

# 基于高通量测序分析毛菊苣醇提物对 db/db 小鼠肠道菌群的影响

康金森, 闫俊林, 张芮, 仲烨伟, 谭惠文, 阿达来提·阿布都热西提, 仝凤莲, 马晓丽\*  
(新疆医科大学药学院, 新疆乌鲁木齐 830011)

**摘要:** 该文探究毛菊苣醇提物对糖尿病小鼠 (db/db 小鼠) 肠道菌群的影响。该研究以 m/m 小鼠为正常对照组 (CON 组), db/db 小鼠随机分为模型组 (MOD 组)、二甲双胍组 (MET 组)、毛菊苣醇提物低剂量组 (CGL 组)、毛菊苣醇提物高剂量组 (CGH 组)。灌胃给药 8 周, 对小鼠体质量、空腹血糖、肝脏总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG) 进行分析, 对小鼠粪便进行 16S rRNA 测序分析, 探究毛菊苣醇提物对小鼠肠道菌群的影响。毛菊苣醇提物高剂量组可调节 db/db 小鼠体质量及血糖, 显著降低 db/db 小鼠 TC、TG 水平 ( $P < 0.05$ ); 测序结果显示 CON 组、MOD 组、CGH 组三组小鼠肠道菌群情况存在差异, 毛菊苣醇提物给药可改善 db/db 小鼠的肠道菌群失调, 上调 db/db 小鼠肠道菌群中有益菌双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*)、*Romboutsia*、普雷沃氏菌属 (*Prevotella*) 菌群相对丰度。研究证明了毛菊苣醇提物给药能调节 db/db 小鼠肠道菌群, 通过提高有益菌相对丰度调节糖脂代谢, 可为新疆地产毛菊苣药材资源的开发利用提供全新的研究思路。

**关键词:** 毛菊苣; 2 型糖尿病; db/db 小鼠; 肠道菌群; 高通量测序

文章编号: 1673-9078(2024)05-1-7

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.5.0424

## Analysis of the Effects of Ethanol Extracts from *Cichorium glandulosum* on the Intestinal Flora of db/db Mice Based on High-throughput Sequencing

KANG Jinsen, YAN Junlin, ZHANG Rui, ZHONG Yewei, TAN Huiwen, ADALAITI Abdurixit,  
TONG Fenglian, MA Xiaoli\*

(School of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

**Abstract:** The effects of ethanol extracts obtained from *Cichorium glandulosum* on the intestinal microbiota of diabetic mice (db/db mice) were investigated. In this study, m/m mice served as the normal control group (CON group), while db/db mice were randomly divided into the model group (MOD group), metformin-treated group (MET group), low-dose ethanol extract-treated group (CGL group), and high-dose ethanol extract-treated group (CGH group). After intragastric administration of ethanol extracts from *Cichorium glandulosum* for eight weeks, the body weight, fasting blood glucose levels, liver total cholesterol (TC) levels, and liver triglyceride (TG) content in mice were analyzed. Additionally, 16S rRNA

引文格式:

康金森, 闫俊林, 张芮, 等. 基于高通量测序分析毛菊苣醇提物对 db/db 小鼠肠道菌群的影响 [J]. 现代食品科技, 2024, 40(5): 1-7.

KANG Jinsen, YAN Junlin, ZHANG Rui, et al. Analysis of the effects of ethanol extracts from *Cichorium glandulosum* on the intestinal flora of db/db mice based on high-throughput sequencing [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(5): 1-7.

收稿日期: 2023-04-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81760753); 自治区天山英才青年拔尖人才项目 (2022TSYCCX0104)

作者简介: 康金森 (1978-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 分子药理学与新药研发, E-mail: 20807655@qq.com

通讯作者: 马晓丽 (1980-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 糖尿病机制及抗糖尿病新药研究, E-mail: mxl108@sohu.com

sequencing analysis was performed on fecal samples of mice to investigate the changes in their intestinal microbiota after the treatment. It was discovered that the high-dose ethanol extract can regulate the body weight and blood glucose levels of db/db mice and significantly reduce the levels of TC and TG in db/db mice ( $P < 0.05$ ). In the meantime, the 16S rRNA sequencing results showed noticeable differences in the intestinal microbiota among the CON, MOD, and CGH groups. The administration of ethanol extracts from *Cichorium glandulosum* improved the intestinal dysbiosis in db/db mice and upregulated the relative abundance of beneficial bacteria such as *Bifidobacterium*, *Romboutsia*, and *Prevotella* in the intestinal microbiota. This study has shown that the ethanol extract from *Cichorium glandulosum* can regulate the intestinal microbiota of db/db mice and regulate glucose and lipid metabolism by increasing the relative abundance of beneficial bacteria. This can provide new insights for the development and utilization of *Cichorium glandulosum* from Xinjiang as a medicinal resource.

