

复合益生菌制剂对人体肠道菌群组成的调节作用

毛丙永¹, 崔树茂^{1*}, 潘明罗¹, 黄洁², 王健², 吴晚生², 郭仁妹², 赵建新¹

(1. 江南大学食品学院, 江苏无锡 214122) (2. 苏州硒泰克生物科技有限公司, 江苏苏州 215000)

摘要: 为了研究复合益生菌制剂对人体肠道菌群的调节作用, 该实验招募到 15 名健康志愿者, 连续服用 4 周的复合益生菌制剂。干预前后收集志愿者的粪便样品, 通过 16S rDNA 扩增子测序技术分析干预前后粪便中肠道菌群组成的变化。其结果表明: 复合益生菌制剂干预 4 周后, 人体肠道菌群的 Shannon 指数和 Evenness 指数不变 ($p>0.05$); 在门水平上, 厚壁菌门 (Firmicutes) 和放线菌门 (Actinobacteria) 的相对丰度增加; 在属水平上, 除乳杆菌属 (*Lactobacillus*) 和双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*) 的相对丰度增加以外, 复合益生菌制剂干预对柯林斯菌属 (*Collinsella*)、瘤胃球菌属 (*Ruminococcus*)、多尔氏菌属 (*Dorea*) 和真细菌属 (*Eubacterium*) 等肠道内产氢气细菌的相对丰度也产生影响。由此认为, 该复合益生菌制剂具有调节肠道菌群组成的作用, 能够提高肠道内一些有益菌的丰度。

关键词: 复合益生菌; 肠道菌群; 产氢气细菌

文章编号: 1673-9078(2021)11-8-13

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.11.0746

Regulatory Effects of Complex Probiotics Preparation on Composition of Human Intestinal Microbiota

MAO Bingyong¹, CUI Shumao^{1*}, PAN Mingluo¹, HUANG Jie², WANG Jian², WU Wansheng², GUO Renmei², ZHAO Jianxin¹

(1.School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

(2.Suzhou Seteck Biotech Co. Ltd., Suzhou 215000, China)

Abstract: To study the regulation effects of complex probiotics on human intestinal microbiota, 15 healthy volunteers were recruited to intake the synthesized complex probiotics for four consecutive weeks, and high-throughput 16S rDNA amplicon sequencing was performed to analyze the changes in the composition of the intestinal microbiota in their stool samples before and after the intake of complex probiotics. The sequencing results revealed that the Shannon and Evenness indices of human intestinal microbiota remain unchanged after four weeks of compound probiotics intake ($p>0.05$). However, the relative abundance of two phyla, namely Firmicutes and Actinobacteria, was found to be increased. Similarly, at the genus level, the relative abundance of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* increased. Additionally, the relative abundance of intestinal hydrogen-producing bacteria, such as *Collinsella*, *Ruminococcus*, *Dorea*, and *Eubacterium* was also influenced. Conclusively, the intestinal microbiota can be regulated by the synthesized complex probiotics and the relative abundance of some beneficial bacteria in the intestinal tract is thereby increased.

Key words: complex probiotics; intestinal microbiota; hydrogen-producing bacteria

引文格式:

毛丙永, 崔树茂, 潘明罗, 等. 复合益生菌制剂对人体肠道菌群组成的调节作用[J]. 现代食品科技, 2021, 37(11): 8-13, +113

MAO Bingyong, CUI Shumao, PAN Mingluo, et al. Regulatory effects of complex probiotics preparation on composition of human intestinal microbiota [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(11): 8-13, +113

人体肠道内寄居着大量的微生物, 种类超过 1000 种^[1]。越来越多的证据表明, 肠道菌群在人体健康许

收稿日期: 2021-07-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31972086; 31801530)

作者简介: 毛丙永 (1987-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 益生菌资源挖掘与应用, E-mail: maobingyong@jiangnan.edu.cn

通讯作者: 崔树茂 (1986-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 食品生物技术、益生菌开发与应用, E-mail: cuishumao@jiangnan.edu.cn

