

· 临床 ·

## 16S rRNA 基因测序技术分析肝阳上亢型 脑出血患者的肠道菌群结构

李裕思<sup>1</sup>, 许华冲<sup>2</sup>, 王俊月<sup>3</sup>, 郑凡超<sup>1</sup>, 邓力<sup>2</sup>, 黎敬波<sup>1</sup>, 陈龙娇<sup>1</sup>, 袁淮涛<sup>4</sup>, 陈孝银<sup>2\*</sup>

(1. 广州中医药大学基础医学院, 广州 510000; 2. 暨南大学中医学院, 广州 510000;

3. 广州中医药大学第二临床医学院, 广州 510000; 4. 广州中医药大学第一附属医院, 广州 510000)

**[摘要]** 目的:探讨肝阳上亢型急性脑出血患者与健康人群的肠道菌群差异。方法:选取 2018 年于广州中医药大学第一附属医院颅脑科病房收治的 9 例肝阳上亢型急性脑出血患者的粪便样本为观察组,同时,选取体检的 6 例健康人粪便样本为对照组,提取两组样本中细菌总 DNA,根据 16S rRNA V4 区设计引物进行扩增,通过 Illumina MiSeq 平台进行双端测序 (paired-end),通过生物信息分析软件对测序结果进行分析,比较两组样本菌群组成和结构。结果:操作分类单元 (OTU) 的韦恩图分析 (Venn 分析) 显示观察组与对照组之间 OTU 数目存在明显差异。偏最小二乘法-判别分析 (PLS-DA) 显示肝阳上亢型急性脑出血患者与健康人在肠道菌群组成上具有明显差异。物种及其丰度分析上,门分类水平上观察组厚壁菌门与拟杆菌门的相对丰度比值 (F/B) 较正常组明显增加,其中疣微菌门的相对丰度明显低于对照组 ( $P < 0.05$ )。属分类水平上,两组的普雷沃氏菌属、拟杆菌属、阿克曼氏菌属、布劳特氏菌属、氨基酸球菌属相对丰度差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),其中观察组拟杆菌属和普雷沃氏菌属的相对丰度比值 (B/P) 显著高于对照组。种分类水平上两组在普氏菌、阿克曼粘细菌、卵形拟杆菌、脆弱拟杆菌、伶俐瘤胃球菌上具有明显差异 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。主坐标分析显示两组样本被显著分开,说明两组样本菌群结构存在显著差异。结论:肝阳上亢型急性脑出血与肠道菌群结构紊乱有关,其中普氏菌和阿克曼粘细菌的相对丰度下降是其发生的主要原因。

**[关键词]** 16S rRNA 基因测序技术; 肝阳上亢; 急性脑出血; 菌群结构; 肠道菌群; 韦恩分析; 物种水平

**[中图分类号]** R22;R24;R28;C37;R378.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)08-0083-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20190550

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181115.2227.053.html>

**[网络出版时间]** 2018-11-20 11:05

### Analysis of Bacterial Flora Structure of Patients with Cerebral Hemorrhage Due to Hyperactivity of Liver-Yang by 16S rRNA Gene Sequencing Technique

LI Yu-si<sup>1</sup>, XU Hua-chong<sup>2</sup>, WANG Jun-yue<sup>3</sup>, ZHENG Fan-chao<sup>1</sup>, DENG Li<sup>2</sup>, LI Jing-bo<sup>1</sup>,  
CHEN Long-jiao<sup>1</sup>, YUAN Huai-tao<sup>4</sup>, CHEN Xiao-yin<sup>2\*</sup>

(1. School of Basic Medical College, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510000, China;

2. School of Traditional Chinese Medicine, Jinan University, Guangzhou 510000, China;

3. The Second Clinical Medical College, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510000, China;

4. The first Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the difference of intestinal flora between the patients with acute cerebral hemorrhage due to hyperactivity of liver-Yang and the healthy population. **Method:** The fecal samples of 9 patients with acute cerebral hemorrhage due to hyperactivity of liver-Yang from the first affiliated hospital of Guangzhou university of traditional Chinese medicine in 2018 were selected as observation group, and 6 stool