**Key words:** *Cichorium glandulosum*; type 2 diabetes; db/db mice; intestinal flora; high throughput sequencing

糖尿病 (T2DM) 是一种世界范围内高发性的代谢性疾病, 预估到 2045 年全球 20 岁至 79 岁的糖尿病患者将达到 7.832 亿人, 其中中国糖尿病患者最多预计达 1.74 亿<sup>[1]</sup>。肠道菌群被誉为机体的“第二套基因组”<sup>[2]</sup>, 目前已被证实与 T2DM 的发病存在密切关联<sup>[3]</sup>。Bryrup 等<sup>[4]</sup>发现口服二甲双胍的健康年轻男性志愿者肠道菌群构成发生显著变化, 双歧杆菌属的相对丰度显著增加, 认为二甲双胍有可能在 T2DM 患者中引起肠道微生物群的变化发挥治疗糖尿病作用; Manoj 等<sup>[5]</sup>总结发现肠道微生物群双歧杆菌属与拟杆菌属的相对丰度与 T2DM 呈负相关。由此可见, 关注肠道菌群的变化对治疗 T2DM 具有重要意义。

菊科菊苣属植物毛菊苣 (*Cichorium glandulosum* Boiss. Et Huet) 是产于新疆地区的特色药食两用资源, 具有保肝、降血糖、调节血脂等功效<sup>[6,7]</sup>。赵海清等<sup>[8]</sup>发现毛菊苣提取物可显著降低 2 型糖尿病模型 wistar 大鼠血糖, 并调节血脂; 刘鹏举等<sup>[9]</sup>采用天然菊苣菊粉干预治疗 T2DM 患者 8 周后, 空腹血糖与对照组相比明显降低, 但有关毛菊苣醇提物能否通过调节肠道菌群调节糖脂代谢尚未见报道。

16S rRNA 技术因其快速、高效的特点, 正被广泛应用于肠道菌群研究, 陈玉子等<sup>[10]</sup>采用 16S rRNA 技术成功分析菠萝蜜多糖对昆明小鼠肠菌构成的影响。本文基于 16S rRNA 高通量测序技术分析毛菊苣醇提物干预 db/db 小鼠后肠道菌落构成, 旨在探究毛菊苣醇提物对 db/db 小鼠肠菌构成的影响, 探讨毛菊苣糖脂代谢的可能机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

6 周龄的雄性 SPF 级 C57/KSJ db/db 小鼠、C57/KSJ m/m 小鼠, 常州卡文斯实验动物有限公司

[许可证号: SCXK (苏) 2016-0010], 动物实验经新疆医科大学实验动物伦理委员会批准 (伦理批文号: IACUC-20210422-07), 实验严格遵照新疆医科大学国际、国内及相关机构动物实验中心动物实验福利指南; 毛菊苣药材购自新疆和田地区墨玉县, 经新疆医科大学药学院中药化学教研室徐海燕教授鉴定为毛菊苣全草。

### 1.2 试剂

盐酸二甲双胍片, 中美上海施贵宝制药有限公司 (批号: ABV4530); 总胆固醇试剂盒 (TC), 南京建成生物工程研究所 (批号: A111-1-1); 甘油三酯试剂盒 (TG), 南京建成生物工程研究所 (批号: A110-1-1)。

### 1.3 仪器与设备

电子天平, 北京赛多利斯仪器系统有限公司; 血糖仪 (含配套试纸), 德国罗氏诊断有限公司; 4 °C 低温高速离心机, 上海力申科学仪器有限公司; -80 °C 冰箱, 赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司; -20 °C 冰箱, 青岛海尔特种电器有限公司。

### 1.4 实验方法

#### 1.4.1 毛菊苣醇提取物的制备

将毛菊苣全草称重后, 粉碎机少量多次粉碎, 得毛菊苣粉末。毛菊苣粉末浸泡于 6 倍量的 75% 体积分数乙醇中过夜。次日使用提取浓缩机制备滤液, 提取加热温度设为 120 °C, 提取物料温度设为 90 °C, 实际温度保持在 69 °C 进行加热提取。将所得滤液进行水浴烘干, 烘干溶剂制得浸膏粉, 浸膏粉再经冷冻干燥, 得实验材料毛菊苣醇提物。

#### 1.4.2 动物分组及处理

db/db 小鼠、m/m 小鼠饲养于新疆医科大学动物实验中心 SPF 级动物房, 温度 (25 ± 1) °C, 相对

湿度 55%~65%，昼夜节律 12 h。适应性饲养 2 周，正常组为 m/m 小鼠，db/db 小鼠随机分为 MOD 组、MET 组、CGL 组、CGH 组，每组 10 只小鼠，共 5 组。具体分组及灌胃给药情况见表 1，灌胃给药持续 8 周。

表 1 小鼠分组及给药情况

组号	组别	剂量
CON	正常组	蒸馏水
MOD	模型组	蒸馏水
MET	二甲双胍组	盐酸二甲双胍 2 200 mg/kg
CGL	毛菊苣醇提取物低剂量组	毛菊苣醇提取物 100 mg/kg
CGH	毛菊苣醇提取物高剂量组	毛菊苣醇提取物 200 mg/kg