多方面起了关键作用, 包括免疫、代谢和神经行为特征^[2]。肠道细菌可以发酵一些不可消化的底物, 产生短链脂肪酸, 并产生多种气体, 包括氢气、硫化氢、二氧化碳、甲烷等, 其中氢气在胃肠道菌群能量代谢中具有能量转化作用。许多对人类营养、疾病和健康密切相关的细菌的代谢通路均涉及到氢气^[3]。

肠道菌群组成处于一个不断变化的动态平衡中, 人体基因、饮食、环境及抗生素使用等, 均会对肠道

菌群组成产生一定程度上的影响。当饮食结构发生改变时,肠道菌群也会快速响应发生变化^[4],如食用抗性淀粉在某些人中可以提高青春双歧杆菌、直肠真细菌等的丰度^[5]。肠道菌群组成的改变与一些疾病的发生密切相关。如一些肠道细菌可以代谢膳食中的胆碱产生三甲胺,在肝脏内被转化成氧化三甲胺,与患动脉粥样硬化的风险增加呈正相关^[6]; Baothman 等^[7]研究发现肠道菌群在肥胖的发生和发展过程中起重要作用,肠道菌群失调可能通过多种机制促进饮食诱发的肥胖和代谢并发症。

益生元一般指不能被人体所消化吸收但可被人体微生物选择性利用,能够改善肠道微生物组成和活性从而有益于人体健康的食物成分^[8],促进肠道内有益菌的增殖,从而调节肠道菌群。益生菌是一类活的微生物,当摄入足够量时,会对宿主健康产生有益作用^[9]。目前,益生菌主要是一些双歧杆菌和乳杆菌,可以存在于固体饮料、发酵乳制品、膳食补充剂或药物等多种产品中。一方面,益生菌能够在肠道内稳定定殖,调节肠道菌群组成^[10];另一方面,益生菌通过发酵未被消化的碳水化合物产生短链脂肪酸,为肠上皮细胞提供能量,进而影响肠上皮屏障和调节天然免疫细胞及 T 细胞、B 细胞介导的特异性免疫。

目前,针对一些肠道菌群紊乱相关的疾病治疗中,通常会采用多种益生菌进行组合,或者结合益生菌和益生元进行干预,以提高干预效果。本实验拟开展一种复合益生菌制剂的人群干预研究,通过高通量测序技术分析干预前后志愿者的肠道菌群组成,评价该复合益生菌制剂的干预效果,为益生菌制剂的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

复合益生菌制剂,包括低聚果糖(40%)、菊粉(50%)、青春双歧杆菌、两歧双歧杆菌、嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌、鼠李糖乳杆菌和植物乳杆菌,其总活菌数为 100 亿 CFU/袋,购自苏州晒泰克生物科技有限公司;细菌基因组提取试剂盒 Fast DNA Spin Kit for feces,购自美国 MP Biomedicals 公司;2×Taq master mix 预混液,购自江苏康为世纪生物科技有限公司;引物(341F 和 806R)、琼脂糖,购自生工生物工程(上海)有限公司;胶回收试剂盒,购自杭州倍沃医学科技有限公司;Qubit dsDNA BR reagent 染料,美国 Life Invitrogen 公司;TruSeq DNA HT Sample Preparation Kit、KAPA biosystems library quantification Kit 试剂盒、

上机测序试剂盒 MiSeq Reagent Kit v3,购自美国 Illumina 公司。

1.2 仪器与设备

快速核酸提取仪 FastPrep-24,美国 MP 公司;超低温冰箱,美国 Thermo Scientific 公司;冷冻离心机,德国 Eppendorf 公司;PCR 仪、凝胶成像仪,美国 Bio-Rad 公司;UV-2000 切胶仪,上海天能科技有限公司;Qubit 3.0 荧光定量仪,美国 Life Invitrogen 公司;MiSeq 测序仪,美国 Illumina 公司;Agilent Bioanalyzer 2100,美国安捷伦公司。

1.3 实验方法

1.3.1 志愿者招募及干预

本实验共招募 15 名志愿者(7 名男性,8 名女性),年龄在 50~70 岁之间(平均年龄为 61.5 岁)。每天采用温水服用 1 袋复合益生菌制剂(3 g/袋),连续服用 28 d,服用前与连续服用 28 d 后分别收集粪便,储藏于-80 °C,备用。

