

促甲状腺激素与唾液微生态相关性研究*

董婷^{1,2}, 罗俊元^{1,2}, 黄正蔚^{1,2△}

1. 上海交通大学医学院附属第九人民医院 牙体牙髓科(上海 200011);
2. 上海市口腔医学研究所 国家口腔疾病临床研究中心(上海 200011)

【摘要】目的 探讨健康人群唾液微生态组成与其促甲状腺激素(TSH)水平之间的关系。**方法** 将纳入的健康人群根据TSH水平分为TSH高组($n=22$, TSH 3.00~4.20 mIU/L)和TSH低组($n=24$, TSH 0.60~1.80 mIU/L),通过临床和实验室检查对相关的临床和生化指标进行测量分析,并分别对两类人群的唾液样本进行16S rDNA测序和生物信息学分析。**结果** TSH高组和TSH低组的相关临床和生化指标差异并无统计学意义($P>0.05$),TSH水平较高的个体的唾液微生物组具有较高的丰度和物种多样性。偏最小二乘判别分析(PLS-DA)显示TSH高组和TSH低组的唾液微生态组β多样性的差异(Adonis, $P=0.0460$)。Wilcoxon秩和检验和LEFSe分析发现梭杆菌属的丰度在TSH高组和TSH低组间的差异有统计学意义。**结论** 健康人群中高TSH和低TSH水平受试者存在不同的唾液微生态组成,其中梭杆菌属在TSH高组和TSH低组中差异最为显著。

【关键词】 促甲状腺激素 口腔微生态 16S rDNA测序

Correlational Study of Thyroid-Stimulating Hormone and Salivary Microecology DONG Ting^{1,2}, LUO Jun-yuan^{1,2}, HUANG Zheng-wei^{1,2△}. 1. Department of Endodontics, Shanghai Ninth People's Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200011, China; 2. Shanghai Research Institute of Stomatology and State Clinical Research Center for Oral Diseases, Shanghai 200011, China

△ Corresponding author, E-mail: huangzhengwei@shsmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate the relationship between the composition of salivary microecology and thyroid-stimulating hormone (TSH) levels in healthy adults. **Methods** Healthy subjects were included in the high-TSH group ($n=22$, 3.00-4.20 mIU/L) and the low-TSH group ($n=24$, 0.60-1.80 mIU/L) according to their TSH level. Clinical and laboratory examinations were conducted to measure and analyze the relevant clinical and biochemical indicators. Saliva samples were collected in the two groups and microbial genetic profiles were acquired by 16S rDNA sequencing and bioinformatics analysis. **Results** There was no significant difference in the relevant clinical and biochemical indicators between the high-TSH group and the low-TSH group ($P>0.05$). Individuals with higher TSH levels had higher abundance and species diversity of salivary microbiome. Partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) found that the microecology of the the high-TSH group and the low-TSH group (Adonis, $P=0.0460$) showed obvious differences in β diversity. Wilcoxon rank-sum test and LEFSe analysis showed significant difference in the abundance of *Fusobacterium* between the high-TSH group and the low-TSH group. **Conclusion** Differences in the composition of microecology were observed in the saliva of healthy subjects with high TSH levels and those with low TSH levels, and the abundance of *Fusobacterium* showed the most significant difference between the high and low TSH groups.

【Key words】 Thyroid-stimulating hormone (TSH) Oral microecology 16S rDNA sequencing

促甲状腺激素(thyroid-stimulating hormone, TSH)是脑垂体前叶响应机体甲状腺激素水平而反馈分泌的一种调节性激素,通过其特异性受体刺激甲状腺滤泡细胞的生长和功能,调节甲状腺激素的合成和分泌。近年来,各种甲状腺机能减退疾病已经成为了临床常见病,全球发病率已经上升至4%~10%^[1],相关研究表明,血清TSH水平升高可能导致器官损伤和代谢紊乱^[2],TSH已经成为现阶段的研究热点之一。

口腔微生态是在人类口腔内定植的各种微生物及其

所处环境的集合,是机体生态系统重要的组成部分之一,在调节营养吸收、物质代谢和免疫反应方面发挥着关键作用^[3]。大量研究表明,不仅口腔疾病会导致口腔微生物组成发生明显变化,这一系列的改变也常见于各种胃肠道疾病、内分泌疾病和心血管疾病等系统性疾病^[3-4]。此外,口腔微生态失衡也被证实与各种代谢失调,如糖尿病、脂代谢异常和肥胖等相关^[5-6]。

已有文献报道肠道微生态与甲状腺功能减退疾病和TSH水平具有一定相关性。SU等^[7]发现甲状腺功能减退患者的肠道菌群 α 和 β 多样性与健康人群存在显著差异。YAO等^[8]发现轻度甲状腺功能减退患者接受L-甲状腺素

* 国家自然科学基金(No. 82071104)资助

△ 通信作者, E-mail: huangzhengwei@shsmu.edu.cn

治疗后,其肠道微生物组成会随治疗剂量的增加而改变。肠道微生态组成可能受到TSH水平的影响,然而关于口腔微生态与TSH相关性的研究目前还较为匮乏。

本课题组前期通过唾液样本16S rDNA测序发现TSH异常高水平的亚临床甲状腺功能减退人群相较于正常人群,唾液微生物组成发生了明显变化^[9]。但对于广大健康人群,排除疾病的干扰,TSH水平的变化对口腔微生态的影响尚无相关研究。因此本研究于健康普查人群中根据正常TSH水平三分位进行分组,采用16S rDNA测序和生物信息学分析,研究在不同血清TSH水平下唾液微生态组成的变化,对口腔微生态与TSH水平的关系进行进一步研究分析。