### 1.4.3 样品采集

#### 1.4.3.1 体质量、血糖检测

小鼠在第 0 周、第 8 周同一时间禁食 12 h 不禁水，测小鼠体质量。测完体质量后，采用尾静脉取血法、血糖仪和血糖试纸测小鼠空腹血糖水平。记录小鼠体质量和空腹血糖数值。

#### 1.4.3.2 肝脏生化指标检测

小鼠肝脏称重后，按照试剂盒说明书检测肝脏总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)。

#### 1.4.3.3 粪便的采集

给药结束后，第 8 周收集小鼠粪便放入无菌保存管，置于 -80 °C 冰箱，所有样本均由同一个实验人员收集。

### 1.4.4 样品生物信息分析

(1) 聚合酶链式反应 (PCR) 扩增：首先提取样本总基因组 DNA，并使用琼脂糖凝胶电泳法检测其纯度和浓度。然后，将 DNA 样品稀释至 1 ng/μL。接下来，使用 16S V3-V4 引物 515F (5'-GTGCCAGCMCCGCGTAA-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 进行 PCR 扩增，并添加相应酶和缓冲液。通过琼脂糖凝胶电泳法检测 PCR 扩增产物，然后将 PCR 产物混合并进行纯化。最后，在 400~450 bp 范围内选择目的条带进行割胶回收。

(2) 高通量测序技术：首先根据数据库构建试剂盒，构建测序文库，并对文库质量进行系统定量评价。使用 Illumina NovaSeq 平台进行测序，并根据 Barcode 序列和 PCR 扩增引物序列对样本数据进行筛分，以确保每个样品测序数据的准确性和可靠性。然后使用 FLASH 软件对测序数据进行拼接，

得到拼接的原始 Tags 数据，为后续数据处理做准备。接下来对原始数据进行 Qiime 质控，过滤掉低质量值 (质量阈值 ≤ 19) 和短长度 (默认长度值为 3) 的 Tags，得到高质量的 Tags 数据，以提高测序数据的准确性和可靠性。最后将 Tags 序列与物种注释数据库进行比对检测，去除嵌合体序列，得到有效数据，以确定测序数据的物种组成成分。

(3) 生物信息学分析：使用 Uparse 算法对所有样本的有效数据进行聚类，将相似度达到 97% 的序列聚类为一个操作性分类单元 (OTU)。选取频率最高的序列作为 OTUs 代表序列，并使用 MUSCLE 软件进行多序列比对，得到 OTUs 代表序列的系统发生关系。接着，根据样本中数据量最小原则进行均一化处理，得到用于后续分析的数据。使用 Qiime 软件计算  $\alpha$  多样性指数，进行  $\beta$  多样性分析，使用 R 软件绘制无度量多维标定法 (NMDS) 图，进一步分析样品间的差异关系。最后，使用 LEfSe 软件进行 LEfSe 分析，筛选 LDA 值 > 3.5 的特征，从而确定哪些肠道菌群群落特征在样品之间具有显著差异，为后续的生物功能分析提供基础。

## 1.5 统计学处理

采用 SPSS 26.0 (美国 IBM 公司) 软件进行数据统计分析，正态分布数据采用单因素方差分析，非正态分布数据采用秩和检验， $P < 0.05$  具有统计学差异；绘图采用 GraphPad Prism 8.4.0 软件。

## 2 结果与分析

### 2.1 毛菊苣醇提取物对 db/db 小鼠体质量、空腹血糖的影响

由表 2 分析可知，第 0 周时模型组及各给药组与 CON 组相比体质量和空腹血糖值差异显著 ( $P < 0.001$ )，各给药组与 MOD 组相比体质量和空腹血糖值差异不存在显著性差异。经持续灌胃给药 8 周后，MET 组与 MOD 组相比小鼠体质量差异显著 ( $P < 0.01$ )；CGL 组、CGH 组与 MOD 组相比体质量有上升趋势，无统计学差异。灌胃给药 8 周后，MET 组与 MOD 组相比空腹血糖值显著降低 ( $P < 0.05$ )。CGL 组、CGH 组与 MOD 组相比空腹血糖值存在降低趋势，无统计学差异。毛菊苣醇提取物给药后 db/db 小鼠的体质量、空腹血糖较模型组产生下降趋势，结果表明毛菊苣醇提取物可改善 db/db 小鼠体质量及空腹血糖情况。

表 2 毛菊苣醇提取物对 db/db 小鼠体质量与空腹血糖值的影响

Table 2 Effect of ethanol extract of chicory chicory on body weight and fasting blood glucose in db/db mice