1.3.2 细菌基因组的提取

参照 Hanskia 等^[11]的方法,按照 Fast DNA Spin Kit for feces 试剂盒的说明书提取粪便样品中的细菌基因组,并保存于-80 °C 冰箱备用。

1.3.3 细菌 16S rDNA 的 V3-V4 区的 PCR 扩增

以提取的细菌基因组为模板,采用引物(341F: CCTAYGGGRBGCASCAG, 806R: GGACTACNNGG GTATCTAAT),扩增 16S rDNA 的 V3-V4 区,片段大小为 466 bp。不同样品用 7 个碱基组成的 barcode(5'-端)进行区分,反应体系为(50 μL):模板 1 μL,上游引物 341F: 0.5 μL,下游引物 806R: 0.5 μL,2×Taq PCR Mix 预混液 25 μL,双蒸水 23 μL。

PCR 反应条件为:95 °C 5 min;95 °C 30 s→52 °C 30 s→72 °C 30 s,30 个循环;72 °C 10 min,12 °C 10 min。PCR 反应结束后,进行 1.0% 琼脂糖凝胶电泳,电压 120 V,时间 60 min。电泳结束后,进行胶回收与定量。

1.3.4 V3-V4 区 PCR 产物的胶回收与定量

经琼脂糖凝胶电泳获得带目的条带的胶体,利用切胶仪将目的片段(466 bp)切下,按照胶回收试剂盒的说明书回收 PCR 产物。PCR 产物回收后,保存于-20 °C 冰箱备用。

纯化后的 DNA,按照 Qubit 3.0 荧光定量仪的说明书测定其浓度(ng/μL)。

1.3.5 文库构建与上机测序

根据 DNA 浓度的定量结果,按等质量浓度混合

样品, 总体积为 50 μL , 样品总量为 200 ng, 样品数量 < 50。按照 TurSeq DNA HT Sample Preparation Kit 试剂盒说明书构建文库, 主要包括末端修复、3'端加 A、接头连接以及 PCR 扩增等步骤。

文库构建后, 采用 Agilent Bioanalyzer 2100 生物分析仪测定 DNA 片段大小, 然后利用 KAPA biosystems library quantification kit 试剂盒说明书精确测定 DNA 的浓度, 然后将构建好的文库经过稀释、变性, 最后加入已融化的上机试剂盒 MiSeq Reagent Kit v3, MiSeq 测序仪上机测序。

1.3.6 生物信息学分析

测序完成后, 使用简单的 unix 命令按照 barcode 序列将下机数据拆分成单个样品的 fastq 文件, 利用 cutadapt 软件去除 V3-V4 区域扩增的引物, Qiime2-DADA2 包对测序数据进行预处理, 包括过滤有噪声的序列、矫正错误序列、去除嵌合体序列以及去除出现一次的低频序列, 最后合并降噪后的双端序列。DADA2 对去噪的序列直接去冗余形成相似度为 100% 的 features。通过 Ribosomal Database Project (RDP) Naive Bayes classifier^[12]鉴定 OTU 种类型。

利用 greengenes 数据库与序列进行比对, 采用 FastTree 构建系统进化树, 确定肠道菌群物种。绘制稀释曲线, 计算样品的 α -多样性和 β -多样性; 采用主坐标分析 (Principal Coordinates Analysis, PCoA) 可以直观反映肠道微生物群落整体差异, 样本组成越相似, 其在 PCA 图上的距离越近^[13]; 肠道菌群特定差异菌属利用线性判别分析 (linear discriminant analysis, LDA) 效应大小 (effect size, LEfSe) 进行分析探究。