1 材料和方法

1.1 研究对象

从健康普查人群中纳入研究对象,纳入标准如下:①汉族;②同一地区生活5年以上;③甲状腺功能正常;④近3个月未作碘造影剂检查或服用胺碘酮。排除标准如下:①患有未经治疗的口腔脓肿、癌前病变及口腔癌、口腔真菌感染、缺牙8颗以上等口腔疾病;②有肝病、心血管疾病等系统性疾病;③癌症或癌症史;④其他慢性炎症性疾病;⑤糖尿病;⑥长期大量吸烟、酗酒;⑦最近6个月内服用抗生素5 d以上;⑧孕妇、哺乳期妇女。本研究已获得了上海交通大学附属第九人民医院伦理审查委员会(2019-T295-1)的批准。

1.2 分组及临床检查

将纳入的受试者按TSH正常范围三分位进行分组取TSH低组($n=24$, 0.60~1.80 mIU/L)和TSH高组($n=22$, 3.00~4.20 mIU/L)进行研究。所有受试者均被要求在临床和生化检查前禁食一晚。临床检查指标包括身高、体质指数(body mass index, BMI)、腰围、臀围和血压,并收集问卷以获取人口学信息。随后采集空腹血样进行生化检查,相关指标包括:TSH、三碘甲状腺原氨酸(triiodothyronine, T3)、四碘甲状腺原氨酸(tetraiodothyronine, T4)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、总三酰甘油(total triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、尿酸(uric acid, UA)、空腹血糖(fasting blood-glucose, FBG)、空腹血清胰岛素(fasting serum insulin, FSI)、糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, HbA1C)和胰岛素抵抗指数(homeostatic model assessment of insulin resistance, HOMA-IR)。其中HOMA-IR按以下公式计

算: $HOMA-IR = FBG \times FSI / 22.5^{[10]}$ 。式中,FBG以mmol/L为单位,FSI以mU/L为单位。

1.3 唾液样本采集

在上午进食前(上午8~10点)对受试者采集非刺激性唾液,方法参见《人类微生物组项目程序手册》(https://www.hmpdacc.org/hmp/doc/HMP_MOP_Version_12_0_072910.pdf)。受试者被要求在收集前至少1 h内避免饮酒、吸烟或刷牙。唾液样本采集于试管中,保存在-80 °C,直至进行后续分析。

1.4 DNA提取、扩增和高通量序列

根据制造商说明,使用QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Valencia, CA, USA)提取细菌总DNA。采用NanoDrop 2000紫外-可见分光光度计(Thermo Scientific, Wilmington, DE, USA)和1%琼脂糖凝胶电泳对DNA进行定量,并使用以下引物扩增16S rRNA基因的V3~V4区:338F正向引物(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAGAC-3')和806R反向引物(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')。使用Illumina Miseq PE300平台(Illumina, San Diego, USA)按照标准协议对纯化的扩增子进行测序。

1.5 数据处理和生物信息学分析

过滤reads尾部质量值20以下的碱基并过滤质控后50 bp以下的reads,去除含N碱基的reads。根据PE reads之间的overlap关系,将成对reads拼接成一条序列,最小overlap长度为10 bp,overlap区允许的最大错配比率为0.2,筛选不符合序列。根据序列首尾两端的barcode和引物区分样品,并调整序列方向,barcode允许的错配数为0,最大引物错配数为2,得到总序列数2 450 394,平均序列长度422.488。使用UPARSE(版本7.1, <http://drive5.com/uparse>)以97%的相似性聚类操作分类单元(operational taxonomic units, OTU),并与数据库SILVA(版本106, <https://www.arb-silva.de>)联用进行分类分析。利用MOTHUR(版本1.30.2, https://www.mothur.org/wiki/Download_mothur)计算alpha多样性指数(Chao和Simpson)和每组丰度前50菌属的共现网络。利用R平台(版本3.6.1)建立群落棒图分析和热图以描述不同分组的物种组成。采用加权UniFrac主坐标分析principal coordinate analysis(PCoA)和偏最小二乘判别分析partial least squares discriminant analysis(PLS-DA)评估样本群落组成差异。采用线性判别分析差异大小linear discriminant analysis effect size(LEfSe, <http://huttenhower.sph.harvard.edu/galaxy>)确定从门水平到属水平的组间差异菌。采用未加权的UniFrac距离冗余分析(distance-based redundancy analysis, db-RDA)和Spearman相关系数定量

评价临床因素与样本物种组成之间的多重共线性关系。

2 结果

2.1 受试者临床生化指标及唾液微生物测序结果

在TSH水平正常的受试者中, TSH低组和TSH高组之间除TSH水平外, 其他临床和生化指标差异均无统计学意义($P > 0.05$, 表1)。通过对TSH低组和TSH高组唾液微生物基因序列的分类, 共鉴定出20门、35纲、77目、128科、263属、527种口腔微生物和1 024个OTU。

