

SPF 级雄性 SD 大鼠回肠与结肠菌群结构比较分析

许 琴¹, 倪 艳^{1,2}, 是文辉¹, 李建璞¹, 刘江伟¹, 赵红琼², 徐新明³

(1. 新疆军区总医院, 新疆特殊环境医学重点实验室, 乌鲁木齐 830000; 2. 新疆农业大学动物医学学院, 乌鲁木齐 830052; 3. 新疆畜牧科学院生物技术研究, 乌鲁木齐 830000)

[摘要] **目的** 使用高通量测序技术分析 SPF 级雄性 SD 大鼠回肠与结肠菌群结构与丰度。**方法** 收集 30 只 SPF 级雄性 SD 大鼠的回肠及结肠腔内容物, 提取内容物中细菌总 DNA 并进行 PCR 扩增。使用 Illumina NovaSeq 测序平台对样本中细菌 16S rRNA 的 V3-V4 区进行测序。然后基于有效数据在门、属水平上分析肠道菌群的物种结构和丰度, 采用 QIIME 软件 (扩增子) 分析工具分析回肠和结肠菌群的多样性及差异, 同时应用 Tax4Fun 程序预测回肠及结肠菌群的优势基因富集通路。**结果** 在门水平上, 雄性 SD 大鼠回肠内微生物优势菌群主要是厚壁菌门 (Firmicutes) 和放线菌门 (Actinobacteria), 占比超过 98%; 结肠内微生物优势菌群主要是厚壁菌门 (Firmicutes) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes), 占比超过 95%。在属水平上, 回肠以乳酸杆菌属 (*Lactobacillus*) 和另枝菌属 (*Alistipes*) 为主要优势菌群, 结肠以乳酸杆菌属 (*Lactobacillus*) 及罗姆布茨菌属 (*Romboutsia*) 为优势菌群。在菌群多样性方面, 结肠菌群的 α 多样性包括丰富度指数 (Chao1 指数) 及多样性指数 (香农指数 Shannon index) 都显著高于回肠 ($P < 0.01$), 其菌群物种的组成结构差异性比回肠小; 回肠菌群结构差异性显著的主要是厚壁菌门 (Firmicutes)、罗姆布茨菌属 (*Romboutsia*) 和消化链球菌科 (Peptostreptococcaceae), 而结肠菌群结构差异性显著的是拟杆菌门 (Bacteroidetes)、拟杆菌纲 (Bacteroidia) 和拟杆菌目 (Bacteroidales)。在菌群功能方面, 回肠菌群优势基因显著富集于类脂物代谢、多酮代谢、膜运输、生物降解等通路, 而结肠菌群优势基因显著富集于甘聚糖生物合成代谢、能量代谢、辅助因子和维生素及其他产物的生物合成等通路。**结论** SPF 级雄性 SD 大鼠回肠与结肠菌群在结构与丰度上存在显著差异, 结肠菌群的丰富度及多样性高于回肠。

[关键词] 肠道菌群; 菌群丰度; 回肠; 结肠; SD 大鼠

[中图分类号] Q95-33; R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2023)01-0053-08



Analysis on Ileum and Colon Microflora of SPF Male SD Rats based on High-throughput Sequencing

XU Qin¹, NI Yan^{1,2}, SHI Wenhui¹, LI Jianying¹, LIU Jiangwei¹, ZHAO Hongqiong², XU Xinming³

(1. General Hospital of Xinjiang Military Districts, Key Laboratory of Special Environmental Medicines of Xinjiang, Urumqi 830000, China; 2. Veterinary Medicine College of Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China; 3. Biotechnology Research Institute of Xinjiang Animal Husbandry Sciences Academy, Urumqi 830000, China)

Correspondence to: XU Xinming (ORCID: 000-0002-7247-2774), E-mail: xuxinmingcool@163.com

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the microflora structure and abundance of ileum and colon of SPF male SD rats by high-throughput sequencing technique. **Methods** The ileal and colonic lumen contents of 30 SPF male SD rats were collected, the total bacterial DNA in the contents was extracted and amplified by PCR. The V3-V4 region of bacterial 16S rRNA in the samples was sequenced using Illumina NovaSeq sequencing platform. Then the species structure and abundance of the intestinal flora were analyzed at the phylum and genus level based on validated data. The diversity and differences between ileal and colonic flora were analyzed using the QIIME software (amplicon) analysis tool. The Tax4Fun program was applied to predict the dominant gene enrichment pathways of ileal and colonic flora. **Results** At the phylum level,

[基金项目] 全军实验动物专项科研课题“高原缺氧寒冷应激环境功能性肠病动物模型制作及干预”(SYDW[2018]10)

[第一作者] 许 琴 (1974—), 女, 博士, 研究方向: 人类疾病动物模型制作及特殊环境医学病理生理学。E-mail: xuqin740831@163.com;

倪 艳 (1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 基础兽医学。E-mail: 2460548072@qq.com

[通信作者] 徐新明 (1973—), 男, 副研究员, 研究方向: 动物遗传育种, 动物科学生物技术研究。E-mail: xuxinmingcool@163.com。ORCID: 000-0002-7247-2774

the dominant microflora in the ileum of male SD rats were Firmicutes and Actinobacteria, accounting for more than 98%. The dominant colonic microbial community were mainly Firmicutes and Bacteroidetes, accounting for more than 95%. At the genus level, *Lactobacillus* and *Alistipes* were the predominant bacteria in the ileum. The colon was dominated by *Lactobacillus* and *Romboutsia*. In terms of flora diversity, the alpha diversity of colonic flora including richness index (Chao1 index) and diversity index (Shannon index) were significantly higher than those of ileum ($P < 0.01$), and the structural variability of the composition of its flora species was smaller than that of ileum; the ileal flora with significant structural variability were mainly of the phylum Firmicutes, *Romboutsia*, Peptostreptococcaceae, while the colonic flora had significant structural differences in Bacteroidales. In terms of flora function, the ileal flora dominant genes were significantly enriched in lipid-like metabolism, polyketide metabolism, membrane transport, biodegradation and other pathways, while the colonic flora dominant genes were significantly enriched in glycan biosynthesis metabolism, energy metabolism, biosynthesis of cofactor and vitamins and other products, and other pathways. **Conclusion** There are significant differences in structure and abundance between the ileal and colonic flora of SPF male SD rats, and the abundance and diversity of colonic flora are higher than those of ileal flora.