组号	体质量/g		空腹血糖值/(mmol/L)	
	第 0 周体质量	第 8 周体质量	第 0 周空腹血糖值	第 8 周空腹血糖值
CON	20.85 ± 0.30	22.90 ± 0.17	4.52 ± 0.33	6.63 ± 0.35
MOD	38.40 ± 0.44 <sup>***</sup>	33.27 ± 0.93 <sup>***</sup>	23.52 ± 2.60 <sup>***</sup>	30.63 ± 1.50 <sup>***</sup>
MET	38.22 ± 0.50 <sup>***</sup>	39.03 ± 1.35 <sup>#</sup>	21.05 ± 0.82 <sup>***</sup>	27.42 ± 0.95 <sup>#</sup>
CGL	38.40 ± 0.70 <sup>***</sup>	33.90 ± 1.52	22.57 ± 2.27 <sup>***</sup>	28.15 ± 0.93
CGH	38.62 ± 0.61 <sup>***</sup>	35.63 ± 1.32	22.97 ± 0.65 <sup>***</sup>	28.93 ± 1.41

注: 数据均以均数 ± 标准误表示,  $n=6$ 。与正常组相比, \*表示  $P<0.05$ , 差异性显著, \*\*表示  $P<0.01$ , 差异性非常显著, \*\*\*表示  $P<0.001$ , 差异极显著; 与模型组相比, #表示  $P<0.05$ , 差异性显著, ##表示  $P<0.01$ , 差异性非常显著。

## 2.2 毛菊苣醇提取物对 db/db 小鼠肝脏脂质的影响

如图 1 所示, MOD 组与 CON 组小鼠相比 TC 含量升高, 但无统计学差异, 毛菊苣各给药组的 TC 值较 MOD 组显著下降 ( $P<0.05$ ); MOD 组与 CON 组相比其 TG 水平显著升高 ( $P<0.05$ ), CGH 组 TG 较 MOD 组产生显著下降 ( $P<0.05$ )。

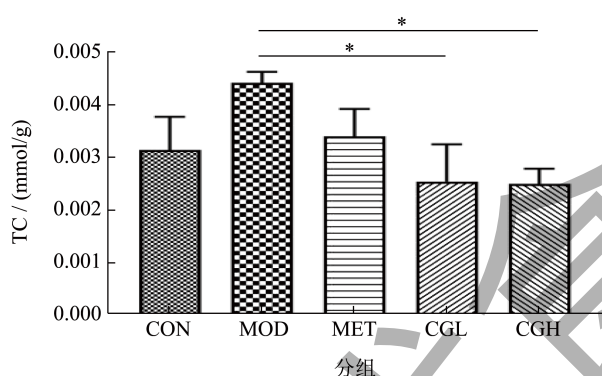


图 1 毛菊苣醇提取物对 db/db 小鼠 TC 的影响

Fig.1 Effect of ethanol extract of chicory on TC in db/db mice

注: 数据均以均数 ± 标准误表示,  $n=6$ 。\*表示  $P<0.05$ , 差异性显著, \*\*表示  $P<0.01$ , 差异性非常显著。下同。

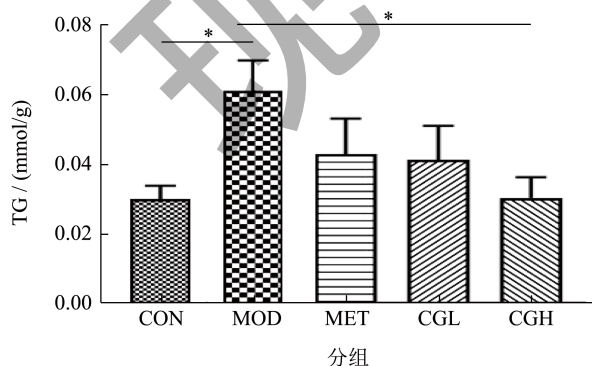


图 2 毛菊苣醇提取物对 db/db 小鼠 TG 的影响

Fig.2 Effect of ethanol extract of chicory on TG in db/db mice

毛菊苣醇提取物两组给药组 TC 含量较模型组存在显著差异, 毛菊苣醇提取物高剂量组 TG 含量显著

下降, 以上结果表明本研究中毛菊苣醇提取物可调节 db/db 小鼠 TC、TG。通过以上数据分析, 发现 CGH 组对 db/db 小鼠肝脏脂质作用较 CGL 组效果更佳, 综合以上考虑, 决定将 CGH 组作为毛菊苣醇提取物对 db/db 小鼠肠道菌群影响的重点分析对象。采用高通量测序技术, 进一步探讨毛菊苣醇提取物是否通过改变 db/db 小鼠肠道菌群构成调节脂质代谢。

## 2.3 毛菊苣醇提取物对 db/db 小鼠肠道菌群 $\alpha$ 多样性与 $\beta$ 多样性分析

$\alpha$  多样性分析用于反映各组肠道菌群结构的丰富度与多样性。采用 ACE 指数表征各组小鼠肠道菌群结构丰富度; Chao1 指数估计群落样品中包含的物种总数; Shannon 指数用于表征群落中物种分布的多样性; Good's Coverage 用以反映样本数据是否合理可用, 3 组数值均为 1, 表明检测到的样本数据可用于后续分析。