表 1 受试者的临床和生化指标结果
Table 1 Clinical and biochemical results of subjects

Variable	Low-TSH group (n=24)	High-TSH group (n=22)	P
Age/yr.	52.42±3.87	53.14±5.56	0.6102
(Male/female)/case	10/14	10/12	0.7957
TSH/(mIU/L)	1.52±0.24	3.54±0.36	<0.0001
T3/(nmol/L)	1.75±0.27	1.76±0.19	0.9353
T4/(nmol/L)	110.00±16.23	103.20±13.54	0.1354
TPOAb/(IU/mL)	21.11±12.44	34.90±53.64	0.2272
TC/(mmol/L)	5.70±0.97	5.73±0.91	0.9097
TG/(mmol/L)	1.62±1.08	1.57±0.72	0.8542
LDL-C/(mmol/L)	3.39±0.71	3.44±0.58	0.7913
HDL-C/(mmol/L)	1.33±0.32	1.35±0.34	0.8009
GGT/(U/L)	21.79±13.59	31.50±23.22	0.0874
FPG/(mmol/L)	5.04±0.54	5.22±0.82	0.3642
FSI/(mU/L)	4.92±2.45	4.78±2.00	0.8363
HOMA-IR	1.10±0.56	1.13±0.53	0.8541
HbA1C/%	5.39±0.34	5.34±0.54	0.6987
UA/(μmol/L)	337.20±114.00	309.10±81.82	0.3465
Height/cm	160.90±8.44	162.40±9.14	0.5734
BMI/(kg/m ²)	23.29±2.74	23.81±2.43	0.4994
NC/cm	35.55±3.11	36.34±3.98	0.4567
WC/cm	81.33±8.92	82.09±4.85	0.7754
HC/cm	95.76±5.47	95.20±4.85	0.7147
SBP/mmHg	139.50±22.50	131.00±16.83	0.1527
DBP/mmHg	84.21±10.70	81.64±12.70	0.4602

TSH: Thyroid-stimulating hormone; T3: Triiodothyronine; T4: Tetraiodothyronine; TPOAb: Thyroid peroxidase antibody; TC: Total cholesterol; TG: Total triglycerides; LDL-C: Low-density lipoprotein cholesterol; HDL-C: High-density lipoprotein cholesterol; GGT: Gamma-glutamyl transpeptidase; FPG: Fasting plasma glucose; FSI: Fasting serum insulin; HOMA-IR: Homeostatic model assessment of insulin resistance; HbA1C: Hemoglobin A1; UA: Uric acid; BMI: Body mass index; NC: Neck circumference; WC: Waist circumference; HC: Hip circumference; SBP: Systolic blood pressure; DBP: Diastolic blood pressure.

2.2 唾液微生物群落结构及物种组成情况

TSH高组的群落丰富度显著高于TSH低组($P < 0.05$, 图1A), 高组的Simpson指数在OUT水平上也较高。两组丰度最高的群落种属表现相似, 厚壁菌门(*Firmicutes*)、

拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、梭杆菌门(*Fusobacteria*)、糖细菌(*Saccharibacteria*)和螺旋体(*Spirochaetes*)等微生物分别占两组唾液样本总门的97%以上(图1B)。热图显示了TSH高组和TSH低组中前50个丰富属的丰度(图1C)。PCoA显示两组样本呈现一定的分离, 采用Adonis进行组间差异检验显示两组β多样性具有显著差异($P < 0.05$, 图2A)。PLS-DA分析表明TSH高组和TSH低组在COMP1轴上表现出分离的趋势, 提示两组的微生物群落组成存在差异(图2B)。TSH高组和TSH低组唾液微生物群落中前50个丰富属的共生网络也表现出略微不同的群落结构, 但都以拟杆菌门和厚壁菌门为主, TSH低组中心区网络更为紧密(图2C、2D), 且细菌之间的拮抗作用更为复杂。

2.3 与血清TSH水平相关的唾液微生物种群的变化

根据获得的群落丰度数据, 采用Wilcoxon秩和检验评估物种丰度差异的显著性水平, 在属水平上得到组间方差显著的物种。梭杆菌属(*Fusobacterium*)的丰度在TSH高组明显高于TSH低组(图3A)。进一步利用LEfSe(对数LDA评分>2.0)鉴定出, 科水平的梭杆菌科(*Fusobacteriaceae*)和拟杆菌门BS11群(*Bacteroidales* BS11 gut group)以及属水平的梭杆菌属、约翰森菌属(*Johnsonella*)、未识别的*f*紫单胞菌科(*norank f Porphyromonadaceae*)在TSH高组唾液微生物组具有显著性更高的丰度(图3B、3C)。

2.4 唾液微生物组成与临床生化指标的相关性

使用db-RDA分析唾液微生物组和临床变量之间的关系, 红色箭头表示临床变量, 箭头的长度可以表示临床变量对物种数据的影响(解释)程度。结果显示除甲状腺激素相关指标外, 两组人群唾液微生物组成的差异仍主要与糖代谢指标(FSI, HOMA-IR)和脂代谢指标(LDL-C, TC)等相关(图4A)。从Spearman相关系数分析可以看出梭杆菌属与TSH及TPO-Ab水平呈正相关, 与T4水平负相关, 与LEfSe分析相呼应(图4B)。

3 讨论

随着人类微生物组计划的推进, 研究者更加关注人类微生物种群与系统性疾病之间的关系, 微生物与心血管疾病、糖尿病和肿瘤等疾病的相关研究层出不穷^[1]。口腔微生态作为人体生态系统重要的组成部分, 更由于其独特的位置和取样优势而成为研究热点。口腔微生态在正常情况下可以保持长期的稳定性, 而许多口腔及全身疾病可能会导致口腔微生态的失调。而唾液已经成为