[Key words] Intestinal microflora; Bacteria abundance; Ileum; Colon; SD rats

早在两千多年前,西方现代医学之父希波克拉底就提出“所有疾病都始于肠道”这一医学观点。我国自古就有“粪毒入血,百病蜂起”的中医论证。肠道微生物数量可达 10^{14} 个,占体内微生物数量的2/3,所拥有的基因数约为人类基因数的100倍,被称为人的第二基因组^[1]。健康人体内菌群种类大约有3 500多种^[2-3]。不仅如此,肠道还是最大的免疫器官,肠组织中存在大量的淋巴细胞及免疫因子,机体70%的免疫细胞分布在肠道,且肠道微生物能促进肠道免疫发育,促进肠黏膜细胞分泌免疫球蛋白A (immunoglobulin A, IgA)^[4]。Bazin等^[5]研究发现,无菌小鼠的肠道在无菌状态下,脾脏内B细胞的分化水平低且亲和力弱,成熟的生发中心比普通小鼠的少且小。William等^[6]发现,无菌条件下饲养的小鼠的肠道定植菌不能使IgA水平恢复,且抗原递呈细胞数目很少。Wilmore等^[7]认为,“肠是外科应激的中心器官”。还有研究者认为,胃肠道是多器官功能障碍综合征的“发动机”,肠道菌群与代谢和各器官的功能有着直接或间接的关系^[8]。Klingensmish等^[9]甚至认为,肠道菌群是“器官中的器官”。

众所周知,肠道菌群失稳态是炎症肠病及各种功能性胃肠病的直接诱因^[10]。肠道菌群不仅与多种慢性病如高血压、糖尿病、肥胖、抑郁、帕金森病、阿尔茨海默病以及肿瘤的发病息息相关^[11-16],还与许多自身免疫性疾病有关^[17]。因此,本研究对正常大鼠回肠和结肠的微生物组成进行检测分析,以期对胃肠病相关大鼠模型的构建和肠道菌群的研究提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级雄性SD大鼠30只,体质量180~220 g,6~8周龄,购自新疆医科大学实验动物中心[SCXK(新)2018-0001],采用⁶⁰Co辐射灭菌实验饲料(江苏省协同生物工程有限责任公司生产)及灭菌玉米芯垫料(北京科澳协力饲料有限公司生产)饲养于中国人民解放军新疆军区总医院实验动物屏障设施[SYXK(军)2017-0050]中。大鼠购入后于屏障系统IVC设施内饲养,环境温度20~24℃,相对湿度40%~70%,12 h/12 h昼夜光照。适应性饲养5 d后开始实验。动物实验经新疆军区总医院实验动物福利伦理审查委员会批准(批号DWLL20190729)。

1.2 回肠及结肠内容物的收集

以0.2 mL/100 g体质量的剂量腹腔注射3%戊巴比妥钠,深度麻醉大鼠后,以腹中线开腹暴露大鼠消化道;在距离大鼠回盲端15 cm处,取5 cm回肠,分别向上、向下汇集内容物于2 cm回肠空间,剪去多余回肠组织;将汇集的回肠内容物及部分肠黏膜组织置于1.8 mL Corning冻存管内,对应大鼠编号标记为ZH1~ZH30,直接置于液氮内冻存。同样,在盲肠的结肠端,取5 cm结肠,同回肠内容物的汇集方法,将结肠内容物及部分肠黏膜组织收集于1.8 mL Corning冻存管内,标记为ZJ1~ZJ30,直接液氮冻存。

1.3 DNA提取及PCR扩增

取液氮冻存回肠及结肠内容物,复温后使用粪便

菌群提取试剂盒, 采用 CTAB/SDS 法提取样本 DNA。1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的浓度和纯度后, 用无菌水将 DNA 稀释至 1 ng/ μ L, 作为扩增模板, 上样行 PCR (Bio-rad 100 梯度 PCR 仪)。16S rRNA V3-V4 区的 PCR 扩增引物为 341F (5'-CCTAYGGGRBGCASCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACNNGGTATCTAAT-3')。DNA 聚合酶缓冲液预混液为 Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer (美国 New England Biolabs 公司)。PCR 反应体系为 30 μ L, 包含细菌 DNA 模板 (1 ng/ μ L) 10 μ L、正反向引物各 1.5 μ L、2 $\times$ 反应缓冲液 15 μ L、超纯水 2 μ L。PCR 反应程序: 98 $^{\circ}$ C 预变性 1 min, 30 个循环包括 (98 $^{\circ}$ C 10 s, 50 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s); 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min, 4 $^{\circ}$ C 维持。PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳鉴定后, -8 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.4 PCR 产物的纯化

来自 30 只 SD 大鼠回肠或结肠菌群样本的 PCR 产物等浓度混合, 经 2% 琼脂糖凝胶电泳分离后, 使用 GeneJET 胶回收试剂盒 (美国 Thermo Scientific 公司产品) 回收 400 ~ 450 bp 的目标条带, 纯化产物。

1.5 文库构建和上机测序

使用美国 Illumina 公司的 TruSeq DNA PCR Preparation Kit 构建文库, 文库经 Qubit 定量并检测合格后, 使用 NovaSeq 6000 高通量测序平台测序。测序由天津诺禾致源生物信息科技有限公司完成。

