.id.2041</i>	rs16843660	A	0.234 7	0.049 1	1.75E-06	22.876 2
		rs2336448	T	0.077 4	0.016 1	1.43E-06	23.129 7
		rs35703006	G	0.092 7	0.019 1	9.01E-07	23.593 3
		rs553072	G	0.109 2	0.023 0	3.69E-06	22.500 5
		rs7187855	A	0.199 9	0.041 8	2.21E-06	22.846 2
GCST90017095	<i>order.Clostridiales.id.1863</i>	rs10774377	A	0.052 3	0.011 4	3.81E-06	21.099 5
		rs112334273	G	0.063 9	0.012 7	4.07E-07	25.185 7
		rs13179700	T	0.051 1	0.011 0	3.52E-06	21.746 4
		rs2273429	A	-0.072 6	0.015 3	4.17E-06	22.496 9
		rs6814436	T	0.074 2	0.015 1	9.06E-07	24.196 8
		rs6815608	T	0.104 1	0.021 1	3.72E-07	24.362 8
		rs72915163	T	-0.058 0	0.012 1	1.39E-06	23.165 1
GCST90017117	<i>phylum.Tenericutes.id.3919</i>	rs10108398	G	0.076 9	0.015 4	1.09E-06	24.959 6
		rs11890098	A	0.074 4	0.015 3	9.57E-07	23.550 7
		rs12566890	T	-0.101 1	0.023 1	3.65E-06	19.176 3
		rs3768491	A	-0.068 1	0.014 9	4.23E-06	20.875 3
		rs6043847	T	-0.114 9	0.024 9	4.55E-06	21.374 6
		rs72901605	T	-0.084 2	0.017 8	3.26E-06	22.338 3
		rs74603314	T	0.221 6	0.046 3	1.56E-06	22.923 8

2.2 肠道菌群与耳鸣的因果效应 基于MR分析肠道菌群与耳鸣因果关系的森林图和肠道菌群与耳鸣因果关系的泡泡图分别见图2A、图2B,其中P值越小,泡泡越大,蓝色表示保护因素,红色表示危险因素;MR分析的主要结果见表2。

本研究发现了7个耳鸣风险因素的微生物群,包括梭菌纲(class. Clostridia)、瘤胃球菌属(genus. RuminococcusI)和梭菌目(order. Clostridiales)可能是耳鸣的潜在保护菌群,柔壁菌门(phylum. Tenericutes)、柔膜菌纲(class. Mollicutes)、脱硫弧菌属(genus. Desulfovibrio)和未命名属(genus. unknown-genus)可能是耳鸣的潜在危害因素。

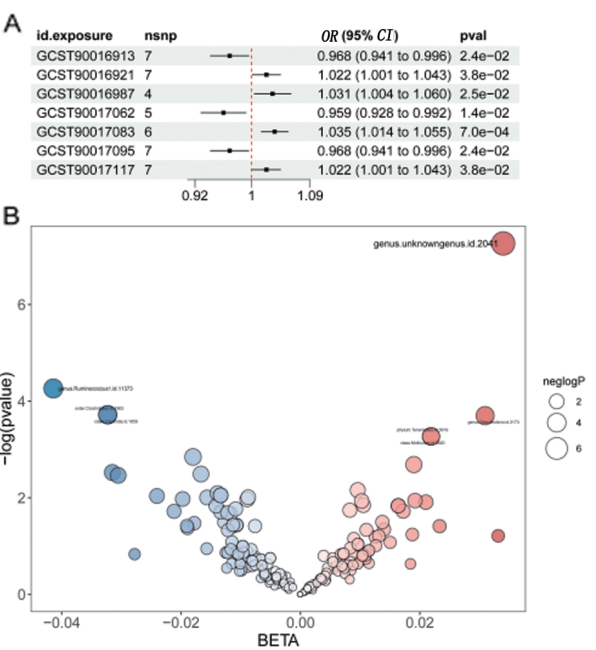


图2 基于MR分析肠道菌群与耳鸣因果关系的森林图(A)和肠道菌群与耳鸣因果关系的泡泡图(B)