2 结果与分析

2.1 稀释曲线

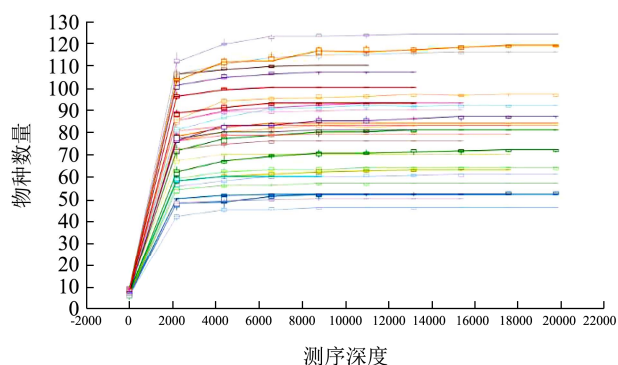


图1 稀释曲线

Fig.1 The rarefaction curve

本实验共收集 30 份粪便样品, 其中复合益生菌制剂干预前样品 15 份, 干预后样品 15 份。通过 MiSeq

高通量测序, 30 个样品共产生 623,655 条高质量的 16S rDNA 的 V3-V4 区序列, 平均每个样品 20,788 条, 共产生 733 个 features, 由测序深度与观测到的物种数量制作的稀释曲线如图 1 所示。在本实验当前测序量下, 样品的稀释曲线进入平台期, 表明测序深度已经能够满足本实验菌群分析的目的。

2.2 粪便菌群的 α 多样性分析和 PCoA 分析

图 2 所示为粪便菌群的 α 多样性分析, 包括 Shannon 指数和 Evenness 指数, 并用 Anova 检验方法进行差异显著性检验。由 Shannon 指数箱线图 (图 2a) 可知, 复合益生菌制剂干预前后, 肠道菌群的 Shannon 指数未发生显著改变 ($p=0.47$), 这说明干预前后肠道微生物的多样性无发生显著性的差异; 由 Evenness 指数图可知, 复合益生菌制剂干预前后样品的均匀度也未发生显著改变 ($p=0.48$), 进一步说明复合益生菌制剂对个体的均匀程度影响较小。

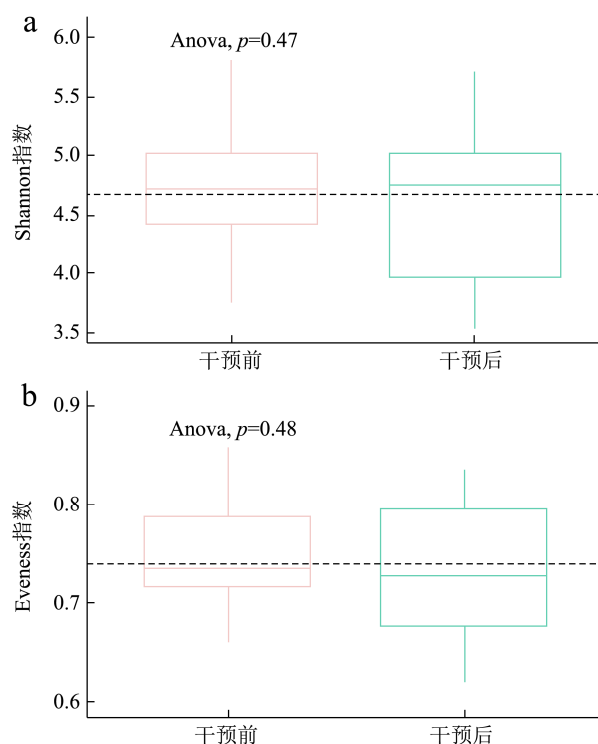


图2 样品的 α 多样性-Shannon 指数箱线图 (a) 和 Evenness 指数箱线图 (b)

Fig.2 The α -diversity of samples including Shannon index (a) and Evenness index (b)

基于加权 UniFrac 距离、未加权 UniFrac 距离和 Bray 算法对所有样品的菌群数据进行 PCoA 分析, 发现复合益生菌制剂干预前, 15 名志愿者的样品在 PCoA 图中分布较为离散。在 3 种不同算法下得到一致的结果, 表明肠道菌群存在明显的个体差异性。复合益生菌制剂干预后, 15 名志愿者的样品在 PCoA 图