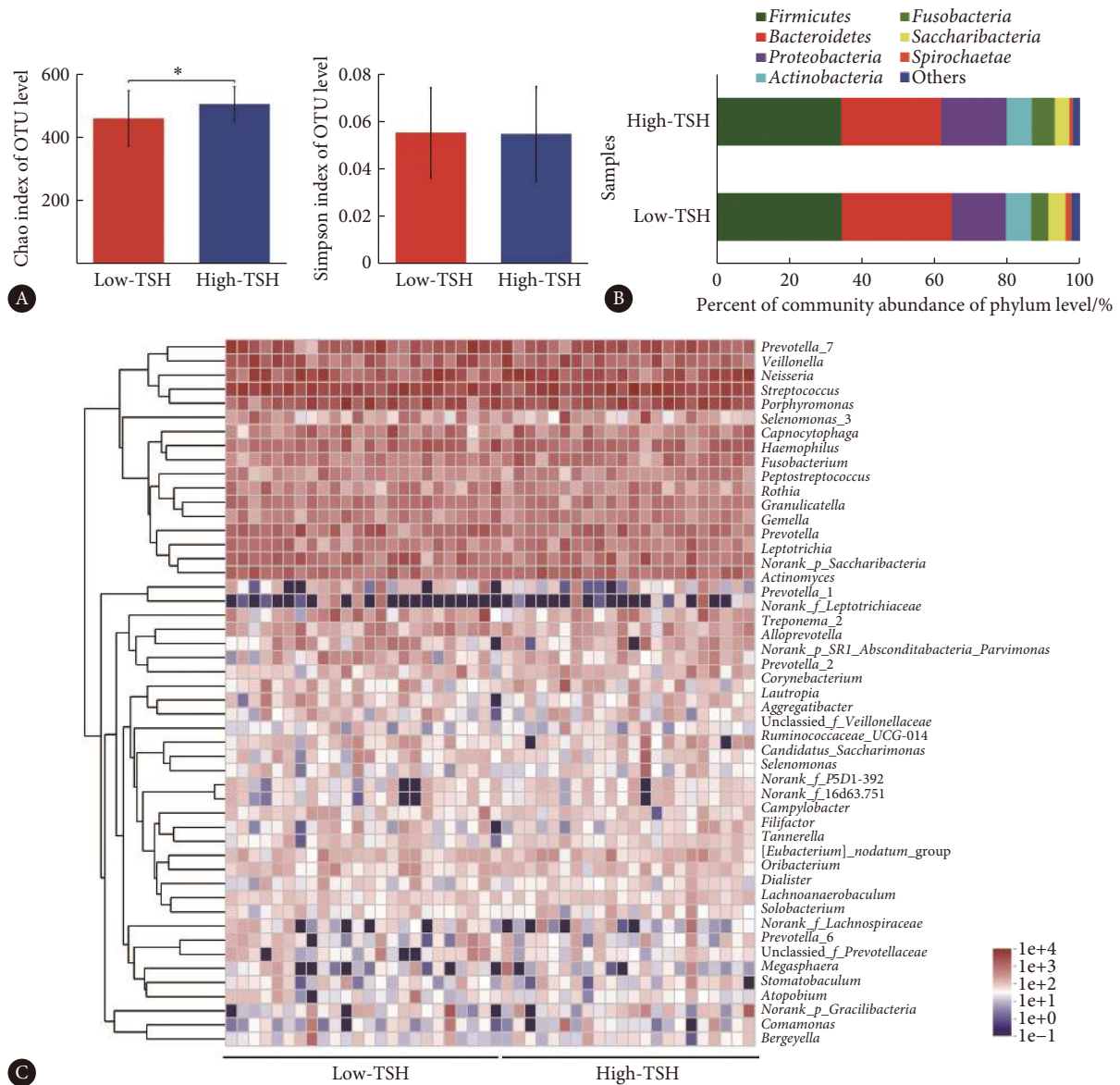


图 1 TSH低组和TSH高组唾液微生物群落的多样性和物种组成

Fig 1 Diversity and species composition of the salivary microbiota in low-TSH and high-TSH groups

A: Chao index and Simpson index of operational taxonomic unit (OTU) level (*P<0.05); B: Community bar plot analysis showing the top 10 phyla with highest abundance; C: A heatmap of the abundance of top 50 abundant genera in the two groups.

研究口腔微生态与口腔和全身疾病之间关系的重要临床样本之一。最近一项研究发现, 自闭症患者唾液微生物中罗氏菌属 (*Rothia*)、产线菌属 (*Filifactor*)、放线杆菌属 (*Actinobacillus*)、周蝶菌科 (*Weeksellaceae*)、劳尔氏菌属 (*Ralstonia*)、巴斯德氏菌科 (*Pasteurellaceae*) 和杆菌属 (*Aggregatibacter*) 的丰度增加, 而坦纳菌属 (*Tannerella*)、毛螺旋菌属 (*Moryella*) 和 TM7-3 的丰度降低^[12]。另一项研究通过对胰腺癌患者与健康对照组唾液微生物组成的比较, 发现胰腺癌患者与健康对照组唾液微生物组成存在显著差异^[13]。因此本研究选取唾液样本进行检测, 以探究口腔微生态与TSH水平之间的相关性。

微生物多样性与宿主的健康状况密切相关, 丰度的任何变化(高或低)可能打破微生物群落原有的平衡, 从而导致微生态的紊乱。例如, 患有龋病、牙周炎等口腔疾病和一些系统性疾病的患者常常出现口腔微生物群落组成的改变^[14]。在本研究中, TSH高组唾液样本微生物丰度 (Chao指数) 升高, 反映了TSH水平这一体内微环境的变化可能导致唾液微生物群落的改变。虽然两组中丰度最高的核心唾液微生物组成相似, 并与前期文献报道一致^[15], 但从共现网络判断, 两类人群的唾液微生物结构仍呈现不同的聚类模式。本研究发现两组唾液微生物的核心菌属均以拟杆菌和厚壁菌为主, 但两组微生物间的相