1.6 数据处理

针对测序结果, 首先过滤去除干扰信息, 得到有效数据。过滤方法: (1) 过滤掉 reads 中的接头序列和 barcode 序列; (2) 用 Flash 软件将有 overlap 的 reads 对进行拼接^[18]; (3) 使用 QIIME 软件过滤掉含 N 较多或含低质量碱基较多的序列^[19]; (4) 过滤掉拼接序列中的嵌合体序列。然后基于有效数据进行操作分类单元 (operation taxonomic units, OTU) 聚类, 在门、属水平上进行物种丰度分析。并采用 QIIME 软件 (扩增子) 分析工具对回肠和结肠菌群进行 Alpha 和 Beta 多样性分析, 同时应用 LEfSe (LDA Effect Size) 分析软件得到线性判别分析 (linear discriminant analysis, LDA) 评分。最后, 应用 Tax4Fun 程序预测回肠及结肠菌群的优势基因富集通路, 以预测菌群功能。

2 结果

2.1 大鼠回肠、结肠微生物分布情况

2.1.1 基于 OTU 的韦恩图分析

经上机测序及数据处理, 60 个样品共得到 26 403

条有效数据。以 97% 的一致性进行 OTU 聚类后, 共得到 799 个 OTU, 其中回肠独有 375 个 OTU, 结肠独有 347 个 OTU。根据聚类得到的 OTUs 结果, 绘制韦恩图, 详见图 1A。

2.1.2 大鼠回肠、结肠菌群在门水平上的相对丰度

在门水平上的比较发现, 回肠内微生物以厚壁菌门 (Firmicutes) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes) 为主要优势菌群, 占比超过 98%, 其中 Firmicutes 占比最高。结肠微生物以厚壁菌门 (Firmicutes)、拟杆菌门 (Bacteroidetes) 为主要优势菌群, 占比超过 95%, 其中 Firmicutes 占比最高; 同时还包含软壁菌门 (Tenericutes)、放线菌门 (Actinobacteria) 和疣微菌门 (Verrucomicrobia), 但含量较少。回肠和结肠的相同点是 Firmicutes 占比都居各自菌群中最高, 不同点是结肠的菌群丰度显著高于回肠。根据结果绘制成柱形图, 见图 1B。

2.1.3 大鼠回肠、结肠菌群在属水平上的相对丰度

在属水平上比较发现, 回肠以乳酸杆菌属 (*Lactobacillus*) 和另枝菌属 (*Alistipes*) 为主要优势菌群, 还包含罗姆布茨菌属 (*Romboutsia*) 和不明瘤胃球菌属 (*Unidentified Ruminococcus*) 等。结肠以乳酸杆菌属 (*Lactobacillus*) 及罗姆布茨菌属 (*Romboutsia*) 为优势菌群, 其次还包含不明梭状芽孢菌属 (*Unidentified Clostridiales*)、双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*) 等。根据得到的数据绘制成扇形图, 见图 1C。