中分布较为聚集，并未明显分开，这可能是由于干预时间比较短导致的。

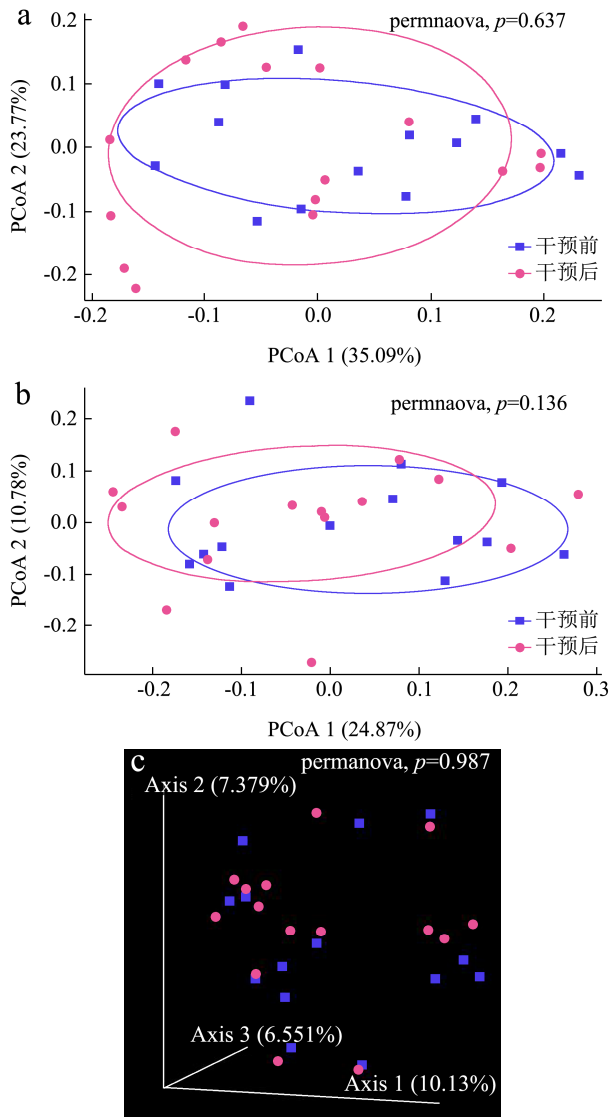


图3 基于加权 UniFrac 的 PCoA 主坐标分析图 (a)、未加权 UniFrac 的 PCoA 主坐标分析图 (b) 和基于 Bray 算法 (c) 的 PCoA 主坐标分析图

Fig.3 The PCoA analysis based on the weighted UniFrac distance (a), the PCoA analysis based on unweighted UniFrac distance (b) and the PCoA analysis based on Bray distance (c)

2.3 复合益生菌制剂干预对肠道菌群组成的影响

影响

在门水平上，志愿者粪便样品中共检测到 7 个门，包括放线菌门 (Actinobacteria)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、蓝细菌门 (Cyanobacteria)、厚壁菌门 (Firmicutes)、变形菌门 (Proteobacteria)、柔壁菌门 (Tenericutes) 和疣微菌门 (Verrucomicrobia) (图 4)。复合益生菌制剂干预前，志愿者的肠道菌群中相对丰

度最大的是厚壁菌门 (68.5%)，其次是放线菌门 (15.2%)，变形菌门 (10.6%) 和拟杆菌门 (5.5%)。复合益生菌制剂干预后，粪便样品中厚壁菌门和放线菌门的相对丰度增加，但无统计学显著性，这可能与制剂中主要包括乳杆菌和双歧杆菌有关，乳杆菌属于厚壁菌门，而双歧杆菌属于放线菌门。此外复合益生菌制剂中含有菊粉和低聚果糖能有效提高放线菌门的丰富度^[14]。而复合益生菌制剂干预后，粪便中拟杆菌门和变形菌门的相对丰度减少，但无显著性差异。先前研究表明一型糖尿病患者中拟杆菌门的丰富度明显增加，这会影响宿主 TLR2/TLR4 基因的表达^[15]。因此，降低拟杆菌门有利于改善宿主健康。

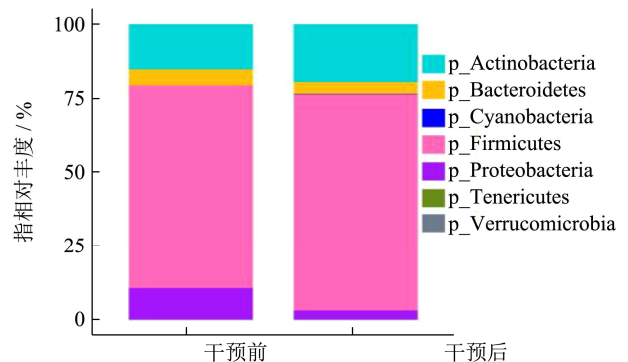


图4 复合益生菌制剂干预前后肠道菌群组成的变化 (门水平)
Fig.4 Changes in the composition of intestinal microbiota at the phylum level before and after compound probiotics intervention