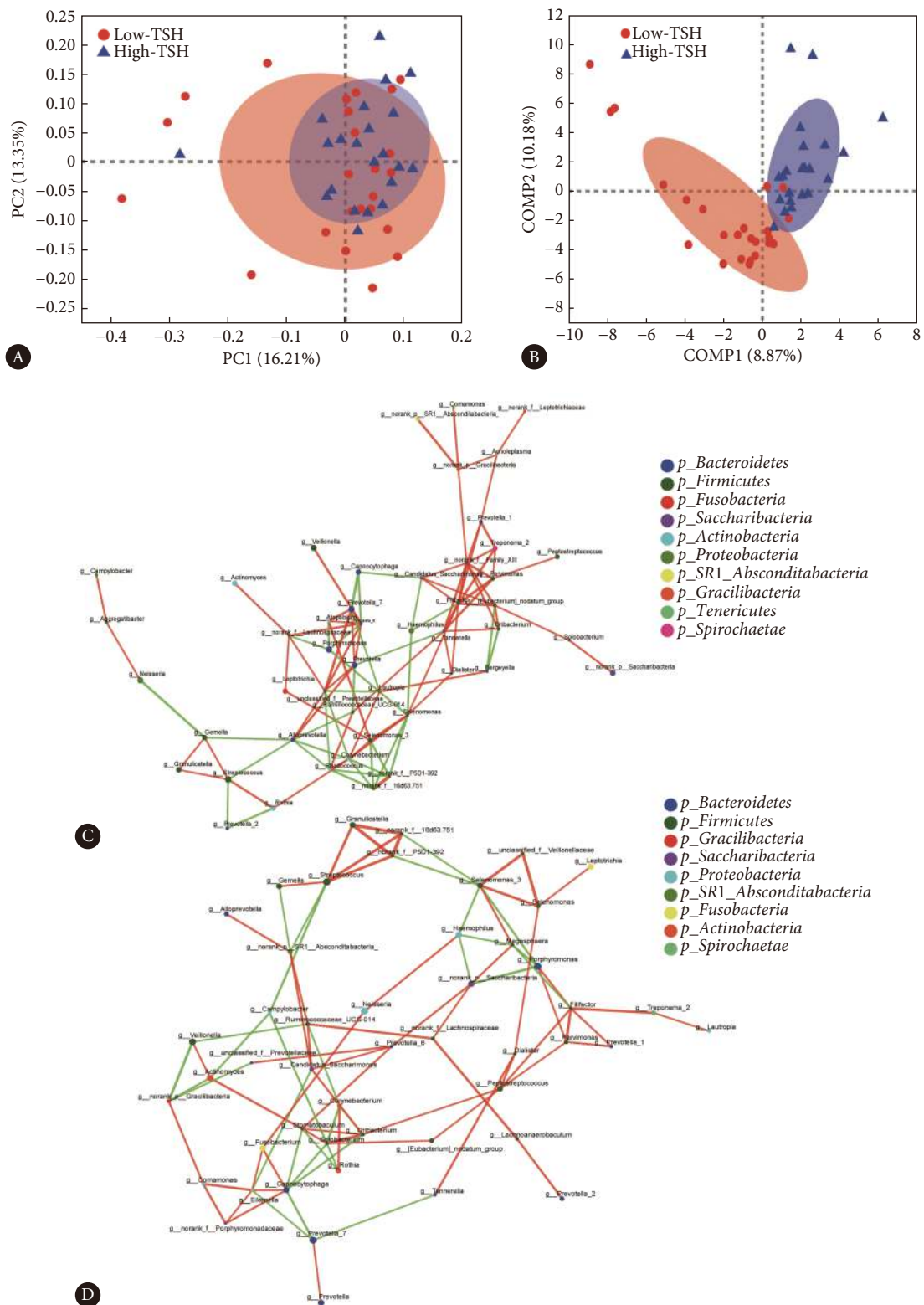


图 2 TSH低组和TSH高组的唾液微生物群落结构比较

Fig 2 Comparison of the salivary community structure of in low-TSH and high-TSH groups

A: PCoA showed separation in the horizontal coordinate axis ($R^2=0.0363$, $P=0.046$); B: PLS-DA showed visible separation in the horizontal coordinate axis; C: Co-occurrence networks of the top 50 abundant genera in low-TSH group; D: Co-occurrence networks of the top 50 abundant genera in high-TSH group. The size of the node indicates the mean relative abundance of the corresponding genus. The same color represents the genera belonging to the same phylum. The thickness of the connecting lines corresponds to the coefficient values. The red line or the green line indicates a positive or negative correlation, respectively.