**[收稿日期]** 20181015(002)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81830114,81774164,81473557);广东省自然科学基金项目(2017A030313737)

**[第一作者]** 李裕思,在读硕士,从事五运六气与外感病证候规律研究,Tel:020-39358006,E-mail:2445668577@qq.com

**[通信作者]** \* 陈孝银,博士,教授,从事中医外感病因学研究,Tel:020-85226197,E-mail:tchenxiaoyin@jnu.edu.cn

samples from healthy subjects were selected as the control group. The total bacterial DNA was extracted from the two groups of samples, amplified according to the 16S rRNA V4 region, and paired-end sequencing was performed on the Illumina MiSeq platform. The sequencing results were analyzed by bioinformatics analysis software. The flora composition and structure of the samples from two groups were compared. **Result:** Venn analysis of operational taxonomic units (OTU) showed significant difference in OTU numbers between the observation group and control group. Partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) showed that there was a significant difference in the composition of intestinal flora between patients with acute cerebral hemorrhage and healthy subjects. On the analysis of species and abundance, at the classification level of phylum, compared with the control group, the ratio of relative abundance values of Firmicutes and Bacteroidetes (F/B) in the observation group was significantly increased, and the relative abundance of Verrucomicrobia was significantly decreased ( $P < 0.05$ ); at the classification level of genus, there were significant differences between the two groups in the *Prevotella*, *Bacteroides*, *Akkermansia*, *Blautia* and *Acidaminococcus* ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), the ratio of relative abundance values of *Bacteroides* and *Prevotella* (B/P) in the observation group was significantly higher than that of the control group; at the classification level of species, there were significant differences between the two groups in *P. copri*, *A. muciniphila*, *B. ovatus*, *B. fragilis* and *Ruminococcus callidus* ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Principal coordinate analysis showed that the two groups of samples were significantly separated, indicating that there were significant differences in flora structure between the two groups. **Conclusion:** Acute cerebral hemorrhage due to hyperactivity of liver-Yang is associated with structural disorder of intestinal flora, which is closely related to the decrease in relative abundance of *P. copri* and *A. muciniphila*.

[**Key words**] 16S rRNA gene sequencing technology; hyperactivity of liver-Yang; acute cerebral hemorrhage; flora structure; intestinal flora; Venn analysis; species level

急性原发性脑出血是脑部出现非外伤性的出血病变,也是临床的常见的心脑血管疾病,具有较高的致死率和致残率<sup>[1]</sup>,严重威胁人们的生命安全及生活质量。现代医学在治疗急性脑出血上取得了很大的进步,但是在降低死亡率、致残率上仍没有突破<sup>[2]</sup>,因此研究其生理病理机制,寻找合理有效的防治策略成为了医学界面临的共同难题。魏曦教授曾预言“微生物学很可能成为打开中医奥秘大门的一把金钥匙”,肠道菌群已被证明参与了人体多种生理和病理过程,肠道菌群结构与功能的改变是导致心脑血管疾病发生的重要原因<sup>[3-4]</sup>,然而,肠道菌群结构、功能的改变与急性脑出血之间的联系尚未明确,本研究拟通过 16S rRNA V4 基因测序技术检测肝阳上亢型急性脑出血患者与健康人群的肠道菌群,分析肠道菌群组成结构及多样性的差异,探讨肠道菌群与急性脑出血的相关性及规律,旨在通过保持肠道的菌群平衡来预防心脑血管疾病,降低急性脑出血的发病率、死亡率,为中医药证候研究提供新的研究思路和方法。

## 1 临床资料

**1.1 病例资料** 2018 年于广州中医药大学第一附属医院颅脑科收治的急性脑出血患者 9 例,编号

S1 ~ S9,作为观察组;健康体检者 6 人,编号 D1 ~ D6,作为对照组。两组合计的男女比例 3:2,观察组平均年龄 ( $58 \pm 10.84$ ) 岁,对照组平均年龄 ( $54.83 \pm 18.30$ ) 岁。两组人群在年龄及性别比较上无统计学差异。