表2 MR分析的主要结果							
暴露因素 id	暴露因素	方法	β	P	Lo_CI	Up_CI	OR
GCST90016913	class. Clostridia. id. 1859	IVW	-0.032 3	0.024 2	-0.060 4	-0.004 2	0.968 2
		weighted median	-0.036 8	0.036 8	-0.071 3	-0.002 3	0.963 9
		simple mode	-0.037 6	0.192 6	-0.087 9	0.012 6	0.963 1
		weighted mode	-0.037 8	0.207 9	-0.090 4	0.014 7	0.962 9
		MR_Egger	-0.013 3	0.861 8	-0.155 8	0.129 1	0.986 8
GCST90016921	class. Mollicutes. id. 3920	IVW	0.021 9	0.037 9	0.001 2	0.042 5	1.022 1
		weighted median	0.020 0	0.159 4	-0.007 9	0.047 8	1.020 2
		weighted mode	0.018 8	0.366 7	-0.019 0	0.056 7	1.019 0
		MR_Egger	0.015 8	0.619 9	-0.042 7	0.074 2	1.015 9
		simple mode	0.010 0	0.625 3	-0.028 2	0.048 3	1.010 1
GCST90016987	genus.Desulfovibrio. id. 3173	weighted median	0.040 3	0.017 8	0.007 0	0.073 7	1.041 2
		IVW	0.030 9	0.024 7	0.003 9	0.057 9	1.031 4
		simple mode	0.044 2	0.186 2	-0.006 5	0.094 8	1.045 1
		weighted mode	0.043 7	0.197 3	-0.008 2	0.095 5	1.044 6
		MR_Egger	-0.009 5	0.912 5	-0.160 1	0.141 0	0.990 5
GCST90017062	genus. RuminococcusI. id. 11373	IVW	-0.041 4	0.014 1	-0.074 5	-0.008 3	0.959 4
		weighted median	-0.035 6	0.144 7	-0.083 5	0.012 3	0.965 0
		simple mode	-0.051 7	0.159 4	-0.110 5	0.007 0	0.949 6
		weighted mode	-0.049 8	0.179 6	-0.110 0	0.010 3	0.951 4
		MR_Egger	-0.107 8	0.220 7	-0.244 9	0.029 2	0.897 8
GCST90017083	genus. unknowngenus. id. 2041	weighted median	0.045 6	0.000 5	0.020 0	0.071 2	1.046 7
		IVW	0.034 0	0.000 7	0.014 3	0.053 6	1.034 5
		simple mode	0.048 7	0.048 1	0.012 0	0.085 4	1.049 9
		weighted mode	0.048 7	0.052 4	0.011 0	0.086 4	1.049 9
		MR_Egger	0.021 7	0.490 2	-0.034 3	0.077 7	1.021 9
GCST90017095	order. Clostridiales. id. 1863	IVW	-0.032 3	0.024 3	-0.060 4	-0.004 2	0.968 3
		weighted median	-0.036 7	0.046 0	-0.072 7	-0.000 7	0.964 0
		weighted mode	-0.037 9	0.178 7	-0.086 7	0.010 9	0.962 8
		simple mode	-0.037 7	0.187 2	-0.087 3	0.011 9	0.963 0
		MR_Egger	-0.013 7	0.856 6	-0.154 4	0.127 0	0.986 4
GCST90017117	phylum. Tenericutes. id. 3919	IVW	0.021 9	0.037 9	0.001 2	0.042 5	1.022 1
		weighted median	0.020 0	0.144 1	-0.006 8	0.046 8	1.020 2
		weighted mode	0.018 8	0.353 8	-0.017 9	0.055 6	1.019 0
		MR_Egger	0.015 8	0.619 9	-0.042 7	0.074 2	1.015 9
		simple mode	0.010 0	0.641 7	-0.030 2	0.050 2	1.010 1