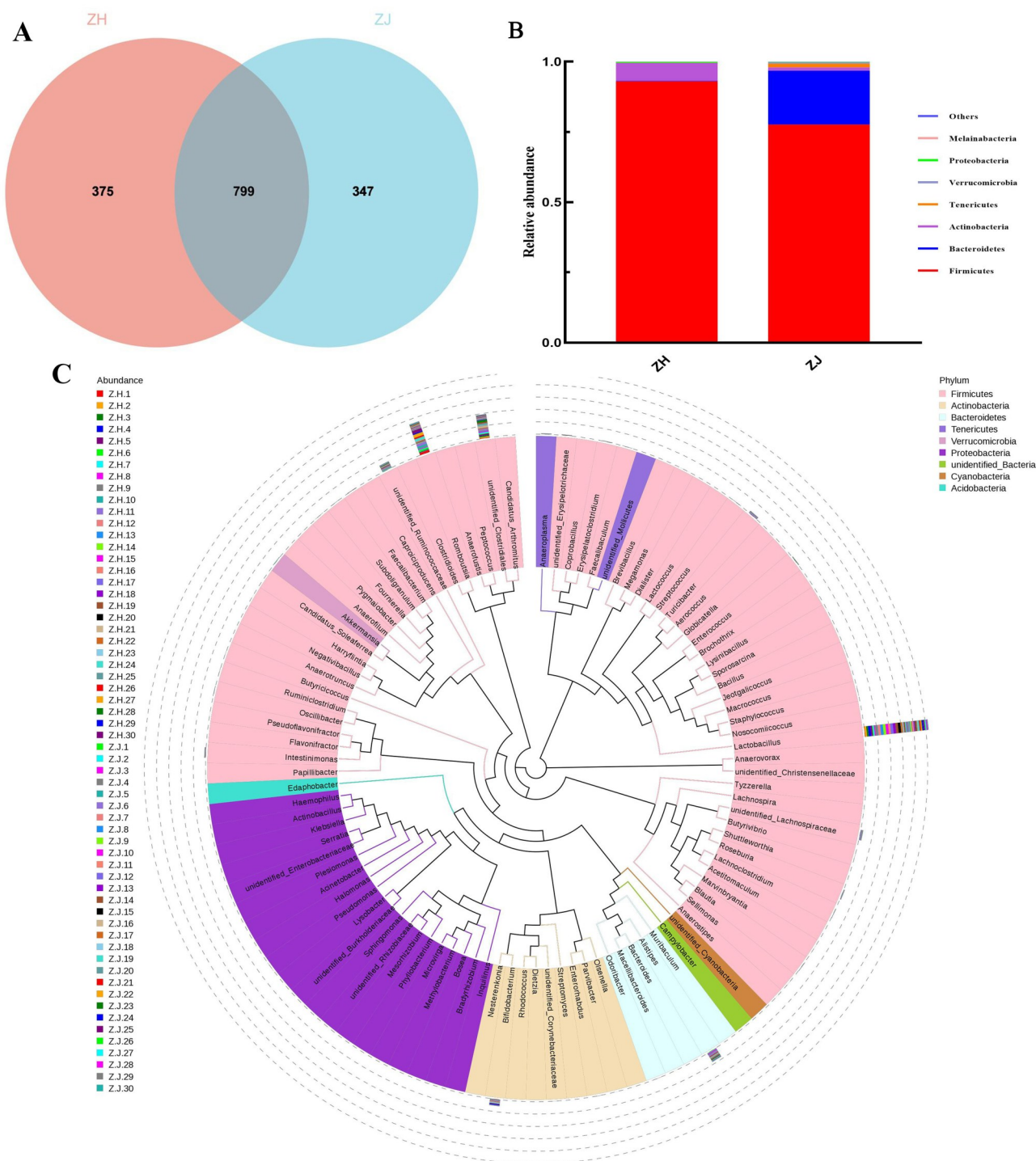
2.2 回肠与结肠菌群多样性

2.2.1 α 多样性指数

对 Illumina NovaSeq 测序得到的 26 403 条有效数据, 在 97% 一致性阈值下测得 α 多样性分析指数。回肠、结肠测得覆盖度 (coverage) 均高于 0.99, 表明样品中未被检测的序列概率较低。其中结肠 Chao1 指数 (Chao1 index)、香农指数 (Shannon index) 高于回肠, 前者说明结肠菌群丰富度高于回肠, 后者说明结肠菌群多样性高于回肠。详见表 1。

2.2.2 β 多样性

通过主坐标分析 (principal co-ordinates analysis) 来研究回肠与结肠菌群的多样性^[20], 结果如图 2A 所示。回肠样本与结肠样本相对集中分布于相应的象限内, 回肠样本分布相对比较均匀, 而结肠样本分布相对集中, 说明结肠样本中菌群物种的组成结构差异性小。



注：A，韦恩图，图中粉色圆圈代表结肠（ZJ）独有 OTU 个数，蓝色圆圈代表回肠（ZH）独有 OTU 个数，重叠部分代表回肠、结肠共有的 OTUs 个数；B，门水平的物种相对丰度柱形图；C，属水平物种系统发生关系图。

Note: A, Venn graph, in which, the pink circle represents the number of operation taxonomic units (OTU) unique to colon (ZJ), the blue circle represents the number of OTUs unique to ileum (ZH), and the overlap part represents the number of OTUs shared by ileum and colon; B, Histogram of relative species abundance at phylum level; C, Phylogenetic graph of genus level species.

图1 大鼠回肠、结肠菌群基于OTUs的门、属水平分类

Figure 1 Classification of phylum and genus of ileum and colon microflora in rats based on operation taxonomic units

2.2.3 多样性差异

LDA 评分体现了回肠、结肠菌群丰度显著差异的

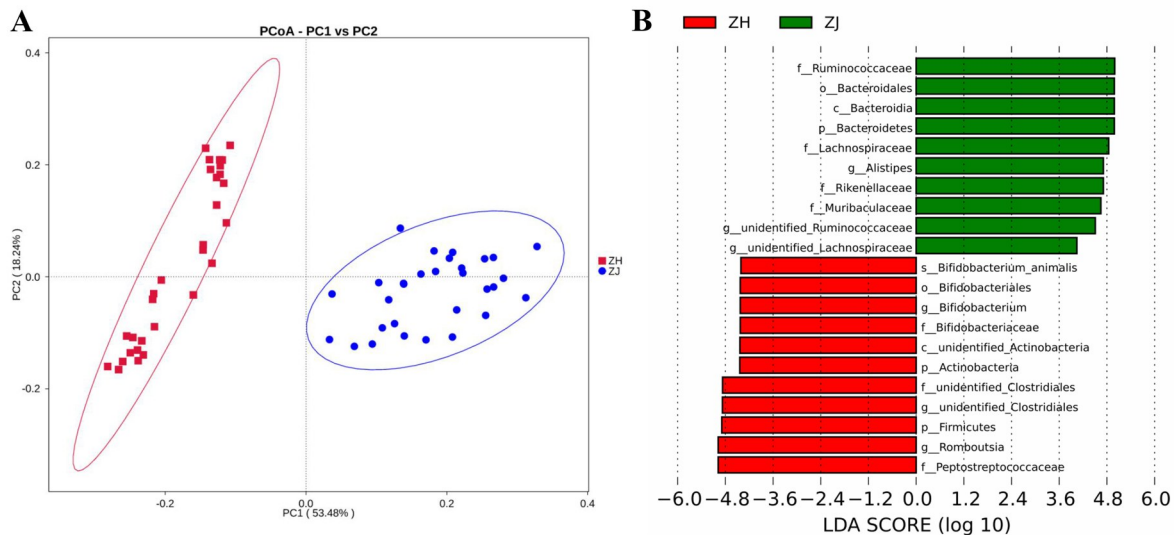
主要菌群，回肠组主要表现在厚壁菌门（Firmicutes）、罗姆布茨菌属（*Romboutsia*）和消化链球菌科

(Peptostreptococcaceae) 群落结构差异性显著; 结肠组主要表现在拟杆菌门 (Bacteroidetes)、拟杆菌纲 (Bacteroidia) 和拟杆菌目 (Bacteroidales) 群落结构差异性显著。详见图2B。

表1 大鼠回肠与结肠菌群的α多样性指数统计

Table1 Alpha diversity indices statistics of microflora in ileum and colon of rats