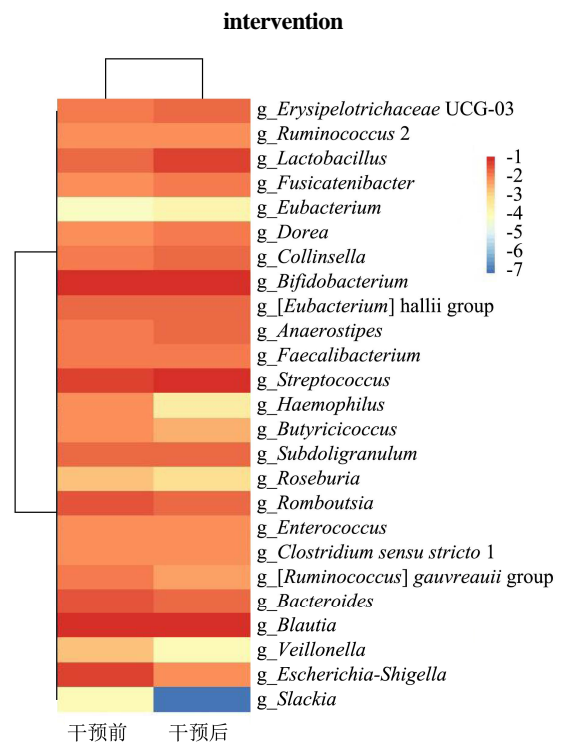


图5 复合益生菌制剂干预前后肠道菌群组成的变化 (属水平)
Fig.5 Changes in the composition of intestinal microbiota at the genus level before and after compound probiotics intervention

在属水平上, 粪便样品中共检测到 143 个属, 其中相对丰度在前 25 位的属的变化如图 5 所示, 其中 20 个属的相对丰度在 1% 以上。复合益生菌制剂干预前, 志愿者粪便菌群中相对丰度最大的属为布劳特氏菌属 (*Blautia*, 17.0%), 这是一个较为新兴的物种分类, 广泛存在于哺乳动物的粪便和肠道中, 其丰度与慢性疾病包括炎症性肠病、结肠癌、肥胖、糖尿病等密切相关^[16-19], 其次为双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*, 12.7%), 链球菌属 (*Streptococcus*)、埃希氏菌-志贺氏菌属 (*Escherichia-Shigella*, 7.3%)、罗姆布茨菌属 (*Romboutsia*, 5.0%)、拟杆菌属 (*Bacteroides*, 4.2%)、霍氏真杆菌属 (*Eubacterium hallii* group, 3.5%) 和乳杆菌属 (*Lactobacillus*, 3.5%) 也具有相对较高的相对丰度。复合益生菌制剂干预后, 布劳特氏菌属的相对丰度降低 (由 17.0% 降至 16.3%), 12 个属的相对丰度增加, 包括霍氏真杆菌属、棒状菌属 (*Anaerostipes*)、柯林斯菌属 (*Collinsella*)、多尔氏菌属 (*Dorea*)、丹毒丝菌属 (*Erysipelotrichaceae* UCG-003)、真细菌属 (*Eubacterium*)、柔嫩梭菌属 (*Faecalibacterium*)、纺锤链杆菌属 (*Fusicatenibacter*)、乳杆菌属、瘤胃球菌属和链球菌属。乳杆菌属相对丰度的增加, 对宿主健康会产生有益的影响; 柔嫩梭菌属相对丰度的增加能提高肠道内丁酸含量, 改善肠道炎症^[20]。然而, 这些属相对丰度的增加并不显著。