2.3 异质性和多效性检验结果 所有的Q_pval均>0.05,表明各微生物群分类组的所有SNPs均不存在异质性。用MR_Egger回归评估SNPs与结果之间的多效性,MR_Egger回归中截距项的P>0.05,表明不存在水平多效性。多效性检验是MR分析最重要的环节,其确保了结果的准确性和稳健性,MR_Egger截距回归分析较为合理地解决了不相关

水平多效性的偏倚,但仍无法控制相关水平多效性的影响。因此,本研究采用最后2种方法联合对肠道菌群与耳鸣进行分析,结果显示:肠道菌群与耳鸣结果不存在相关水平多效性(表3)。“留一法”检验结果证实了本研究MR结果的稳健性,未见单个SNP对研究结果产生较大偏倚。

表3 7个特定微生物群落的异质性和多效性检验结果

暴露因素id	暴露因素	方法	Q	Q_pval	MR_Egger_intercept	P
GCST90016913	class. Clostridia. id. 1859	IVW	2.015 6	0.918 3	-0.001 2	0.800 7
		MR_Egger	1.944 7	0.856 7		
GCST90016921	class. Mollicutes. id. 3920	IVW	4.517 2	0.607 0	0.000 6	0.835 6
		MR_Egger	4.469 4	0.484 0		
GCST90016987	genus. Desulfovibrio. id. 3173	IVW	2.211 7	0.529 7	0.003 8	0.645 9
		MR_Egger	1.924 9	0.382 0		
GCST90017062	genus. Ruminococcus I. id. 11373	IVW	4.552 6	0.336 4	0.004 6	0.399 7
		MR_Egger	3.450 0	0.327 3		
GCST90017083	genus.unknowngenus. id. 2041	IVW	5.704 6	0.336 0	0.001 5	0.666 1
		MR_Egger	5.412 0	0.247 6		
GCST90017095	order. Clostridiales. id. 1863	IVW	2.012 4	0.918 6	-0.001 2	0.801 4
		MR_Egger	1.942 1	0.857 1		
GCST90017117	phylum.Tenericutes. id. 3919	IVW	4.517 2	0.607 0	0.000 6	0.835 6
		MR_Egger	4.469 4	0.484 0		

3 讨 论

本研究旨在探究肠道菌群与耳鸣之间的因果关系,通过MR研究全面评估211种肠道微生物,鉴别出7种肠道菌群与耳鸣相关,且对研究结果进行严格的质量控制,避免混杂因素所造成的影响,结果显示,与患病风险存在因果关系的肠道菌群有7种。其中,增加耳鸣患病风险的菌群有3种,包括梭菌纲、瘤胃球菌属和梭菌目,有4种菌群对耳鸣的发病存在保护作用,包括柔壁菌门、柔膜菌纲、脱硫弧菌属和未命名属。

Inamo等^[24]研究阐述肠道菌群功群与耳鸣之间的作用机制,分别从肠道微生物组、肠道菌群失调、肠-脑轴、神经递质、神经炎症和耳鸣之间的关系,这可以为本研究的结果提供一定的证据支撑。肠道菌群生态失调会影响神经递质的产生,可能导致神经炎症的发生,如饮食、感染和抗生素使用可能会改变所需的有益微生物群,导致神经递质的产生,破坏神经递质平衡。研究证实,耳鸣的发生与耳鸣抑制性神经递质(如GABA和兴奋性神经递质)的增加有关。在小鼠体内研究中,发现GABA的产生与肠道菌群密切相关,肠道菌群通过调节神经递质来调节大脑的活动。研究中总结了放线菌门、拟杆菌门、厚壁菌门、变形菌门、双歧杆菌属、拟杆菌属、优杆菌属、乳酸杆菌属、梭菌属、肠球菌属、沙雷菌属等细菌通过其代谢活动和与宿主的相互作用,影响着肠道健康和全身的生理功能,肠道菌群失调则可能导致多种健康问题,包括神经系统疾