样品名称	观察数	OTU 数	香农指数	辛普森指数	Chao1指数	测序深度
Sample name	Observed number	OTU number	Shannon index	Simpson index	Chao1 index	Goods_Coverage
回肠 (ZH)	7 969	1 174	2.49	0.950	337.61	0.998
结肠 (ZJ)	18 434	1 146	5.90	0.661	671.08	0.998



注：A，基于Weighted Unifrac距离的主坐标分析（PCoA），横坐标表示一个主成分（PC1），纵坐标表示另一个主成分（PC2），百分比表示主成分对样本差异的贡献值。B，线性判别分析（LDA）值分布图。ZJ，结肠；ZH，回肠。

Note: A, the principal co-ordinates analysis (PCoA) based on the weighted unifrac distance. The abscissa represents one principal component (PC1), the ordinate represents another principal component (PC2), and the percentage represents the contribution value of principal component to sample difference. B, the linear discriminant analysis (LDA) value distribution. ZJ, colon; ZH, ileum.

图2 大鼠回肠、结肠菌群多样性分析

Figure 2 Diversity analysis of microflora in ileum and colon of rats

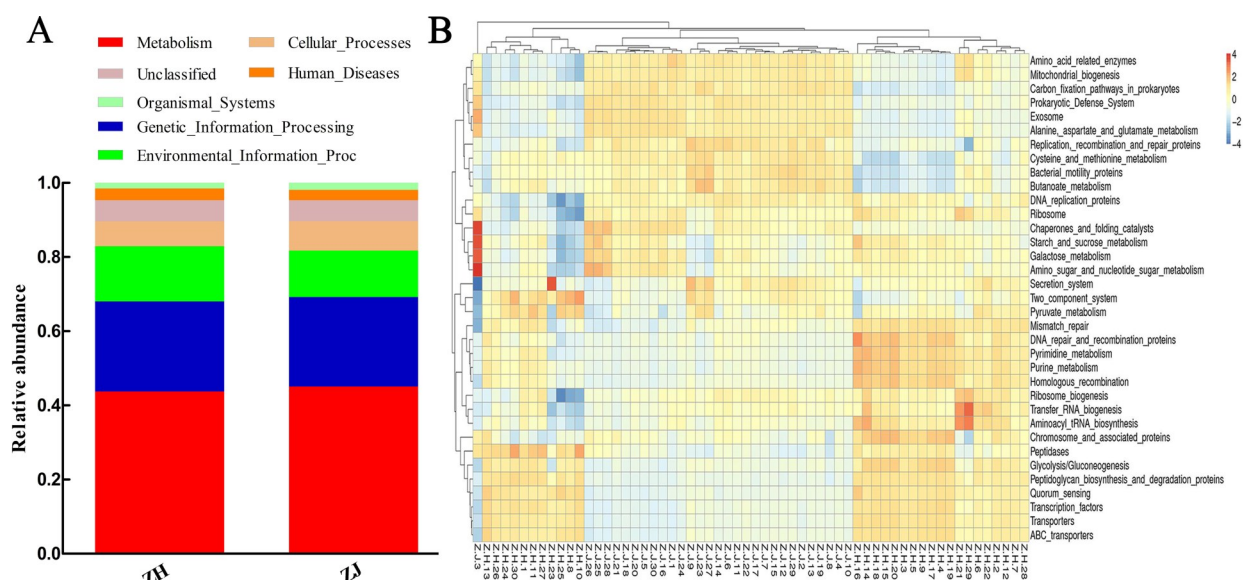
2.3 回肠、结肠菌群功能预测

根据回肠、结肠菌群的16S Silva数据库注释结果，生成功能相对丰度柱状堆积图（图3A）。由图可见回肠、结肠富集通路主要表现在新陈代谢、遗传信息加工、环境信息处理及细胞转化。

根据回肠、结肠菌群在数据库中的功能注释及丰度信息绘制热图，并从功能差异层面进行聚类分析（图3B）。结果显示：在回肠样本中，优势基因在类脂代谢、多酮代谢、膜运输、生物降解等通路显著富集，还在传染病通路上显示出一定的丰度；在结肠样本中，优势基因在甘聚糖生物合成代谢、能量代谢、辅助因子和维生素及其他产物的生物合成等通路显著富集。

3 讨论

随着高通量测序技术的发展，肠道菌群相关研究已成为国内外医学研究的热点。生物学家 Seth Bordenstein 曾提出，改变肠道微生物组以治疗疾病确实具有巨大的潜力，但科学家必须先明确健康肠道微生物的菌群结构^[21]。检测肠道微生物的方法有：细菌培养、PCR技术、分子探针技术及基因芯片技术、宏基因组测序技术^[22]。本研究利用宏基因组二代测序技术，对SPF级雄性SD大鼠的回肠及结肠菌群进行了检测。实验采用无菌手术方法获得大鼠的回肠和结肠内容物，不仅检测了肠腔菌群，并对黏膜定植菌群进行了分析，使检测结果更全面。



注：A，Tax4Fun 功能注释相对丰度柱形图；B，基于 Tax4Fun 的功能注释聚类热图。

Note: A, Tax4Fun relative abundance histogram of function annotation; B, clustering heat map of function annotation based on Tax4Fun.