MOD 组与 CON 组相比 ACE 指数、Chao1 指数存在显著性差异 ( $P<0.01$ )。由表 3 可看出 CGH 组 ACE 指数相对 MOD 组产生下降趋势, 表明给药毛菊苣醇提取物后可以降低 db/db 小鼠肠道菌群结构丰富度; Chao1 指数表明 CGH 组相对 MOD 组而言群落结构中的物种总数产生下降趋势; Shannon 指数反映肠道菌群多样性, CGH 组 Shannon 指数相对 MOD 组产生下降趋势。

$\beta$  多样性分析用于分析不同组别的肠道菌群结构, 以反映不同组别间肠道菌群结构是否存在差异, 采用 OTUs 丰度信息进行进一步分析。本实验采用无度量多维标法定法 (NMDS) 分析不同组别小鼠的肠道菌群群落构成差异, 其中 Stress=0.148<0.2, 表明 NMDS 图能够准确反映不同组别小鼠肠道菌群

群落构成的差异程度。由图 3 分析得知各组间群落结构存在差异，CON 组和 MOD 组发生偏移，表明与正常组相比，模型组小鼠的肠道菌群发生改变。通过 200 mg/kg 剂量毛菊苣干预后，db/db 小鼠的肠道菌群群落结构发生变化，分析表明 CGH 组可参与调节 db/db 小鼠肠道菌群结构。

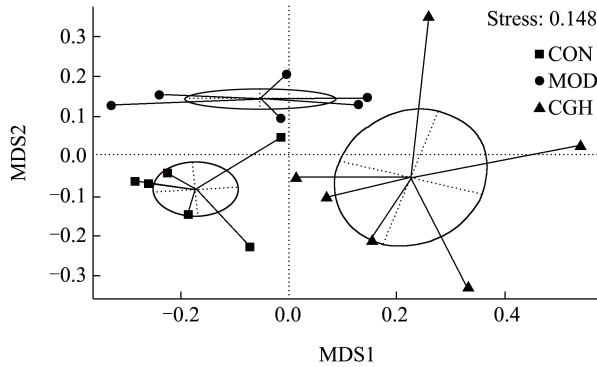


图 3 样本肠道菌群 NMDS 图

Fig.3 NMDS diagram of sample intestinal flora

注：同组小鼠样本采用同种标识，差异程度采用点与点之间的距离表示。

经过高通量测序结果可知，毛菊苣醇提取物给药后可改善 db/db 小鼠的菌群多样性，调节菌群结构。 $\alpha$ 多样性分析表明 CGH 组可逆转 db/db 小鼠肠道菌群丰富度指数 ACE 和物种总数 Chao1 上升趋势，逆转 db/db 小鼠肠道菌群多样性 Shannon 指数上升情况，文献报道 2 型糖尿病组相比健康对照组 Shannon 指数显著上升、ACE 指数产生上升趋势<sup>[11]</sup>，与本实验 Shannon 指数、ACE 指数趋势一致； $\beta$ 多样性分析表明 3 组小鼠的肠菌构成存在差异，CGH 组可调节 db/db 小鼠肠道菌群构成。通过以上结果分析推断，毛菊苣醇提取物可能通过调节 db/db 小鼠肠道菌群调节 db/db 小鼠糖脂代谢。

### 2.4 肠道菌群菌落组成及差异性分析

分析 CON 组、MOD 组、CGH 组小鼠粪便样本属水平相对丰度排名前 35 种的菌群，将 MND1、MIZ17、Christensenellaceae\_R-7\_group、

Lachnospiraceae\_NK4A136\_group、Rikenellaceae\_RC9\_gut\_group、unidentified Chloroplast 菌群合并为 unclassified。绘制物种丰度聚类热图见图 4，不同组别小鼠肠道菌群构成差异用不同颜色表示，菌群表达量用颜色深浅表示，颜色越深菌群表达量越高（红色为上调，蓝色为下调）。由图 4 热图分析可知，3 组小鼠的肠道菌群存在差异，毛菊苣醇提取物给药后可调节 db/db 小鼠的肠道菌群构成。

通过 SPSS 软件筛选分析属水平上肠道菌群的趋势变化及显著性差异，存在趋势变化菌群为拟普雷沃菌属 (*Alloprevotella*)、普雷沃氏菌属 (*Prevotella*)、双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*)、*Romboutsia*、*Dubosiella*、*Rikenellaceae\_RC9\_gut\_group*、*Desulfovibrio*、*Helicobacter*，其中正常组与模型组存在显著差异菌群为 *Romboutsia* ( $P < 0.01$ )、双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*) ( $P < 0.05$ )、普雷沃氏菌属 (*Prevotella*) ( $P < 0.05$ )，绘制小提琴图见图 5。