## 1.2 诊断标准

**1.2.1 西医诊断标准** 参照 2005 年中华医学会神经病学分会制定的《中国脑血管病防治指南》<sup>[5]</sup> 的诊断标准进行拟定。

**1.2.2 中医诊断标准** 中医证型诊断标准参考《中药新药临床研究指导原则(试行)》<sup>[6]</sup> 拟定。

**1.3 纳入标准** 符合中西医诊断标准;急性起病,发病在急性期内;原发性脑出血患者。

**1.4 排除标准** 血液系统疾病、肝肾疾病及肿瘤等导致的继发性脑出血;出血性梗死或多灶性出血;合并严重心肺功能不全、肾功能不全、凝血功能障碍、血液系统疾病者;既往神经病患者;既往 3 个月连续服用抗生素的患者。

## 2 方法

**2.1 粪便 DNA 的提取** 收集两组研究对象检查当日大便或者住院后首次大便,样品存于标准冷冻管中(样品量  $> 0.5$  g),保存于液氮中;采用德国

QIAGEN GmbH 公司生产货号为 51604 的 QIAamp® Fast DNA Stool Mini Kit(50)试剂盒进行 DNA 的提取,所得 DNA 提取液保存于 -80 °C 的冰箱中。

**2.2 标本的 16S rRNA V4 检测** 标本检测由华大基因检测中心完成,首先对送检 DNA 样品进行检测,检测合格后的样品构建文库;回收目的扩增片段,用 T4 DNA 聚合酶, Klenow DNA 聚合酶和 T4 多聚核苷酸激酶(T4 PNK)将打断形成的粘性末端修复成平末端,再通过 3'端加碱基腺嘌呤(A),使得 DNA 片段能与 3'端带有碱基胸腺嘧啶(T)的特殊接头连接;或者设计合成含有测序接头的双索引序列融合引物,以基因组 DNA 为模板进行融合引物聚合酶链式反应(PCR),利用磁珠法筛选目的扩增片段,最后用合格的文库进行 DNA 簇(DNA cluster)制备和测序。

**2.3 生物信息学分析** 利用 GreenGene 数据库对代表序列进行物种注释,置信度阈值设置为 0.6。通过操作分类单元(OTU)的韦恩(Venn)图分析,偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA),物种及其丰度分析以及主坐标分析进行处理。其中韦恩图分析是在 97%的相似度下,得到每个样品的 OTU 个数,利用韦恩图可以展示多样品共有和各自特有 OTU 数目,直观展示样品间 OTU 的重叠情况。PLS-DA 是一种用于判别分析的多变量统计方法,常用于判断研究对象如何分类,可将主成分分析(PCA)和多元回归的功能相结合,达到循环 PCA 的各个成分以使其之间的间隔最大化,从而加大各组观察结果之间间隔的目的。物种及其丰度分析通过与数据库进行对比,对物种进行门、纲、目、科、属、种的等级分类,可以观察到不同物种在每个样品所占的比例以及组间差异。主坐标分析是一种展示样品间多样性差异大小的方法,如果两样品距离越远,则表示两样品的物种组成差异越大。

**2.4 统计学分析** 采用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计学分析,计量资料采用 *t* 检验,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 OTU 的 Venn 分析** 观察组和对照组 15 个样品共产生 545 个 OTU,其中共有的 OTU 为 394 个,而这两组特有的 OTU 分别为 64,87 个;观察组的菌群 OTU 数目较对照组少。两组之间具有差异性,满足归类分析的要求。