图3 大鼠回肠、结肠菌群功能预测图

Figure 3 Functional prediction charts of microflora in ileum and colon of rats

机体肠道不同部位的定植菌群不同，数量也不同。正常生理状态下，大肠更靠近消化道末端，比小肠适宜微生物生长，细菌数量更多且种类更丰富，可达300多种^[23-25]。本实验再次证实这一经典理论，通过分析回肠、结肠的菌群多样性，结肠内菌群多样性及丰度显著高于回肠。聚类分析显示，回肠、结肠菌群在门水平主要分属9个门，分别是厚壁菌门（Firmicutes）、拟杆菌门（Bacteroidetes）、软壁菌门（Tenericutes）、放线菌门（Actinobacteria）、疣微菌门（Verrucomicrobia）、酸杆菌门（Acidobacteria）、蓝藻菌门（Cyanobacteria）、变形菌门（Proteobacteria）及黑色素杆菌门（Melainobacteria）。其中，回肠主要分布在厚壁菌门（Firmicutes）和放线菌门（Actinobacteria）；而结肠的门水平分布较广，包括厚壁菌门（Firmicutes）、拟杆菌门（Bacteroidetes）、软壁菌门（Tenericutes）、放线菌门（Actinobacteria）和疣微菌门（Verrucomicrobia）。在属水平上，回肠菌群以乳酸杆菌属（*Lactobacillus*）和另枝菌属（*Alistipes*）为主要优势菌群，还包含罗姆布茨菌属（*Romboutsia*）和不明瘤胃球菌属（*Unidentified Ruminococcus*）等；结肠以乳酸杆菌属（*Lactobacillus*）及罗姆布茨菌属（*Romboutsia*）为优势菌群，其次还包含不明梭状芽孢杆菌属（*Unidentified Clostridiales*）、双歧杆菌属（*Bifidobacterium*）等。其中，回肠与结肠中乳酸杆菌

属占比较高，显示乳酸杆菌在肠段中分布较广，乳酸杆菌的作用也尤显突出。

肠道菌群还受物种、年龄、饮食、地域、药物等因素的影响^[26-27]。黄树武等^[28]研究发现大鼠与小鼠肠道菌群存在差异，而且发现Wistar大鼠体内未检测到放线菌门。然而本研究发现SD大鼠肠道内存在放线菌门，说明肠道菌群的差异性与品种品系存在相关性。简平等^[29]发现，金丝猴随着年龄增长，其肠道优势菌群显著减少，金丝猴肠道各菌群的数量在不同年龄段有较大差异。近期国外有相关研究表明，地中海饮食习惯可降低患非传染病的风险，推测不同的肠道菌群结构和代谢方式可能是潜在的作用机制^[30]。王保宁等^[31]研究不同海拔地区牦牛的肠道菌群结构差异时发现，高海拔地区牦牛瘤胃球菌丰度显著低于低海拔地区牦牛。

已有研究表明处于高原低氧环境更易患胃肠功能障碍性疾病。高原低氧环境所致的胃肠功能障碍是最先发生的，可能诱发其他各种不良适应性反应。肠道微生物群被认为是保护肠道免受病原体侵害和维持肠道黏膜屏障完整性的关键部分。但目前肠道微生物对高原低氧环境下胃肠功能障碍性疾病的致病机制尚未阐释清楚。本研究组致力于高原高寒环境条件下功能性肠病动物模型的制作及干预，研究对象为特殊年龄段特殊人群，且均为男性。为了避免雌激素的干扰，

同时更接近实际应用对象,本研究将SPF级雄性大鼠作为实验对象,对其回肠及结肠菌群结构进行了比较,为深入分析高原功能性肠病动物模型提供了研究依据。

本研究通过Tax4Fun功能预测发现,大鼠回肠、结肠菌群富集通路主要表现在新陈代谢、遗传信息加工、环境信息处理及细胞转化等方面。大鼠回肠菌群优势基因在类脂物代谢、多酮代谢、膜运输、生物降解等通路显著富集,在传染病通路也显示出一定的丰度。大鼠结肠菌群优势基因在甘聚糖生物合成代谢、能量代谢、辅助因子和维生素及其他产物的生物合成等通路显著富集。因此,笔者推测炎症肠病患者肠道菌群的研究重点除结肠菌群外,还应包括回肠菌群。而对于肠道菌群与慢性代谢性疾病以及与下丘脑-肠-微生物轴信号通路相互作用等方面的研究,侧重点应放在结肠菌群。

综上所述,本实验通过对大鼠回肠菌群和结肠菌群的检测分析,发现结肠和回肠在菌群的多样性及丰富度上存在显著差异。结肠菌群的多样性指数和丰度指数都显著高于回肠菌群,这可能和两者不同的生理结构、不同的生理生化环境以及肠道微生物的不同定殖性能相关。本研究为肠道菌群与相关疾病作用机制的研究提供了参考依据。

[医学伦理声明 Medical Ethics Statement]

本研究中所有动物实验均经新疆军区总医院实验动物福利与伦理审查委员会批准(批号DWLL20190729)。所有实验过程均遵循中国实验动物相关法律法规条例要求进行。

All experimental animal protocols in this study were reviewed and approved by the Experimental Animal Welfare and Ethics Review Committee of Xinjiang Military Command General Hospital (Approval Letter No. DWLL20190729), and all experimental protocols were carried out in accordance with the requirements of laws and regulations in China related to experimental animals, including *Animal Management Regulations* (01/03/2017), *Laboratory Animal: Guideline for Ethical Review of Animal Welfare* (GB/T 35892-2018), and so on.

[作者贡献 Author Contribution]

许 琴: 提供资金支持, 采集样本, 撰写初步文章, 对文章进行加工修改;

倪 艳: 分析数据, 撰写初步文章, 对文章进行加工修改;

徐新明: 提供资金支持, 采集样本;

刘江伟: 提供资金支持, 分析数据;

赵红琼: 对文章进行加工修改;

是文辉: 采集样本, 分析数据;

李建瑛: 采集样本, 分析数据。

[利益声明 Declaration of Interest]

所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献 References]