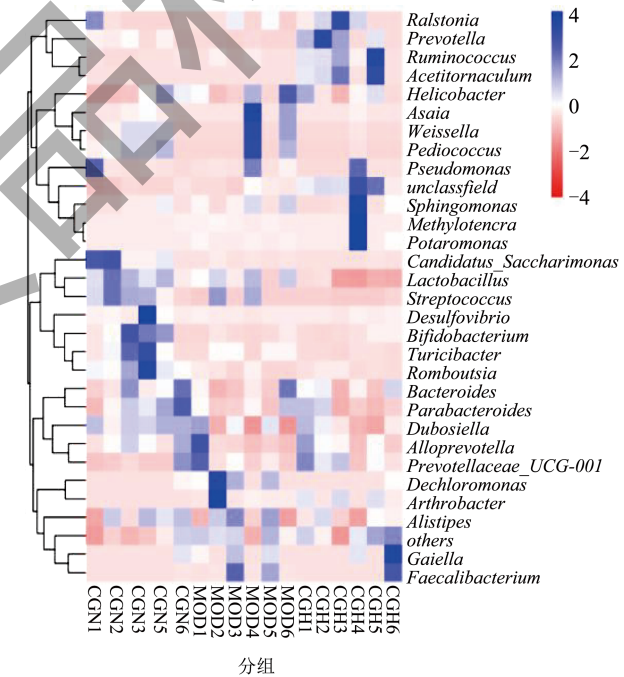


图 4 属水平丰度排名前 35 种菌群物种丰度聚类热图

Fig.4 Cluster heatmap of species abundance for the top 35 microbial communities ranked at the genus level

表 3  $\alpha$ 多样性分析各组指数比较结果

Table 3  $\alpha$  index comparison results of each group in diversity analysis

组别	ACE	Chao1	Shannon	Good's Coverage
CON	1 165.26 ± 231.87	1 154.98 ± 229.30	6.04 ± 0.20	1
MOD	2 464.71 ± 305.78**	2 438.68 ± 321.02**	7.14 ± 0.38	1
CGH	1 844.37 ± 318.48	1 820.91 ± 324.53	7.08 ± 0.53	1

注：数据均以均数±标准误差表示，n=6。与正常组相比，\*表示  $P < 0.05$ ，差异性显著，\*\*表示  $P < 0.01$ ，差异性非常显著。

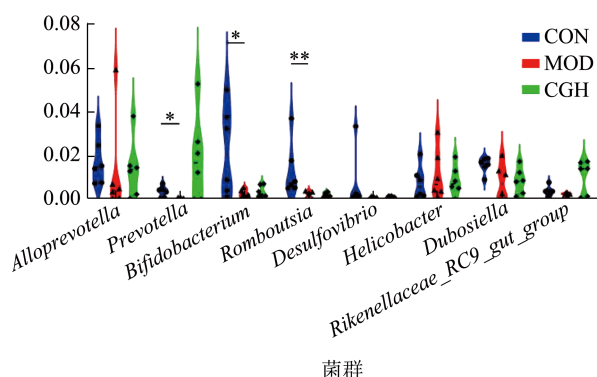


图5 属水平上 CON 组、MOD 组、CGH 组存在趋势变化菌群  
Fig.5 The trend of changing microbial communities in the CON group, MOD group, and CGH group at the genus level

属水平上 CON 组与 MOD 组的显著性差异菌群为 *Romboutsia* ( $P < 0.01$ )、*Bifidobacterium* ( $P < 0.05$ )、*Prevotella* ( $P < 0.05$ )。其中 *Romboutsia* 为专性厌氧菌属消化链球菌科<sup>[12]</sup>，是短链脂肪酸丁酸产生菌<sup>[13]</sup>，短链脂肪酸丁酸能够通过抑制炎症因子水平、炎症通路维持肠道稳态<sup>[14]</sup>。有研究表明属水平上<sup>[11]</sup>，2 型糖尿病 (T2DM) 组大鼠肠道菌群中 *Romboutsia* 菌群相对丰度较健康对照组下降，本实验中 CGH 组小鼠肠菌中 *Romboutsia* 菌群较 MOD 组产生上升趋势。

有益菌双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*) 可代谢产生短链脂肪酸乙酸，短链脂肪酸乙酸能影响肠道 pH 值阻止有害菌入侵保护肠粘膜屏障，保护肠道内环境稳态<sup>[14]</sup>，有研究<sup>[15]</sup>发现六堡茶具有良好的降血糖作用，并可显著缓解高血糖引起的代谢紊乱，其中低剂量六堡茶可显著提高 *Bifidobacterium* 相对丰度，本实验中 CGH 组中 *Bifidobacterium* 的相对丰度较 MOD 组上升。