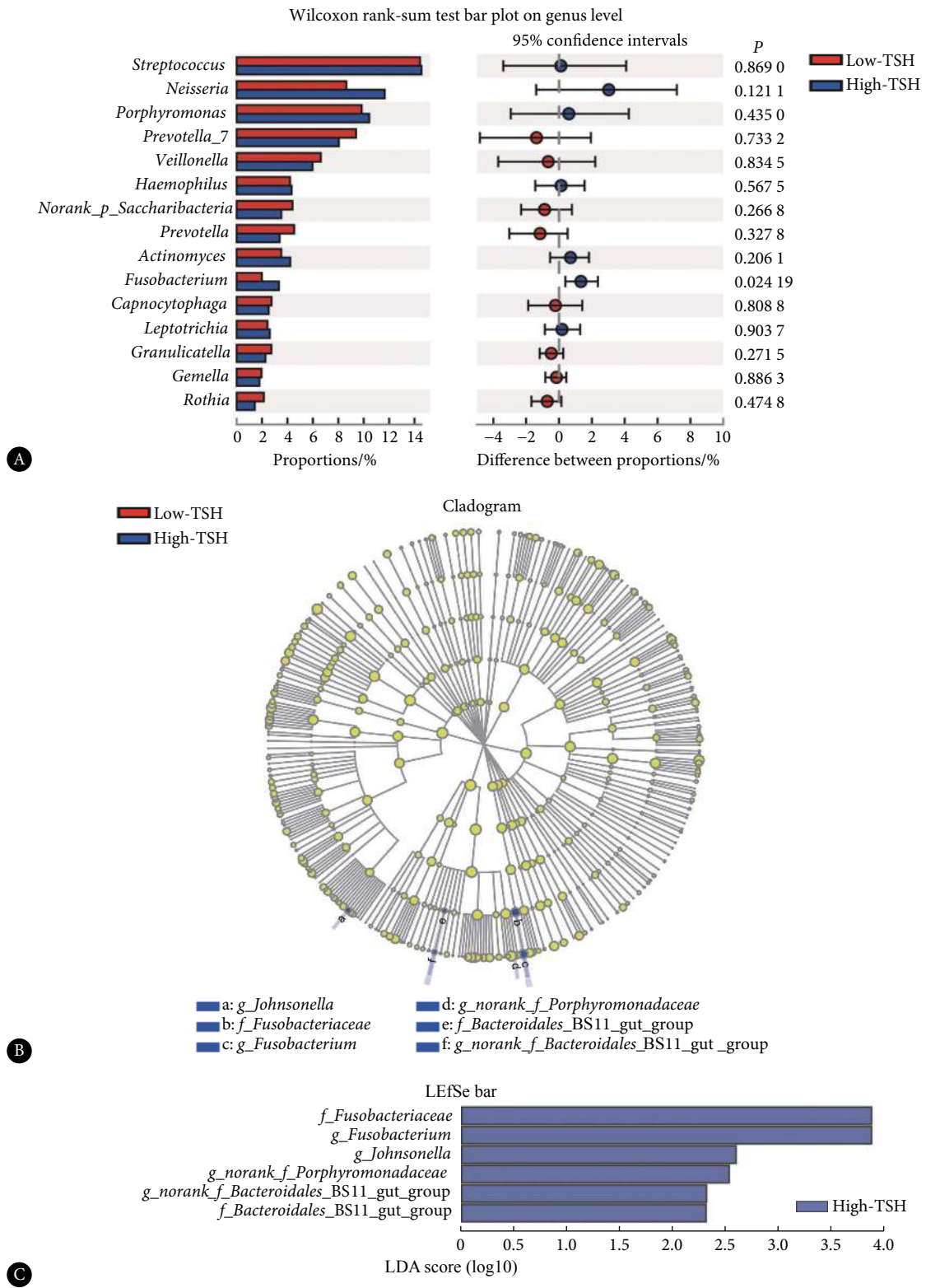


图 3 TSH低组和TSH高组的唾液微生物中具有丰度显著差异的种属

Fig 3 Discriminative species with maximum abundance difference in low-TSH and high-TSH groups

A: Discriminative species on genus level were identified using Wilcoxon rank-sum test; B: Cladogram for taxonomic representation based on LefSe. Red indicates enrichment in samples from the low-TSH group, and blue indicates the taxa enriched in samples from the high-TSH group; C: Histogram of the linear discriminant analysis (LDA) scores was calculated for the selected taxa (LDA>2.0, P<0.05).