**3.2 OTU 的 PLS-DA 分析** PLS-DA 结果显示,观察组的组内分布和对照组组内分布具有相似性,但两组之间被明显分开,两组在菌群组成上存在显著

差异,可以进行组间差异性分析,见图 1。

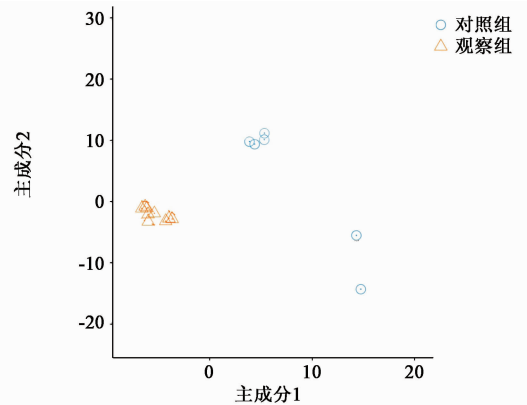
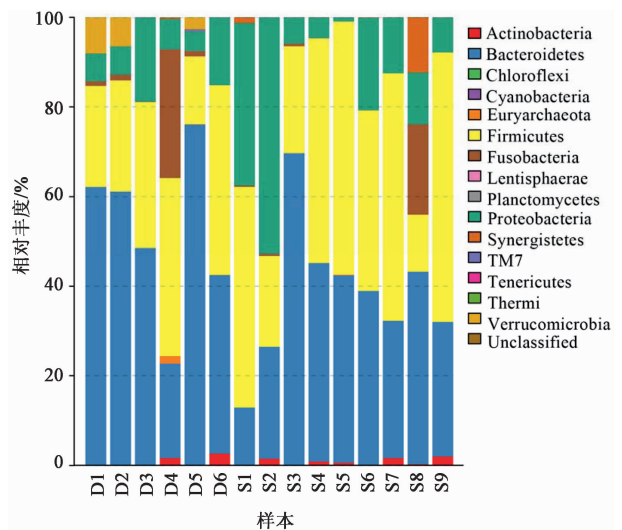


图 1 两组样本的肠道菌群基于 OTU 丰度的 PLS-DA  
Fig. 1 PLS-DA of intestinal flora in samples from two groups based on OTU abundance

### 3.3 物种及其丰度分析

**3.3.1 门分类水平的丰度值及构成比较** 两组样本共 15 份,门分类物种的相对丰度分布见图 2。结果发现在门分类水平上,观察组中相对丰度较高的依次为厚壁菌门(Firmicutes),拟杆菌门(Bacteroidetes),变形菌门(Proteobacteria),梭形菌门(Fusobacteria),疣微菌门(Verrucomicrobia);对照组中相对丰度较高的依次为拟杆菌门、厚壁菌门、变形菌门、梭形菌门、疣微菌门。其中观察组中疣微菌门的相对丰度明显低于对照组( $P < 0.05$ ),且观察组中厚壁菌门和拟杆菌门的相对丰度比值(F/B)较对照组明显增加。见表 1。



D. 对照组;S. 观察组(图 3~5 同)  
图 2 两组样本肠道菌群门分类水平的相对丰度  
Fig. 2 Relative abundance values of intestinal flora in samples from two groups at classification level of phylum

表 1 两组样本肠道菌群门分类水平的相对丰度比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	拟杆菌门	厚壁菌门	变形菌门	梭形菌门	疣微菌门
对照	6	51.43 ± 7.92	29.51 ± 4.31	9.59 ± 2.40	5.38 ± 4.67	2.87 ± 1.47
观察	9	37.33 ± 5.27	40.92 ± 5.87	16.98 ± 5.69	2.40 ± 2.22	0.003 ± 0.002 <sup>1)</sup>

注:与对照组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$  (表 2,3 同)。

**3.3.2 属分类水平的丰度值及构成比较** 属分类水平上有统计学差异 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ) 的前五类菌属为普雷沃氏菌属 (*Prevotella*), 拟杆菌属 (*Bacteroides*), 阿克曼氏菌属 (*Akkermansia*), 布劳特氏菌属 (*Blautia*), 氨基酸球菌属 (*Acidaminococcus*),

相对丰度分布见图 3。其中对照组中普雷沃氏菌属、阿克曼氏菌属、布劳特氏菌属的相对丰度高于观察组;而在拟杆菌属、氨基酸球菌属中观察组的相对丰度明显高于对照组;且观察组拟杆菌属和普雷沃氏菌属的相对丰度比值 (B/P) 显著高于对照组,见表 2。

