

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.22.002

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20231107.1542.016\(2023-11-13\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20231107.1542.016(2023-11-13))

## 新发 T2DM 和 IGR 患者肠道菌属丰度与膳食因素相关性研究\*

薛澳徽<sup>1</sup>, 王 玲<sup>1</sup>, 陈文婷<sup>2</sup>, 赵炳尧<sup>1</sup>, 张 冰<sup>1,3</sup>, 热比亚·努力<sup>1,3,△</sup>

(1. 新疆医科大学基础医学院, 乌鲁木齐 830017; 2. 新疆医科大学第五临床医学院, 乌鲁木齐 830011; 3. 新疆地方病分子生物学重点实验室, 乌鲁木齐 830017)

**[摘要]** **目的** 分析肠道巨单胞菌属(Megamonas)、巴恩斯菌属(Barnesiella)、梭菌属(Clostridium)和瘤胃球菌属(Ruminococcus)在新发 2 型糖尿病(T2DM)、糖调节受损(IGR)与糖耐量正常(NGT)人群的丰度差异,以及菌属与膳食摄入量的相关性。**方法** 于 2021 年 9 月至 2022 年 6 月选取新疆医科大学第一附属医院和新疆医科大学第五附属医院 72 例新发 T2DM、35 例 IGR 及 124 例 NGT 为研究对象,构建质粒制作菌属标准品并绘制标准曲线,采用实时荧光定量 PCR(qPCR)检测 4 种菌属丰度并比较其差异。采取食物频率问卷(FFQ)调查研究对象的膳食情况,分析 4 种菌属与膳食摄入量的相关性。**结果** Megamonas、Barnesiella、Clostridium、Ruminococcus 丰度在 3 组间比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ); T2DM 组 Barnesiella、Clostridium、Ruminococcus 丰度较 NGT 组和 IGR 组降低;且 T2DM 组 Megamonas 和 Barnesiella 丰度明显低于 IGR 组( $P < 0.05$ )。3 组蔬菜、水果和蛋类的摄入量比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。Barnesiella 的菌群丰度对数值(lgSQ 值)与平均每人每日油、平均每人每日动物油摄入量呈正相关( $r = 0.187, 0.208, P < 0.05$ ); Clostridium 的 lgSQ 值与空腹血糖(FPG)、总胆固醇、甘油三酯、平均每人每日盐摄入量呈负相关( $r = -0.280, -0.165, -0.255, -0.167, P < 0.05$ ); Ruminococcus 的 lgSQ 值与 FPG、高密度脂蛋白胆固醇、平均每人每日盐摄入量呈负相关( $r = -0.213, -0.131, -0.182, P < 0.05$ ),与水果摄入量呈正相关( $r = 0.131, P < 0.05$ )。**结论** IGR 和 T2DM 患者肠道 Megamonas、Barnesiella、Clostridium 和 Ruminococcus 丰度发生改变,且与部分膳食摄入量相关。早期对糖尿病前期 IGR 进行饮食或肠道菌群调节干预可为 T2DM 提供治疗靶点和新思路。

**[关键词]** 肠道菌群; 巨单胞菌属; 巴恩斯菌属; 梭菌属; 瘤胃球菌属; 2 型糖尿病; 糖调节受损

**[中图分类号]** R587.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2023)22-3368-08

## Study on correlation between abundance of gut microbiota genus and dietary factors in patients with newly diagnosed T2DM and IGR\*

XUE Aohui<sup>1</sup>, WANG Ling<sup>1</sup>, CHEN Wenting<sup>2</sup>, ZHAO Bingyao<sup>1</sup>, ZHANG Bing<sup>1,3</sup>, REBIYA Nuli<sup>1,3,△</sup>

(1. Basic Medical College, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830017, China;

2. The Fifth Clinical Medical College of Xinjiang Medical University, Urumqi,

Xinjiang 830011, China; 3. Xinjiang Key Laboratory of Molecular Biology for Endemic Diseases, Urumqi, Xinjiang 830017, China)

**[Abstract]** **Objective** To analyze the abundance difference of gut microbiota at genus level such as Megamonas, Barnesiella, Clostridium and Ruminococcus among the patients with newly diagnosed diabetes mellitus type 2 (T2DM), the patients with impaired glucose regulation (IGR) and the subjects with normal glucose tolerance (NGT), and the correlation between the abundance of bacterial genus and dietary intakes. **Methods** A total of 72 patients with newly diagnosed T2DM, 35 patients with IGR and 124 subjects with NGT in the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University and the Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University from September 2021 to June 2022 were enrolled as the study subjects. The plasmid was constructed for preparing the standard product of bacterial genus and the standard curve was drawn. The abundances of four bacterial genera were detected by using the real time fluorescence quantitative PCR (qPCR),

\* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81860743); 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2019D01C194)。 作者简介: 薛澳徽(1999-), 学士, 主要从事肠道菌群与糖尿病相关性研究。 △ 通信作者, E-mail: rabux@xjmu.edu.cn。

and their differences were compared. The dietary status of the study subjects was investigated by using the food frequency questionnaire (FFQ), and the correlation between the four genera and the dietary intakes was analyzed. **Results** The abundances of Megamonas, Barnesiella, Clostridium and Ruminococcus had statistically significant differences among the three groups ( $P < 0.05$ ). The abundances of Barnesiella, Clostridium and Ruminococcus in the T2DM group were decreased compared with those in the NGT and IGR groups, moreover the abundances of Megamonas and Barnesiella in the T2DM group were significantly lower than those in the IGR group ( $P < 0.05$ ). There were statistically significant differences in the intakes of vegetables, fruits and eggs among the three groups ( $P < 0.05$ ). The logarithmic abundance value (lgSQ value) of Barnesiella was positively correlated with the average daily per capita oil intake and the average daily per capita animal oil intake ( $r = 0.187, 0.208, P < 0.05$ ). The lgSQ value of Clostridium was negatively correlated with fasting blood glucose (FPG), total cholesterol, triglycerides and average daily per capita salt intake ( $r = -0.280, -0.165, -0.255, -0.167, P < 0.05$ ). The lgSQ value of Ruminococcus was negatively correlated with FPG, high-density lipoprotein cholesterol and average daily per capita salt intake ( $r = -0.213, -0.131, -0.182, P < 0.05$ ), and positively correlated with the fruit intake ( $r = 0.131, P < 0.05$ ). **Conclusion** The abundances of Megamonas, Barnesiella, Clostridium and Ruminococcus in the intestines of the patients with IGR and T2DM are changed, which is related to the partial dietary intakes. Early intervention of diet or intestinal flora regulation on prediabetic IGR could provide therapeutic targets and new ideas for T2DM.

**[Key words]** intestinal flora; Megamonas; Barnesiella; Clostridium; Ruminococcus; diabetes mellitus type 2; impaired glucose regulation

国际糖尿病联盟统计,2021 年全球约有 5.37 亿糖尿病患者,预计 2030 年将达到 6.43 亿<sup>[1]</sup>。糖调节受损(impaired glucose regulation, IGR)是从糖耐量正常过渡到 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)的关键时期。近年来,不少研究表明 T2DM 的发生、发展与肠道菌群有着密切联系。肠道菌群是生物体内重要的代谢“器官”,影响着宿主的整体代谢,以及宿主与菌群之间的“共代谢”<sup>[2]</sup>。健康饮食和肠道菌群调节有助于糖尿病的预防控制<sup>[3]</sup>。有研究者表明,饮食可以在 24 h 内迅速诱导大量微生物的暂时性变化<sup>[4]</sup>。鉴于这种关联,通过饮食来改变肠道微生物可能对糖尿病的治疗具有作用。肠道内发挥潜在有益效应的菌属或菌种将用作潜在的治疗靶标。通过肠道菌群的干预调节,最终可能实现更精确、个性化的糖尿病诊断和治疗<sup>[5]</sup>。本课题组前期通过高通量测序进行菌群多样性分析发现 IGR 患者中肠道巨单胞菌属(Megamonas)相对丰度升高,巴恩斯菌属(Barnesiella)、梭菌属(Clostridium)和瘤胃球菌属(Ruminococcus)的相对丰度降低<sup>[6]</sup>。因此,本文将从菌属角度出发,进一步通过实时荧光定量 PCR(qPCR)验证 4 种菌属在 T2DM 和 IGR 患者肠道中的丰度变化,并探讨菌属丰度与膳食摄入量之间的相关性,为进一步研究通过饮食调节肠道菌属来预防 T2DM 奠定基础。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

于 2021 年 9 月至 2022 年 6 月选取 72 例新发 T2DM 患者(T2DM 组)、35 例 IGR 患者(IGR 组)和 124 例糖耐量正常(normal glucose tolerance, NGT)者

(NGT 组),均来自新疆医科大学第一附属医院和新疆医科大学第五附属医院。纳入标准:(1)新发 T2DM 组患者为初次诊断 T2DM,诊断标准参照《中国 2 型糖尿病防治指南(2020 年版)》<sup>[7]</sup>,患者年龄 30~60 岁;(2)IGR 组患者符合空腹血糖(FPG)6.1~7.0 mmol/L,或餐后 2 h 血糖(2 h PG)7.8~<11.1 mmol/L,患者年龄 30~60 岁;(3)NGT 组受试者无糖尿病家族史,FPG<6.1 mmol/L,口服葡萄糖耐量试验(OGTT)结果正常,年龄 30~60 岁。排除标准:(1)取样前 1 个月内使用过抗生素、益生元、益生菌等;(2)近 1 个月有过腹泻、痢疾等胃肠道疾病史;(3)妊娠、哺乳期妇女;(4)近期有感染、手术及急性心脑血管疾病史;(5)有长期服用激素或滥用药物史;(6)有其他影响血糖的疾病史,如甲状腺功能亢进、Cushing 综合征等。本研究获得新疆医科大学伦理委员会审核批准,参与者均签署知情同意书。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 一般情况调查和体格检查