相互作用模式并不相似。微生物间的相互作用决定了微生物生态系统的总体组成、稳定性和生物多样性^[16]。有研

究表明,物种相互作用、生物多样性和生态系统稳定性之间存在联系^[17]。然而在本研究中,两组人群唾液微生物

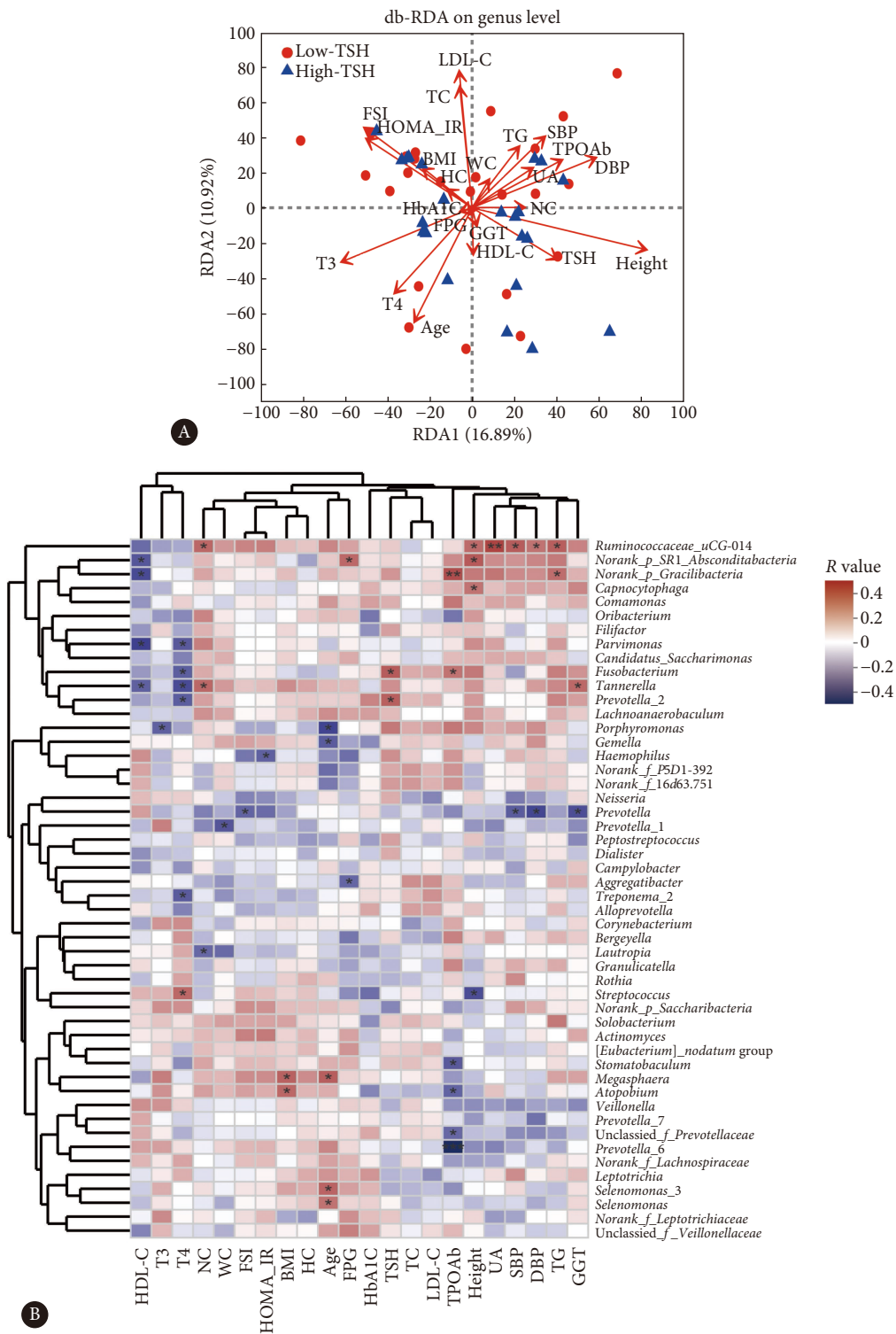


图 4 TSH低组和TSH高组的临床变量和唾液微生物组之间的关系

Fig 4 Associations between clinical variables and the salivary microbiome in low-TSH and high-TSH groups

A: RDA reflects the relationship between the salivary microbiome and clinical variables; red indicates samples from the low-TSH group, and blue indicates samples from the high-TSH group; the red arrow indicates the quantitative clinical variables, and the length of the arrow can represent the degree of influence (interpretation) of the clinical variables on the species data; the angle between the arrows represents positive and negative correlation (acute angle: positive correlation; obtuse angle: negative correlation; right angle: no correlation); B: Heatmap of Spearman correlation analysis between the top 50 abundant salivary microbiota and clinical variables. R value shows in different colors; red indicates positive correlation while blue indicates negative correlation. The darker the color is, the greater the correlation coefficient. Species clustering trees were presented on the left side of the heat map (* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001).

之间如何进行相互作用需要进一步的探索。

本研究使用LEfSe分析鉴别两组间的差异菌属发现, 在TSH低组和TSH高组的唾液微生物中, 梭杆菌属具有最高LDA得分, 是两组间最具差异的菌属。梭杆菌是革兰氏阴性厌氧杆菌, 存在于人的口腔和胃肠道等部位。梭杆菌是口腔微生物群落的重要组成部分, 已被认为是牙菌斑生物膜发育的关键桥梁细菌之一^[18]。同时, 梭杆菌长期以来被认为是一种机会致病菌, 常在包括龋病、牙周病和口腔癌等口腔感染性疾病患者的厌氧样本中分离和鉴定^[19]。此外, 梭杆菌增多也被证实与化疗诱导的口腔黏膜炎^[20]、早产^[21]和大肠癌有关^[22], 尤其是近年来通过定量PCR和16S rDNA测序结果证实聚核梭杆菌与结直肠癌高度相关^[22-23]。结合本研究的高通量测序的结果, 我们可以推测梭杆菌与健康人群TSH水平具有一定相关性。

本研究具有一定的局限性, 还需要在样本量进一步扩大的情况下验证分析结果。同时本研究着眼于健康人群, 其临床指标并无明显异常, 但从环境因子相关性分析来看, 两组人群唾液微生物组成的差异仍主要与脂质代谢相关, 与相关研究一致^[24-25]。甲状腺功能减退与葡萄糖和胰岛素代谢紊乱有关, 包括葡萄糖反应时胰岛素分泌缺陷、高胰岛素血症、外周血糖处理改变和胰岛素抵抗^[25]。研究表明TSH变化最高三分位(2.5 ~ 4.2 $\mu\text{IU/mL}$)的个体发生2型糖尿病的风险更大^[24]。大量的文献为肠道微生物群在代谢性疾病中的作用提供了证据, 梭杆菌已被证实与2型糖尿病呈正相关^[26]。口腔感染, 尤其是牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)在胰岛素抵抗的发展中起一定的作用。而本研究中发现梭杆菌属与TSH及TPO-Ab水平呈正相关。细菌代谢与功能改变和TSH水平变化及其带来的机体代谢变化之间的关系还有待进一步的研究。

本研究着眼于TSH水平在正常范围内的群体, 探讨TSH水平增高后口腔微生态是否会发生一定改变, 结合前期对TSH异常人群口腔微生态的研究, 发现血清TSH水平与口腔微生态具有相关性, 为亚临床甲状腺功能减退和显性甲状腺功能减退的早期预警提供可能。