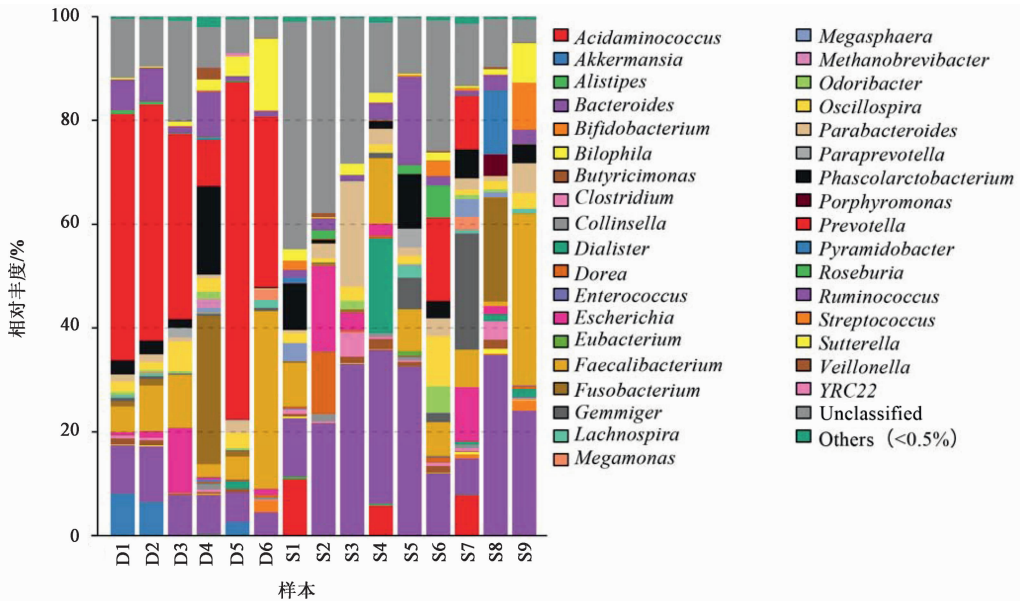


图 3 两组样本肠道菌群属分类水平的相对丰度

Fig.3 Relative abundance values of intestinal flora in samples from two groups at classification level of genus

表 2 两组样本肠道菌群属分类水平的相对丰度比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	普雷沃氏菌属	拟杆菌属	阿克曼氏菌属	布劳特氏菌属	氨基酸球菌属
对照	6	39.22 ± 7.63	7.62 ± 0.93	2.87 ± 1.47	0.22 ± 0.02	0.008 5 ± 0.004
观察	9	2.97 ± 1.99 <sup>2)</sup>	22.90 ± 3.52 <sup>2)</sup>	0.003 ± 0.002 <sup>1)</sup>	0.14 ± 0.04 <sup>1)</sup>	2.73 ± 1.42 <sup>1)</sup>

注:与对照组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (表 3 同)。

**3.3.3 种分类水平的丰度值及构成比较** 种分类水平上具有明显差异 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ) 的前 5 个明确的种为普氏菌 (*Prevotella copri*), 阿克曼粘细菌 (*Akkermansia muciniphila*), 卵形拟杆菌 (*Bacteroides ovatus*), 脆弱拟杆菌 (*B. fragilis*), 伶俐瘤胃球菌 (*Ruminococcus callidus*), 相对丰度分布见图 4。其中观察组中卵形拟杆菌、脆弱拟杆菌的相对丰度较对照组高,但对照组中普氏菌、阿克曼粘细菌、伶俐瘤胃球菌的相对丰度较观察组高,见表 3。

**3.4 主坐标分析 (PCoA)** 将各个样品中属于相同物种的数据汇总,利用 Weighted UniFrac 算法计算样本间距离矩阵,通过对数据的第 1 主坐标 (PC1) 与第 2 主坐标 (PC2) 制图,见图 5,图中不同颜色之间距离越大代表样品间结构差异性越大。结果显示观察组与对照组被明显分开,说明两组样本菌群结构存在显著差异。