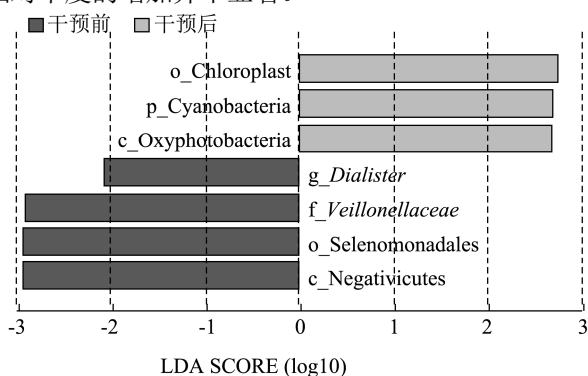


图 6 复合益生菌制剂干预前后肠道菌群发生显著变化的种属分析-LEfSe 分析

Fig.6 Linear discriminant analysis effect size (LEfSe) analysis of the different intestinal microbiota before and after compound probiotics intervention

由 LEfSe 分析 (图 6) 可知, 复合益生菌制剂干预后, Chloroplast (目)、Cyanobacteria (门) 和 Oxyphotobacteria (纲) 的相对丰度显著高于干预前, 而 *Dialister* (属)、*Veillonellaceae* (科)、*Selenomonadales* (目) 和 *Negativicutes* (纲) 的相对丰度显著低于干预前。先前研究发现, *Cyanobacteria* 在高脂饮食小鼠中具有较低丰富度, 因此, 高丰富度 *Cyanobacteria* 可

能会增加患高血脂症的风险^[21]。

2.4 复合益生菌制剂干预对肠道内产氢气细菌相对丰度的影响

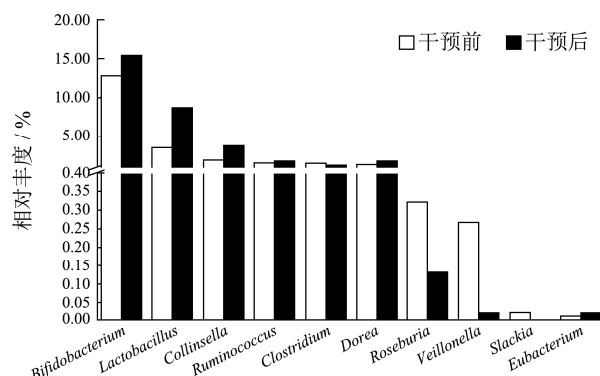


图 7 复合益生菌制剂干预前后肠道内主要产氢气属的相对丰度变化

Fig.7 Changes in the relative abundance of the hydrogen-producing bacteria in the intestinal tract before and after compound probiotics intervention

除双歧杆菌属和乳杆菌属外, 肠道内还有一些产氢气的细菌对宿主健康具有重要的影响。根据 Wolf 等人^[22]的研究, 并结合《Bergey's Manual of Systematic Bacteriology》(《伯杰氏系统细菌学手册》)^[23,24], 分析了肠道内主要产氢气细菌的相对丰度的变化, 主要包括柯林斯菌属 (*Collinsella*)、瘤胃球菌属 (*Ruminococcus*)、梭状芽孢杆菌属 (*Clostridium*)、多尔氏菌属、罗斯氏菌属 (*Roseburia*)、韦荣球菌属 (*Veillonella*)、斯莱克氏菌属 (*Slackia*) 和真细菌属 (*Eubacterium*) 等 8 个属。复合益生菌制剂干预后, 粪便样品中双歧杆菌属、乳杆菌属、柯林斯菌属、瘤胃球菌属、多尔氏菌属和真细菌属的相对丰度增加, 但增加不显著。然而, 梭状芽孢杆菌属、罗斯氏菌属、韦荣球菌属和斯莱克氏菌属的相对丰度减少, 但无统计学显著性。

以上结果表明, 复合益生菌制剂干预会改变肠道菌群组成, 其中双歧杆菌属、乳杆菌属、柯林斯菌属、瘤胃球菌属、多尔氏菌属 *Dorea* 和真细菌属相对丰度增加, 但存在个体差异。

3 结论

本文通过分析 15 名志愿者在服用复合益生菌制剂前后的肠道结构的变化, 探索复合益生菌制剂对肠道菌群结果的影响。服用复合益生菌制剂能改变肠道内一些微生物的丰富度, 对肠道内一些产氢气细菌的丰度产生影响, 但无统计学显著性, 这可能与干预

时间有关系。且由于个体肠道菌群差异以及一些不可控因素的存在, 人群干预实验的检测指标通常具有较大的离散性、差异较大, 但积极开展人群干预实验对于产品开发与评价, 具有非常重要的指导意义。