* * *

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] UDOVICIC M, PENA R H, PATHAM B, *et al.* Hypothyroidism and the Heart. *Methodist Debakey Cardiovasc J*, 2017, 13(2): 55-59.
- [2] RUHLA S, WEICKERT M O, ARAFAT A M, *et al.* A high normal TSH is associated with the metabolic syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2010, 72(5): 696-701.
- [3] GAO L, XU T, HUANG G, *et al.* Oral microbiomes: More and more importance in oral cavity and whole body. *Protein Cell*, 2018, 9(5): 488-500.
- [4] GRAVES D T, CORRÊA J D, SILVA T A. The oral microbiota is modified by systemic diseases. *J Dent Res*, 2019, 98(2): 148-156.
- [5] MATSHA T E, PRINCE Y, DAVIDS S, *et al.* Oral microbiome signatures in diabetes mellitus and periodontal disease. *J Dent Res*, 2020, 99(6): 658-665.
- [6] SI J, LEE C, KO G. Oral microbiota: Microbial biomarkers of metabolic syndrome independent of host genetic factors. *Front Cell Infect Microbiol*, 2017, 7: 516[2020-10-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5736563/>. doi: 10.3389/fcimb.2017.00516.
- [7] SU X, ZHAO Y, LI Y, *et al.* Gut dysbiosis is associated with primary hypothyroidism with interaction on gut-thyroid axis. *Clin Sci (Lond)*, 2020, 134(12): 1521-1535.
- [8] YAO Z, ZHAO M, GONG Y, *et al.* Relation of gut microbes and L-thyroxine through altered thyroxine metabolism in subclinical hypothyroidism subjects. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10: 495[2020-11-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7531258/>. doi: 10.3389/fcimb.2020.00495.
- [9] DONG T, ZHAO F, YUAN K, *et al.* Association between serum thyroid-stimulating hormone levels and salivary microbiome shifts. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 603291[2020-12-17]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7952758/>. doi: 10.3389/fcimb.2021.603291.
- [10] MATTHEWS D R, HOSKER J P, RUDENSKI A S, *et al.* Homeostasis model assessment: Insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, 1985, 28(7): 412-419.
- [11] Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium. The integrative human microbiome project. *Nature*, 2019, 569(7758): 641-648.
- [12] RAGUSA M, SANTAGATI M, MIRABELLA F, *et al.* Potential associations among alteration of salivary miRNAs, saliva microbiome structure, and cognitive impairments in autistic children. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(17): 6203.
- [13] FARRELL J J, ZHANG L, ZHOU H, *et al.* Variations of oral microbiota are associated with pancreatic diseases including pancreatic cancer. *Gut*, 2012, 61(4): 582-588.
- [14] ZHAO F, DONG T, YUAN K Y, *et al.* Shifts in the bacterial community of supragingival plaque associated with metabolic-associated fatty liver disease. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10: 581888[2020-12-17]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7770214/>. doi: 10.3389/fcimb.2020.581888.
- [15] BHUSHAN B, YADAV A P, SINGH S B, *et al.* Diversity and functional analysis of salivary microflora of Indian Antarctic expeditionaries. *J Oral Microbiol*, 2019, 11(1): 1581513[2020-12-17]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6394331/>. doi: 10.1080/20002297.2019.1581513.
- [16] FAUST K, RAES J. Microbial interactions: From networks to models. *Nat*

- Rev Microbiol*, 2012, 10(8): 538–550.
- [17] RATZKE C, BARRERE J, GORE J. Strength of species interactions determines biodiversity and stability in microbial communities. *Nat Ecol Evol*, 2020, 4(3): 376–383.
- [18] KOLENBRANDER P E, PALMER R J, Jr, PERIASAMY S, *et al*. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. *Nat Rev Microbiol*, 2010, 8(7): 471–480.
- [19] GHOLIZADEH P, ESLAMI H, YOUSEFI M, *et al*. Role of oral microbiome on oral cancers, a review. *Biomed Pharmacother*, 2016, 84: 552–558.
- [20] HONG B Y, SOBUE T, CHOQUETTE L, *et al*. Chemotherapy-induced oral mucositis is associated with detrimental bacterial dysbiosis. *Microbiome*, 2019, 7(1): 66.
- [21] KRUSE A B, KUERSCHNER A C, KUNZE M, *et al*. Association between high risk for preterm birth and changes in gingiva parameters during pregnancy—A prospective cohort study. *Clin Oral Investig*, 2018, 22(3): 1263–1271.
- [22] BRENNAN C A, GARRETT W S. *Fusobacterium nucleatum*—Symbiont, opportunist and oncobacterium. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17(3): 156–166.
- [23] KOSTIC A D, GEVERS D, PEDAMALLU C S, *et al*. Genomic analysis identifies association of *Fusobacterium* with colorectal carcinoma. *Genome Res*, 2012, 22(2): 292–298.
- [24] JUN J E, JEE J H, BAE J C, *et al*. Association between changes in thyroid hormones and incident type 2 diabetes: A seven-year longitudinal study. *Thyroid*, 2017, 27(1): 29–38.
- [25] B U U, MN S, KM S, *et al*. Effect of insulin resistance in assessing the clinical outcome of clinical and subclinical hypothyroid patients. *J Clin Diagn Res*, 2015, 9(2): OC01-4[2020-12-17]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4378759/>. doi: 10.7860/jcdr/2015/9754.5513.
- [26] GURUNG M, LI Z, YOU H, *et al*. Role of gut microbiota in type 2 diabetes pathophysiology. *EBioMedicine*, 2020, 51: 102590[2020-12-17]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6948163/>. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.11.051.

(2021 – 10 – 10收稿, 2022 – 02 – 04修回)

编辑 汤 洁