#### 4 讨论

肠道菌群是人体细胞总数的 10 倍,被誉为人体

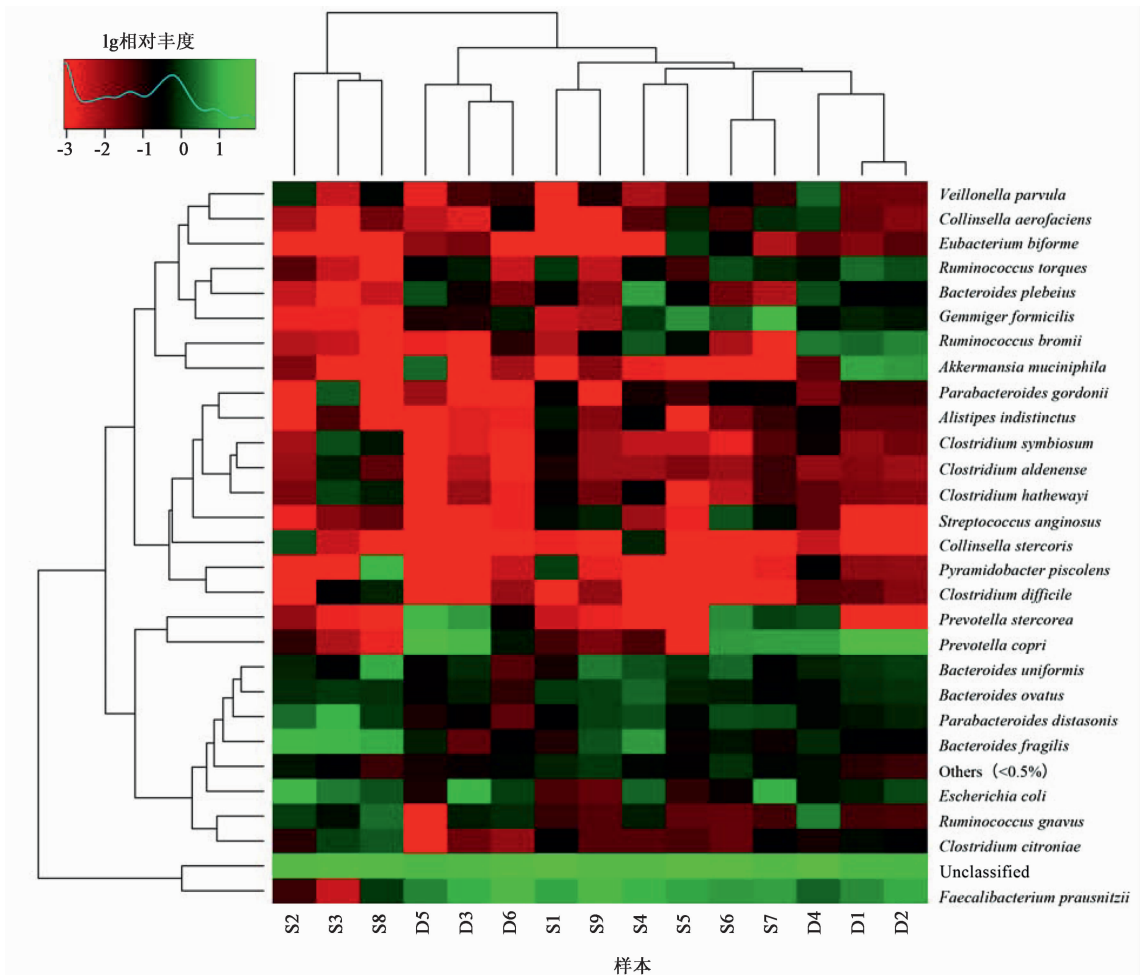


图 4 两组样本肠道菌群分类水平的物种丰度分布热分析

Fig. 4 Heat map analysis of abundance distribution of intestinal flora in samples from two groups at classification level of species

表 3 两组样本肠道菌群分类水平的相对丰度比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of relative abundance values of intestinal flora in samples from two groups at classification level of species ( $\bar{x} \pm s$ ) %

组别	例数	普氏菌	阿克曼粘细菌	卵形拟杆菌	脆弱拟杆菌	伶俐瘤胃球菌
对照	6	28.55 ± 8.49	2.87 ± 1.47	0.45 ± 0.12	0.37 ± 0.10	0.018 ± 0.008
观察	9	1.48 ± 0.96 <sup>2)</sup>	0.003 3 ± 0.002 <sup>1)</sup>	0.96 ± 0.23 <sup>1)</sup>	5.39 ± 2.18 <sup>1)</sup>	0.000 2 ± 0.000 2 <sup>2)</sup>