- [1] PALAU-RODRIGUEZ M, TULIPANI S, ISABEL QUEIPO-ORTUÑO M, et al. Metabolomic insights into the intricate gut microbial-host interaction in the development of obesity and type 2 diabetes[J]. *Front Microbiol*, 2015, 6:1151. DOI:10.3389/fmicb.2015.01151.
- [2] GILL T, ASQUITH M, ROSENBAUM J T, et al. The intestinal microbiome in spondyloarthritis[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2015, 27(4):319-325. DOI:10.1097/BOR.0000000000000187.
- [3] SCHAEVERBEKE T, TRUCHETET M E, RICHEZ C. Gut metagenome and spondyloarthritis[J]. *Joint Bone Spine*, 2013, 80(4):349-352. DOI:10.1016/j.jbspin.2013.02.005.
- [4] 赵杰, 朱维铭, 李宁. 益生菌、益生元、合生元与炎症性肠病[J]. *肠外与肠内营养*, 2014, 21(4):251-253, 256. DOI:10.16151/j.1007-810x.2014.04.014.
- [5] ZHAO J, ZHU W M, LI N. Probiotics, Prebiotics, Synbiotics and inflammatory bowel disease[J]. *Parenter Enteral Nutr*, 2014, 21(4):251-253, 256. DOI:10.16151/j.1007-810x.2014.04.014.
- [6] CRABBÉ P A, BAZIN H, EYSSEN H, et al. The normal microbial flora as a major stimulus for proliferation of plasma cells synthesizing IgA in the gut. The germ-free intestinal tract[J]. *Int Arch Allergy Appl Immunol*, 1968, 34(4): 362-375. DOI: 10.1159/000230130.
- [7] WILLIAMS A M, PROBERT C S J, STEPANKOVA R, et al. Effects of microflora on the neonatal development of gut mucosal T cells and myeloid cells in the mouse[J]. *Immunology*, 2006, 119(4): 470-478. DOI: 10.1111/j. 1365-2567.2006.02458.x.
- [8] WILMORE D W, ROBINSON M K. Short bowel syndrome[J]. *World J Surg*, 2000, 24(12): 1486-1492. DOI: 10.1007/s002680010266.
- [9] KABIR S I, KABIR S A, RICHARDS R, et al. Pathophysiology, clinical presentation and management of diversion colitis: a review of current literature[J]. *Int J Surg*, 2014, 12(10):1088-1092. DOI:10.1016/j.ijsu.2014.08.350.
- [10] KLINGENSMITH N J, COOPERSMITH C M. The gut as the motor of multiple organ dysfunction in critical illness[J]. *Crit Care Clin*, 2016, 32(2):203-212. DOI:10.1016/j.ccc.2015.11.004.
- [11] 黎介寿. 肠内营养与肠屏障功能[J]. *肠外与肠内营养*, 2016, 23(5):257-259. DOI:10.16151/j.1007-810x.2016.05.001.
- [12] LI J S. Enteral nutrition and intestinal barrier function[J]. *Parenter Enteral Nutr*, 2016, 23(5):257-259. DOI:10.16151/j.1007-810x.2016.05.001.
- [13] 孙亚鲁, 尹勇, 王晓梅. 肠道菌群与脑卒中的关系[J]. *医学综述*, 2019, 25(9): 1782-1786. DOI: 10.3969/j. issn. 1006-2084.2019.09.022.
- [14] SUN Y L, YIN Y, WANG X M. Relationship between intestinal flora and stroke[J]. *Med Recapitul*, 2019, 25(9):1782-1786. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2019.09.022.
- [15] 李波, 侍荣华, 李宗杰. 肠道菌群-肠-脑轴与心身疾病的相互关系[J]. *生理科学进展*, 2018, 49(3):221-226. DOI:10.3969/j.issn.0559-7765.2018.03.013.
- [16] LI B, SHI R H, LI Z J. The correlations between microbiota-gut-brain axis and psychosomatic disorders[J]. *Prog Physiol Sci*, 2018, 49(3):221-226. DOI:10.3969/j.issn.0559-7765.2018.03.013.
- [17] 黄小群, 廖小平. 肠道菌群与抑郁的相关性研究进展[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2019, 22(1):112-116. DOI:10.12083/SYSJ.2019.