病如耳鸣^[24]。本研究发现,梭菌纲和梭菌目丰度增加均能增加耳鸣患病风险,属于厚壁菌门内一组多样化的革兰阳性孢子形成厌氧菌,在人类肠道微生物群中起着重要作用。它们参与各种代谢和免疫过程,有助于肠道稳态和健康。主要是通过产生短链脂肪酸(SCFAs)^[28]等代谢物,从而影响宿主的免疫反应和肠道健康^[29]。SCFAs可能是通过影响神经递质产生,从而导致耳鸣的发生,这种间接作用有待进一步在基础实验中验证。

瘤胃球菌属同属于瘤胃球菌科,作为一种革兰阳性厌氧菌,可以通过酵解宿主消化系统中的纤维素、葡萄糖以及木糖醇等获取能量,在人体新陈代谢中发挥着至关重要的作用。作为肠道中的重要菌群,瘤胃球菌属参与生产SCFAs,这些代谢产物已知能够影响神经递质的平衡,包括抑制性神经递质GABA^[30],而GABA在小鼠实验中被证明与耳鸣相关^[31],这可能对耳鸣的发生具有调节作用。柔壁菌门和柔膜菌纲的生物学特性:柔壁菌门是一类缺乏细胞壁的原核生物,而柔膜菌纲则是柔壁菌门中的一个纲,包括多种需氧和厌氧菌种^[32-33]。这些微生物在宿主体内的分布和功能可能与它们的适应性和与宿主相互作用有关,这些菌群可能在肠道中引起或加剧炎症反应,进而通过肠-脑轴影响中枢神经系统^[34]。它们可能影响神经递质的代谢,包括与耳鸣相关的递质,如多巴胺、GABA。这些改变都可能成为耳鸣潜在的调节因素。

脱硫弧菌属是一类革兰阴性菌,它们在自然界中参与硫酸盐还原,产生硫化氢(H₂S)。H₂S是一种

气体信号分子,但在高浓度下可能具有毒性^[35]。MR分析显示,脱硫弧菌属的丰度升高可能与耳鸣风险增加有关。这可能与该属细菌产生的 H_2S 有关, H_2S 已知可以穿透血脑屏障,影响神经系统功能。根据本研究结果,我们可以深入探究脱硫弧菌科降低耳鸣潜在发生风险的保护机制,探索新的干预或治疗措施(如增加益生菌或粪便微生物群移植等)^[36],这可能成为一种新的有效预防或治疗耳鸣的临床策略。

本研究采用MR方法,通过利用基因变异作为IVs,减少了混杂因素和反向因果关系的影响,从而提供了更为可靠的因果推断。这一方法学优势使得本研究结果具有较高的可信度。然而,本研究也存在一些局限性:首先,耳鸣的发病机制复杂,涉及多种因素,仅通过肠道菌群的变化难以全面解释其发病机制;其次,肠道菌群的丰度受到多种因素影响,包括饮食、生活方式和药物使用等,这些因素在本研究中未能完全控制;再次,本研究数据集主要来自于欧洲人种,对亚洲人种可能不具有普适性。此外,由于本研究使用的是基于基因变异的IVs,其解释力可能受到基因环境交互作用的限制。本研究亦未对多重检验进行校正。所有统计数据均为双侧分析,显著性水平为0.05。

综上所述,本研究通过分析肠道微生物群与耳鸣之间的因果关系,发现7种特定菌群与耳鸣发病风险相关。这些发现为理解耳鸣的病理机制提供了新的见解,并为开发新的治疗策略提供了潜在的靶点。通过调节肠道菌群,可能为耳鸣患者提供新的治疗选择。

参考文献:

- [1] MEGANTARA I, WIKARGANA G L, DEWI Y A, et al. The role of gut dysbiosis in the pathophysiology of tinnitus: a literature review[J]. The international tinnitus journal, 2022,26(1):27-41.
- [2] DOI M Y, DIAS A C M, POLY-FREDERICO R C, et al. Association between polymorphism of interleukin-6 in the region -174G/C and tinnitus in the elderly with a history of occupational noise exposure[J]. Noise health, 2015, 17(79):406-410.
- [3] ATARASHI K, TANOUE T, OSHIMA K, et al. Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota[J]. Nature, 2013, 500(7461):232-236.
- [4] RINNINELLA E, RAOUL P, CINTONI M, et al. What is the healthy gut microbiota composition? a changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases[J]. Microorganisms, 2019,7(1):14.
- [5] RIZZATTI G, LOPETUSO L R, GIBIINO G, et al. Proteobacteria: a common factor in human diseases[J]. BioMed research international, 2017,2017:9351507.
- [6] LI Z C, FANG B X, YUAN L X, et al. Analysis of studies in tinnitus-related gene research[J]. Noise health, 2021, 23(111):95-107.
- [7] SHULMAN A, WANG W, LUO H, et al. Neuroinflammation and tinnitus[J]. Current topics in behavioral neurosciences, 2021,51:161-174.
- [8] WANG W, ZHANG L S, ZINSMAIER A K, et al. Neuroinflammation mediates noise-induced synaptic imbalance and tinnitus in rodent models[J]. Plos biology, 2019,17(6): e3000307.
- [9] HWANG J H, CHEN J C, YANG S Y, et al. Expression of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta genes in the cochlea and inferior colliculus in salicylate-induced tinnitus[J]. Journal of neuroinflammation, 2011,8:30.
- [10] KUJAWA S G, LIBERMAN M C. Synaptopathy in the noise-exposed and aging cochlea: Primary neural degeneration in acquired sensorineural hearing loss[J]. Hearing research, 2015,330(Pt B):191-199.
- [11] WU C, STEFANESCU R A, MARTEL D T, et al. Tinnitus: maladaptive auditory-somatosensory plasticity[J]. Hearing research, 2016,334:20-29.
- [12] HWANG J H, CHEN J C, CHAN Y C. Effects of C-phyco-cyanin and Spirulina on salicylate-induced tinnitus, expression of NMDA receptor and inflammatory genes[J]. Plos one, 2013,8(3):e58215.
- [13] SZCZEPEK A J, HAUPT H, KLAPP B F, et al. Biological correlates of tinnitus-related distress: an exploratory study[J]. Hearing research, 2014,318:23-30.
- [14] MARCHIORI L, DIAS A, GONCALVES A S, et al. Association between polymorphism of tumor necrosis factor alpha (tnfalpha) in the region -308 g/a with tinnitus in the elderly with a history of occupational noise exposure[J]. Noise health, 2018,20(93):37-41.
- [15] MARCHIORI L, DOI M Y, MARCHIORI G M, et al. Interleukin-1 alpha gene polymorphism (IL-1alpha) and susceptibility to tinnitus in the elderly[J]. Noise health, 2019, 21(99):77-82.
- [16] SEDLEY W, PARIKH J, EDDEN R A E, et al. Human auditory cortex neurochemistry reflects the presence and severity of tinnitus[J]. The journal of neuroscience: the official journal of the society for neuroscience, 2015, 35(44): 14822-14828.
- [17] DURANTI S, RUIZ L, LUGLI G A, et al. Bifidobacterium adolescentis as a key member of the human gut microbiota in the production of GABA[J]. Scientific reports, 2020,10(1):14112.
- [18] ULLAH H, ARBAB S, TIAN Y, et al. The gut microbiota-