第二套基因组,与人类健康息息相关<sup>[7]</sup>。现代研究表明肠道菌群的紊乱与心脑血管疾病及神经性疾病密切相关<sup>[8-11]</sup>,但肝阳上亢型急性脑出血患者的肠道菌群组成结构与多样性特征尚未见报道。

本研究通过高通量测序技术对样本肠道菌群的 16S rRNA V4 区进行测序分析,结果 OTU 的 Venn 分析显示急性脑出血的发生与肠道菌群的丰度下降有关,而 PLS-DA 和 PCoA 显示急性脑出血的发生与肠道菌群结构的改变密切相关。丰度的下降和菌群结构的改变是导致肝阳上亢型急性脑出血的重要原因,这和以往对肠道菌群与脑卒中危险因素的研究相一致<sup>[12-14]</sup>。进一步对观察组和对照组的肠道菌群进行物种及其丰度分析,两组人群的肠道菌群的

组成结构差别主要体现在两方面,①观察组的 F/B 以及 B/P 明显高于对照组,两者作为肠道菌群结构紊乱的重要参数之一<sup>[15]</sup>,可以推测肠道菌群结构的紊乱是导致肝阳上亢型急性脑出血的重要原因之一。②某些具体种类的菌群,其数量占比的改变。本研究中观察组的普氏菌和阿克曼粘细菌的相对丰度较正常组显著下降,既往研究发现普氏菌与肠道的通透性相关,具有抵御病原菌防止炎症的发生和调节血糖的重要作用<sup>[16-17]</sup>。阿克曼粘细菌属于疣微菌门,是人体肠道内的一种严格厌氧肠道菌,通常占人体肠道所有微生物的 1% ~ 3%<sup>[18-19]</sup>;其可以改善肥胖、炎症反应、胰岛素抵抗和葡萄糖耐受等问题,还可参与调节机体的免疫应答,维持体内代谢

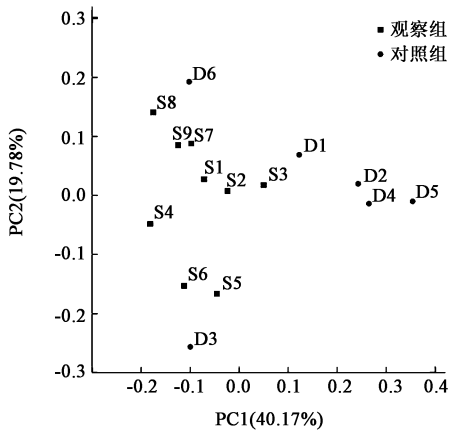


图 5 两组样本肠道菌群基于 PC1 和 PC2 赋值的分布  
Fig. 5 Distribution of intestinal flora in samples from two groups based on PC1 and PC2 assignment

平衡<sup>[20-21]</sup>。两者与脑卒中的肥胖、糖尿病、炎症反应等高危因素的产生也有密切联系<sup>[13-14]</sup>,说明普氏菌和阿克曼粘细菌的丰度值下降可能是导致急性脑出血的潜在因素。

综上所述,肝阳上亢型急性脑出血的肠道菌群组成结构和多样性特征与健康人群具有明显差异。其中 F/B 和 B/P 的变化是肝阳上亢型急性脑出血的重要参考指标之一,而阿克曼粘细菌和普氏菌的相对丰度下调是导致肝阳上亢型急性脑出血的重要原因。补充和调节阿克曼粘细菌、普氏菌的丰度值可能是靶向治疗和预防急性脑出血的有效途径之一,但由于本文中 16S rRNA 基因测序技术的局限性以及纳入的研究对象数量有限,后续研究可考虑应用宏基因组测序技术并增大研究样本量,找出差异基因,以进一步探讨普氏菌和阿克曼粘细菌相互作用于急性脑出血的内在机制。

[参考文献]

[ 1 ] Feigin V L, Forouzanfar M H, Krishnamurthi R, et al. Global and regional burden of stroke during 1990-2010: Findings from the Global Burden of Disease Study 2010 [ J ]. Lancet, 2014, 383 (9913) : 245-254.

[ 2 ] 方兴. 脑出血的中西医结合临床研究进展 [ J ]. 世界中西医结合杂志, 2008, 3 (12) : 744-746.