普雷沃氏菌属 (*Prevotella*) 为革兰氏阴性厌氧菌，与有益菌拟杆菌属 (*Bacteroides*) 在拟杆菌门中占主导地位<sup>[16]</sup>。有研究<sup>[17]</sup>发现 *Prevotella* 可在体外利用阿拉伯木聚糖产短链脂肪酸丙酸，短链脂肪酸丙酸可抑制胆固醇合成<sup>[18]</sup>，而 Eriksen 等<sup>[19]</sup>研究推断黑麦的降脂作用可能由阿拉伯木聚糖引起，推测 *Prevotella* 菌可能通过利用阿拉伯木聚糖发挥降脂作用；Zhuang 等<sup>[20]</sup>发现二十碳五烯酸 (EPA)/二十二碳六烯酸 (DHA) 可富集短链脂肪酸产生菌 *Prevotella*，改善 db/db 小鼠的糖代谢紊乱和胰岛素抵抗。*Romboutsia*、双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*)、普雷沃氏菌属 (*Prevotella*) 均为短链脂肪酸产生菌，进一步推测毛菊苣醇提取物给药可能通过增加

db/db 小鼠肠道菌群中 *Romboutsia*、*Bifidobacterium*、*Prevotella* 的相对丰度后，增加短链脂肪酸产量，进一步调节 db/db 小鼠糖脂代谢紊乱现象。

## 2.5 LEfSe多级物种差异判别分析

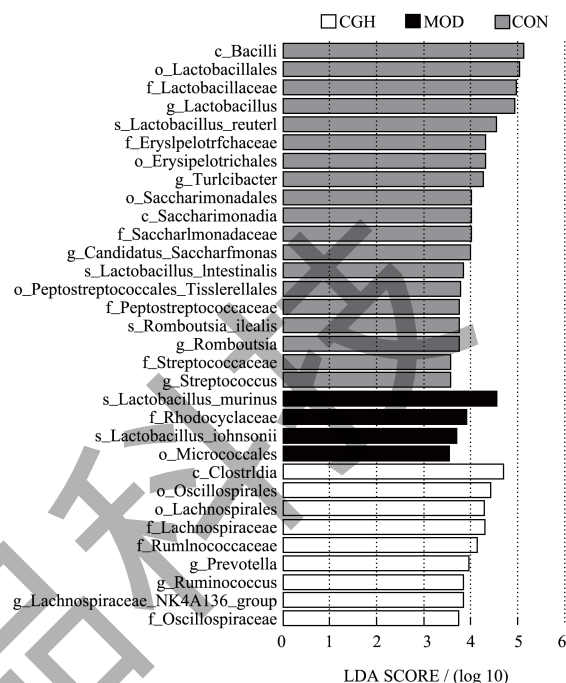


图6 CON 组、MOD 组、CGH 组小鼠粪便样本的 LDA 值分布柱状图

Fig.6 Histogram of LDA value distribution of fecal samples of mice in CON group, MOD group and CGH group

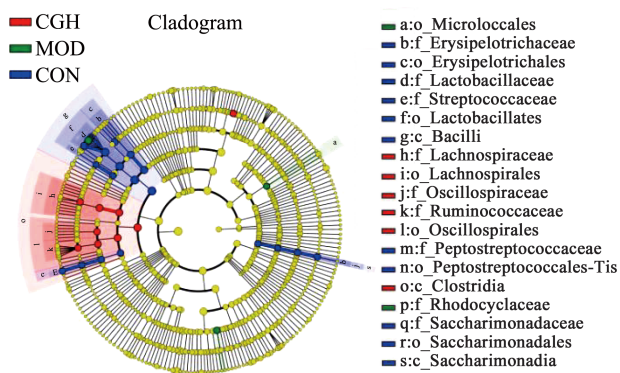


图7 各组样本的进化分支图

Fig.7 Evolutionary branch diagram of each group of samples

注：从内至外辐射的圆圈代表门至种的分类等级，每个分类等级下面的小圆圈表示一个分类。菌群的相对丰度与圆圈直径成正比。无显著差异物种用黄色表示，CON 组菌群用蓝色表示，MOD 组菌群用绿色表示，CGH 组菌群用红色表示。图中英文字母代表的菌群名称在图例中展示。

LEfSe 分析用于在不同分组之间寻找组与组之间具有统计学差异的生物标志物，本文选取 LDA > 3.5 的

物种为不同分组之间具有统计学差异的生物标志物。结合图6、图7分析可知, CON组中属水平上的生物标志物菌群为乳酸杆菌属 (*Lactobacillus*)、*Turicibacter*、*Candidatus\_Saccharimonas*、*Romboutsia*、*Streptococcus*; CGH组中属水平上的生物标志物菌群为普雷沃氏菌属 (*Prevotella*)、*Ruminococcus*、*Lachnospiraceae\_NK4A136\_group*。