- 01.023.
HUANG X Q, LIAO X P. Research progress on the relationship between intestinal flora and depression[J]. Chin J Pract Nerv Dis, 2019, 22(1):112-116. DOI:10.12083/SYSJ.2019.01.023.
- [14] 王林洁, 袁建玲, 鲍波. 肠道菌群对帕金森病影响的研究进展[J]. 医学综述, 2019, 25(8):1501-1505. DOI:10.3969/j.issn.1006-2084.2019.08.009.
WANG L J, YUAN J L, BAO B. Research progress in influence of gut Microbiota on Parkinson's disease[J]. Med Recapitul, 2019, 25(8): 1501-1505. DOI: 10.3969/j. issn. 1006-2084.2019.08.009.
- [15] 孙功鹏, 高月兰, 魏家燕, 等. 氧化三甲胺与常见慢性疾病相关研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(11):1377-1381. DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.11.023.
SUN G P, GAO Y L, WEI J Y, et al. Research progress on trimethylamine oxide and common chronic diseases[J]. Int J Lab Med, 2019, 40(11):1377-1381. DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.11.023.
- [16] 王晓钰, 蒋升瑶, 蔺智兵, 等. 基于糖尿病-肿瘤小鼠模型研究糖尿病对结直肠癌/乳腺癌进展及肠道菌群的影响[J]. 实验动物与比较医学, 2021, 41(6):469-479. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2018.06.007.
WANG X Y, JIANG S Y, LIN Z B, et al. Effects of diabetes on colorectal cancer/breast cancer progression and intestinal flora based on a diabetes-tumor mouse model[J]. Lab Anim Comp Med, 2021, 41(6):469-479. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2018.06.007.
- [17] 陈梅佳, 沈楠, 杜青. 肠道菌群在风湿免疫性疾病中作用的研究进展[J]. 中华全科医师杂志, 2019, 18(3):279-282. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-7368.2019.03.018.
CHEN M J, SHEN N, DU Q. Research progress of intestinal flora in rheumatic immune diseases[J]. Chin J Gen Pract, 2019, 18(3): 279-282. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 1671-7368.2019.03.018.
- [18] MAGOČ T, SALZBERG S L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies[J]. Bioinformatics, 2011, 27(21): 2957-2963. DOI: 10.1093/bioinformatics/btr507.
- [19] CAPORASO J G, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. Nat Methods, 2010, 7(5):335-336. DOI:10.1038/nmeth.f.303.
- [20] MINCHIN P R. An evaluation of the relative robustness of techniques for ecological ordination[J]. Vegetatio, 1987, 69(1): 89-107. DOI:10.1007/BF00038690.
- [21] BROOKS A W, PRIYA S, BLEKHMANN R, et al. Gut microbiota diversity across ethnicities in the United States[J]. PLoS Biol, 2018, 16(12): e2006842. DOI:10.1371/journal.pbio.2006842.
- [22] 刘玉婷, 郝微微, 温红珠, 等. 肠道菌群的检测方法及研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2016, 24(20):3142-3148. DOI:10.11569/wcjd.v24.i20.3142.
LIU Y T, HAO W W, WEN H Z, et al. Intestinal flora: detection methods and research advances[J]. World Chin J Dig, 2016, 24(20):3142-3148. DOI:10.11569/wcjd.v24.i20.3142.
- [23] 李旖旎. 粪菌移植联合小儿化食丸对高热量饮食模型大鼠肠道菌群-SCFAs-GPR43-IL1-8通路的影响[D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.
LI Y N. Effects of bacteria transplantation combined with Xiaohuashan Pill on "intestinal flora- SCFAs-GPR43-IL18" pathway in high-calorie diet model rats[D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2019.
- [24] COSTELLO E K, LAUBER C L, HAMADY M, et al. Bacterial community variation in human body habitats across space and time[J]. Science, 2009, 326(5960):1694-1697. DOI:10.1126/science.1177486.
- [25] 李宁. 肠道菌群紊乱与粪菌移植[J]. 肠外与肠内营养, 2014, 21(4): 193-197. DOI:10.16151/j.1007-810x.2014.04.015.
LI N. Intestinal flora disorder and fecal bacteria transplantation[J]. Parenter Enteral Nutr, 2014, 21(4):193-197. DOI:10.16151/j.1007-810x.2014.04.015.
- [26] 朱华, 肖冲, 尚海泉, 等. 基于高通量测序的不同年龄恒河猴肠道菌群结构差异分析[J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(1):72-78. DOI:10.3969/j.issn.1005-4847.2019.01.012.
ZHU H, XIAO C, SHANG H Q, et al. Analysis of gut microbiomes of Rhesus macaques of different ages by high-throughput sequencing[J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2019, 27(1): 72-78. DOI:10.3969/j.issn.1005-4847.2019.01.012.
- [27] 翟子豪, 宋颀, 王俊茵, 等. 峨眉山与黄山藏酋猴肠道菌群组成的比较[J]. 四川动物, 2019, 38(1):1-10. DOI:10.11984/j.issn.1000-7083.20180183.
ZHAI Z H, SONG Y, WANG J Y, et al. Comparison of gut microbiome in Macaca thibetana between mount Emei and mount Huangshan[J]. Sichuan J Zool, 2019, 38(1):1-10. DOI:10.11984/j.issn.1000-7083.20180183.
- [28] 黄树武, 闵凡贵, 王静, 等. 常见 SPF 级小鼠和大鼠肠道菌群多样性研究[J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(2):229-235. DOI:10.3969/j.issn.1005-4847.2019.02.016.
HUANG S W, MIN F G, WANG J, et al. Diversity of intestinal flora in commonly used SPF mice and rats[J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2019, 27(2):229-235. DOI:10.3969/j.issn.1005-4847.2019.02.016.
- [29] 简平, 王强, 王剑, 等. 不同年龄段川金丝猴肠道菌群结构差异分析[J]. 动物营养学报, 2015, 27(4):1302-1309. DOI:10.3969/j.issn.1006-267x.2015.04.037.
JIAN P, WANG Q, WANG J, et al. Difference analysis of gut microbiome of Rhinopithecus roxellana in different ages[J]. Chin J Anim Nutr, 2015, 27(4):1302-1309. DOI:10.3969/j.issn.1006-267x.2015.04.037.
- [30] KIMBLE R, GOUINGUENET P, ASHOR A, et al. Effects of a mediterranean diet on the gut microbiota and microbial metabolites: A systematic review of randomized controlled trials and observational studies[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2022:1-22. DOI: 10.1080/10408398.2022.2057416.
- [31] 王保宁, 陈昱作, 贡嘎, 等. 不同海拔区域内牦牛肠道菌群结构组成多样性研究[J]. 四川大学学报(自然科学版), 2021, 58(5):152-158. DOI:10.19907/j.0490-6756.2021.056003.
WANG B N, CHEN Y Z, GONG G, et al. Study on diversity of structural composition of yaks intestinal flora in different altitudes[J]. J Sichuan Univ Nat Sci Ed, 2021, 58(5): 152-158. DOI:10.19907/j.0490-6756.2021.056003.

(收稿日期:2022-07-07 修回日期:2022-09-16)

(本文编辑:张俊彦,富群华,丁宇菁,余儒洋)

引用本文

许琴,倪艳,是文辉,等. SPF级雄性SD大鼠回肠与结肠菌群结构比较分析[J]. 实验动物与比较医学, 2023, 43(1):53-60. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2022.103.

XU Q, NI Y, SHI W H, et al. Analysis on ileum and colon microflora of SPF male SD rats based on high-throughput sequencing[J]. Lab Anim Comp Med, 2023, 43(1):53-60. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2022.103.