[ 3 ] Winek K, Meisel A, Dirnagl U. Gut microbiota impact on stroke outcome: fact or fact [ J ]. J Cereb Blood Flow Metab, 2016, 36 (5) : 891-898.

[ 4 ] WANG Y, Kasper L H. The role of microbiome in central nervous system disorders [ J ]. Brain Behav Immun, 2014, 38 : 1-12.

[ 5 ] 饶明俐. 中国脑血管病防治指南 [ M ]. 北京: 人民卫生出版社, 2007 : 26-27.

[ 6 ] 中华人民共和国卫生部. 中药新药临床研究指导原则 (试行) [ M ]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002 :

281-285.

[ 7 ] 汪菲, 曾强, 李春霖. 肠道菌群在肥胖与糖尿病干预中的作用研究进展 [ J ]. 海南医学院学报, 2017, 23 (13) : 1877-1880.

[ 8 ] Lynch S V, Pedersen O. The human intestinal microbiome in health and disease [ J ]. N Engl J Med, 2016, 375 (24) : 2369-2379.

[ 9 ] QIN N, YANG F, LI A, et al. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis [ J ]. Nature, 2014, 513 (7516) : 59-64.

[ 10 ] Sampson T R, Debelius J W, Thron T, et al. Mazmanian gut microbiota regulate motor deficits and neuroinflammation in a model of Parkinson's disease [ J ]. Cell, 2016, 167 (6) : 1469-1480.

[ 11 ] Taneja V. Microbiome in 2016: T follicular helper cells and the gut microbiome in arthritis [ J ]. Nat Rev Rheumatol, 2017, 13 (2) : 72-74.

[ 12 ] LI J, ZHAO F, WANG Y, et al. Gut microbiota dysbiosis contributes to the development of hypertension [ J ]. Microbiome, 2017, doi: 10. 1186/s40168-016-0222-x.

[ 13 ] YIN J, LIAO S X, HE Y, et al. Dysbiosis of gut microbiota with reduced trimethylamine-N-oxide level in patients with large-artery atherosclerotic stroke or transient ischemic attack [ J ]. J Am Heart Assoc, 2015, 4 (11) : e002699.

[ 14 ] WANG Y, Lawson M A, Dantzer R, et al. LPS-induced indoleamine 2, 3-dioxygenase is regulated in an interferon-gamma-independent manner by a JNK signaling pathway in primary murine microglia [ J ]. Brain Behav Immun, 2010, 24 (2) : 201-209.

[ 15 ] Jonsson A L, Bäckhed F. Role of gut microbiota in atherosclerosis [ J ]. Nat Rev Cardiol, 2017, 14 (2) : 79-87.

[ 16 ] Scher J U, Sczesnak A, Longman R S, et al. Expansion of intestinal *Prevotella copri* correlates with enhanced susceptibility to arthritis [ J ]. Elife, 2013, doi: 10. 7554/eLife. 01202.

[ 17 ] 吴莉娟, 孙文, 吴丽丽, 等. 糖耐康对 T2DM 大鼠 ZDF 肠道菌群结构的影响 [ J ]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23 (8) : 98-104.

[ 18 ] Collado M C, Derrien M, Isolauri E, et al. Intestinal integrity and *Akkermansia muciniphila*, a mucin-degrading member of the intestinal microbiota present in infants, adults, and the elderly [ J ]. Appl Environ Microbiol, 2007, 73 (23) : 7767-7770.

[ 19 ] Derrien M, Collado M C, Ben-Amor K, et al. The mucin degrader *Akkermansia muciniphila* is an abundant resident of the human intestinal tract [ J ]. Appl Environ Microbiol, 2008, 74 (5) : 1646-1648.

[ 20 ] 马祥雪, 王凤云, 符俊杰, 等. 基于肠道菌群的中医健脾方剂作用机制的研究现状与思考 [ J ]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23 (5) : 210-215.

[ 21 ] Le Poul E, Loison C, Struyf S, et al. Functional characterization of human receptors for short chain fatty acids and their role in polymorphonuclear cell activation [ J ]. J Biol Chem, 2003, 278 (28) : 25481-25489.

[责任编辑 刘德文]