参考文献

- [1] Vujkovic-cvijin I, Sklar J, Jiang L, et al. Host variables confound gut microbiota studies of human disease [J]. *Nature*, 2020, 587: 448-454
- [2] Valdes A M, Walter J, Segal E, et al. Role of the gut microbiota in nutrition and health [J]. *BMJ*, 2018, 361: k2179
- [3] Kalantar-zadeh K, Borean K J, Burgell R E, et al. Intestinal gases: influence on gut disorders and the role of dietary manipulations [J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2019, 16(12): 733-747
- [4] Von Schwartzberg R J, Bisanz J E, Lyalina S, et al. Caloric restriction disrupts the microbiota and colonization resistance [J]. *Nature*, 2021, 595: 272-277
- [5] Venkataraman A, Sieber J R, Schmidt A W, et al. Variable responses of human microbiomes to dietary supplementation with resistant starch [J]. *Microbiome*, 2016, 4: 33
- [6] Tang W H, Wang Z, Levison B S, et al. Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk [J]. *New England Journal of Medicine*, 2013, 368: 1575-1584
- [7] Baothman O A, Zamzami M A, Taher I, et al. The role of gut microbiota in the development of obesity and diabetes [J]. *Lipids in Health and Disease*, 2016, 15: 108
- [8] Gibson G R, Hutkins R, Sanders M E, et al. The international scientific association for probiotics and prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics [J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2017, 14(8): 491-502
- [9] Hill C, Guarner F, Reid G, et al. Expert consensus document. The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic [J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2014, 11: 506-514
- [10] Maldonado-gómez M X, Martínez I, Bottacini F, et al. Stable engraftment of *Bifidobacterium longum* AH1206 in the human gut depends on individualized features of the resident microbiome [J]. *Cell Host Microbe*, 2016, 20: 515-526
- [11] Hanskia I, Von Hertzen L, Fyhrquist N, et al. Environmental biodiversity, human microbiota, and allergy are interrelated [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(21): 8334-8339
- [12] Wang Q, Garrity G M, Tiedje J M, et al. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(16): 5261-5267
- [13] Lozupone C, Knight R. UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(12): 8228-8235
- [14] 谷佳玉. 低聚果糖显著性促进小鼠体内双歧杆菌增殖的机制研究[D]. 无锡: 江南大学, 2018
GU Jiayu. Study of the mechanism of significant proliferation of *Bifidobacterium* promoted by fructooligosaccharides in mice [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2018
- [15] Ozturkoglu-budak S, Akal H C, Buran I, et al. Effect of inulin polymerization degree on various properties of synbiotic fermented milk including *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* Bb-12 [J]. *Journal of Dairy Science*, 2019, 102(8): 6901-6913
- [16] CHEN Liping, WANG Wei, ZHOU Rui, et al. Characteristics of fecal and mucosa-associated microbiota in Chinese patients with inflammatory bowel disease [J]. *Medicine*, 2014, 93(8): e51
- [17] Nishino K, Nishida A, Inoue R, et al. Analysis of endoscopic brush samples identified mucosa-associated dysbiosis in inflammatory bowel disease [J]. *Journal of Gastroenterology*, 2018, 53(1): 95-106
- [18] Wang W, Yang S, Song S, et al. *Flammulina velutipes* mycorrhizae dietary fiber improves lipid metabolism disorders in obese mice through activating AMPK signaling pathway mediated by gut microbiota [J]. *Food Bioscience*, 2021, 43: 101246
- [19] Liu X, Guo W, Cui S, et al. A comprehensive assessment of the safety of *blautia producta* DSM 2950 [J]. *Microorganisms*, 2021, 9(5): 908
- [20] 臧凯丽, 江岩, 孙勇, 等. 微生态制剂调节便秘腹泻人群肠道菌群结构与产短链脂肪酸关键菌属的相关性[J]. *食品科学*, 2018, 39(5): 155-165
ZANG Kaili, JIANG Yan, SUN Yong, et al. Relationship between microecology and the expression of short chain fatty acids synthesis genes in key bacterial genera in the regulation of intestinal flora structure in populations with constipation and diarrhea [J]. *Food Science*, 2018, 39(5): 155-165

(下转第 113 页)