### 3 结论

本研究通过高通量测序技术发现毛菊苣醇提取物给药对 db/db 小鼠糖脂代谢紊乱改善作用可能与改善肠道菌群丰度有关。联合物种丰度聚类热图分析与 LEfSe 分析表明, 毛菊苣醇提取物可以在一定程度上增加有益菌, 降低有害菌, 调节糖脂代谢。其中 CON 组与 MOD 组差异性菌群为短链脂肪酸产生菌有益菌双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*)、*Romboutsia*、普雷沃氏菌属 (*Prevotella*), 且 *Romboutsia* 为属水平上 CON 组生物标志物菌群, 普雷沃氏菌属 (*Prevotella*) 为 CGH 组生物标志物菌群。短链脂肪酸产生菌有益菌双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*)、*Romboutsia*、普雷沃氏菌属 (*Prevotella*) 及其对短链脂肪酸的影响机制有望成为下一步研究中的重点研究方向, 研究结果可以为新疆地产毛菊苣资源的药用开发提供全新的研究思路。

### 参考文献

- [1] SUN H, SAEEDI P, KARURANGA S, et al. IDF diabetes atlas: global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045 [J]. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2022, 183: 109-119.
- [2] 梁磊, 念馨. 肠道菌群: 未来2型糖尿病治疗的新靶点[J]. *实用医学杂志*, 2022, 38(3): 261-265.
- [3] YU F, HAN W, ZHAN G F, et al. Abnormal gut microbiota composition contributes to the development of type 2 diabetes mellitus in db/db mice [J]. *Aging*, 2019, 11: 10454-10467.
- [4] BRYRUP T, THOMSEN C W, KERN T, et al. Metformin-induced changes of the gut microbiota in healthy young men: results of a non-blinded, one-armed intervention study [J]. *Diabetologia*, 2019, 62: 1024-1035.
- [5] MANOJ G, LI Z P, HANNAH Y, et al. Role of gut microbiota in type 2 diabetes pathophysiology [J]. *EBioMedicine*, 2020, 51: 102590-102590.
- [6] 祖越, 李国栋, 张程亮, 等. 维药毛菊苣活性成分及其药理作用研究进展[J]. *中药药理与临床*, 2021, 37(5): 229-234.
- [7] 党婷. 毛菊苣化学成分及其生物活性研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2019.
- [8] 赵海清, 信学雷, 阿吉艾克拜尔·艾萨, 等. 毛菊苣降糖有效部位的筛选研究[J]. *时珍国医国药*, 2012, 23(4): 794-797.
- [9] 刘鹏举, 马方, 李明, 等. 菊粉和金玉兰对2型糖尿病患者血糖控制和血脂代谢的影响[J]. *协和医学杂志*, 2015, 6(4): 251-254.
- [10] 陈玉子, 谭乐和, 刘启兵, 等. 菠萝蜜多糖对小鼠肠道菌群的调节作用[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(24): 189-196.
- [11] 殷瑞霞, 皇甫建, 肖瑞, 等. 2型糖尿病及并发肾病模型大鼠肠道菌群多样性分析[J]. *动物医学进展*, 2022, 43(4): 30-37.
- [12] RICABONI D, MAILHE M, KHELAIPIA S, et al. *Romboutsia timonensis*, a new species isolated from human gut [J]. *New Microbes & New Infections*, 2016, 12: 6-7.
- [13] QIN R B, WANG J, CHAO C, et al. RS5 produced more butyric acid through regulating the microbial community of human gut microbiota [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(10): 3209-3218.
- [14] 平易, 魏艳玲, 陈东风, 等. 肠道短链脂肪酸与肠黏膜屏障[J]. *胃肠病学和肝病杂志*, 2022, 31(5): 508-512.
- [15] ZHU J X, WU M R, ZHOU H, et al. Liubao Brick Tea activates the PI3K-Akt signaling pathway to lower blood glucose, metabolic disorders and insulin resistance via altering the intestinal flora [J]. *Food Research International*, 2021, 148: 110594-110594.
- [16] TETTA, PASOLLI E, MASETTI G, et al. *Prevotella* diversity, niches and interactions with the human host [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2021, 19: 585-599.
- [17] CHEN T T, LONG W M, ZHANG C H, et al. Fiber-utilizing capacity varies in *Prevotella-versus bacteroides*-dominated gut microbiota [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 2594-2594.
- [18] 曾小宇, 罗登林, 刘胜男, 等. 菊糖的研究现状与开发前景[J]. *中国食品添加剂*, 2010, 4: 222-227.
- [19] ERIKSEN A K, BRUNIUS C, MAZIDI M, et al. Effects of whole-grain wheat, rye, and lignan supplementation on cardiometabolic risk factors in men with metabolic syndrome: a randomized crossover trial [J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2020, 111(4): 864-876.
- [20] ZHUANG P, LI H Y, JIA W, et al. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids attenuate hyperglycemia through the microbiome-gut-organs axis in db/db mice [J]. *Microbiome*, 2021, 9(1): 185-185.