- brain axis in neurological disorder[J]. *Frontiers in neural circuits*, 2023,17:1225875.
- [19] YADAV H, JALDHI, BHARDWAJ R, et al. Unveiling the role of gut-brain axis in regulating neurodegenerative diseases: a comprehensive review[J]. *Life sciences*, 2023, 330:122022.
- [20] STRANDWITZ P, KIM K H, TEREKHOVA D, et al. GABA-modulating bacteria of the human gut microbiota[J]. *Nature microbiology*, 2019,4(3):396-403.
- [21] SHORE S E, ROBERTS L E, LANGGUTH B. Maladaptive plasticity in tinnitus--triggers, mechanisms and treatment[J]. *Neurology*, 2016,12(3):150-160.
- [22] SANNA S, VAN ZUYDAM N R, MAHAJAN A, et al. Causal relationships among the gut microbiome, short-chain fatty acids and metabolic diseases[J]. *Nature genetics*, 2019,51(4):600-605.
- [23] XU Q, NI J J, HAN B X, et al. Causal relationship between gut microbiota and autoimmune diseases: a two-sample mendelian randomization study[J]. *Frontiers in immunology* 2021,12:746998.
- [24] INAMO J. Non-causal association of gut microbiome on the risk of rheumatoid arthritis: a Mendelian randomisation study[J]. *Annals of the rheumatic diseases*, 2021, 80(7):e103.
- [25] CANYELLES M, BORRAS C, ROTLLAN N, et al. Gut microbiota-derived tmao: a causal factor promoting atherosclerotic cardiovascular disease?[J]. *International journal of molecular sciences*, 2023,24(3):1940.
- [26] KURILSHIKOV A, MEDINA-GOMEZ C, BACIGALUPE R, et al. Large-scale association analyses identify host factors influencing human gut microbiome composition[J]. *Nature genetics*, 2021,53(2):156-165.
- [27] LI P, WANG H, GUO L, et al. Association between gut microbiota and preeclampsia-eclampsia: a two-sample mendelian randomization study[J]. *BMC medicine*, 2022, 20(1):443.
- [28] LIN C, CHEN C, CHIANG H, et al. Altered gut microbiota and inflammatory cytokine responses in patients with Parkinson's disease[J]. *Journal of neuroinflammation*, 2019,16(1):129.
- [29] CANDELIERE F, MUSMECI E, AMARETTI A, et al. Profiling of the intestinal community of Clostridia: taxonomy and evolutionary analysis.[J]. *Microbiome research reports*, 2023,2(2):13.
- [30] EICHER T P, MOHAJERI M H. Overlapping mechanisms of action of brain-active bacteria and bacterial metabolites in the pathogenesis of common brain diseases[J]. *Nutrients*, 2022,14(13):2661.
- [31] UMEMURA M, HONDA A, YAMASHITA M, et al. High-fat diet modulates bile acid composition and gut microbiota, affecting severe cholangitis and cirrhotic change in murine primary biliary cholangitis.[J]. *Journal of autoimmunity*, 2024,148:103287.
- [32] BHATTACHARJEE D, FLORES C, WOELFEL-MON-SIVAI S, et al. Diversity and prevalence of clostridium innocuum in the human gut microbiota[J]. *mSphere*, 2023, 8(1):e56922.
- [33] LOPETUSO L R, SCALDAFERRI F, PETITO V, et al. Commensal clostridia: leading players in the maintenance of gut homeostasis[J]. *Gut pathogens*, 2013,5(1):23.
- [34] COBO F, PÉREZ-CARRASCO V, TARRIÑO-LEÓN M, et al. Bacteremia due to Clostridium innocuum: Analysis of four cases and literature review[J]. *Anaerobe*, 2023, 83: 102771.
- [35] RYBNIKOVA E. Brain, antibiotics, and microbiota - how do they interplay?: an editorial for 'antibiotics-induced modulation of large intestinal microbiota altered aromatic amino acid profile and expression of neurotransmitters in the hypothalamus of piglets' on page 219[J]. *Journal of neurochemistry*, 2018,146(3):208-210.
- [36] GODUR D A, DENTON A J, ESHRAGHI N, et al. Modulation of gut microbiome as a therapeutic modality for auditory disorders[J]. *Audiology research*, 2023,13(5): 741-752.
- 本文引用格式:
梁茵菲,周靖诗,张姝琪,等.基于孟德尔随机化的肠道菌群与耳鸣之间的因果关系[J]. *广西医科大学学报*, 2024, 41(10): 1390-1397. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.10.012
- LIANG Y F, ZHOU J S, ZHANG S Q, et al. The causal relationship between gut microbiota and tinnitus based on Mendelian randomization[J]. *Journal of Guangxi medical university*, 2024,41(10): 1390-1397. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.10.012