(1)采用调查表收集受试者年龄、性别等基线资料。(2)测量身高、体重、腰围、臀围及血压,并计算 BMI 和腰臀比。采集晨起空腹静脉血约 4 mL,离心,吸取血清,采用日立 7600 全自动生化分析仪(日本 Hitachi 公司)终点法测定总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein-cholesterol, HDL-C)和低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)。

#### 1.2.2 膳食调查

采取食物频率问卷(food frequency question-

naire, FFQ) 调查, 计算受试者食物摄入频数, 用 Epi-data3.0 建立数据库, 调查数据录入营养计算器, 使用营养计算器 v24c(标准版) 将每种食物每 100 克可食部的营养素输出到 Excel2007 表格。

### 1.2.3 粪便标本中细菌总 DNA 的提取

采集早晨新鲜粪便标本并称取 2 g 于无菌离心管中, 加入 20 mL 灭菌磷酸盐缓冲液 (PBS) 充分振荡混匀, 反复离心后收集沉淀,  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存备用。参照 TIANamp Stool DNA Kit 粪便基因组 DNA 提取试剂盒 [天根生化科技 (北京) 有限公司] 提取粪便菌群总 DNA。

### 1.2.4 标准品的制作和标准曲线的建立

#### 1.2.4.1 引物的设计与合成

以菌属的 16S rDNA 序列为模板设计引物, 由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成菌属的特异性

引物, 并用引物与菌属的全序列进行比对, 同时在 BLAST 基因库内比对引物序列的特异性, 见表 1。

#### 1.2.4.2 qPCR 检测菌属丰度

以健康人粪便提取的细菌基因组 DNA 为模板进行常规 PCR 反应, 目标菌的扩增体系 ( $25.0\text{ }\mu\text{L}$ ):  $10\times\text{PCR}$  缓冲液  $2.0\text{ }\mu\text{L}$ , 双蒸水 ( $\text{ddH}_2\text{O}$ )  $17.0\text{ }\mu\text{L}$ , 目标菌上游和下游引物各  $0.5\text{ }\mu\text{L}$ ,  $10\text{ mmol/L}$  脱氧核苷三磷酸 (dNTP)  $0.5\text{ }\mu\text{L}$ ,  $25\text{ mmol/L}$  氯化镁 ( $\text{MgCl}_2$ )  $2.0\text{ }\mu\text{L}$ ,  $5\text{ U}/\mu\text{L}$  Taq Plus DNA Polymerase  $0.5\text{ }\mu\text{L}$ , 细菌总 DNA  $2.0\text{ }\mu\text{L}$ 。反应条件:  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  预变性  $3\text{ min}$ ;  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  变性  $30\text{ s}$ ,  $57\text{ }^{\circ}\text{C}$  退火  $30\text{ s}$ ,  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  延伸  $30\text{ s}$ , 共 35 循环;  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  终延伸  $8\text{ min}$ ,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。将目标细菌 PCR 产物用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳成像。将目的条带用手术刀切下, 按 SanPrep 柱式 DNA 胶回收试剂盒 (B518131) 纯化回收 PCR 产物。

表 1 引物序列

菌属	引物	序列 (5'-3')	大小 (bp)	退火温度 ( $^{\circ}\text{C}$ )
Megamonas	上游	GGCCTCCTTTAGTAAGTGTCTC	109	57
	下游	TGAGTAACGCGTAAGCAATCT		
Barnesiella	上游	GCCCTTGAATACCTACCTCTAC	112	57
	下游	GATGGCTTGGTCTGTGAAATC		
Clostridium	上游	GCACAAGCAGTGGAGT	246	57
	下游	CTTCCTCCGTTTTGTCAA		
Ruminococcus	上游	ACTCCTACGGGAGGCAGC	165	57
	下游	GCTTCTTAGTCARGTACCG		

#### 1.2.4.3 制备质粒标准品

将以上 4 种细菌的 PCR 扩增产物纯化回收后分别作为目的 DNA 片段, 连接至 pMD<sup>®</sup> 18-T Vector (日本 TAKARA 公司) 上, 使用生工一步法快速感受态细胞制备试剂盒 [生工生物工程 (上海) 股份有限公司], 重组质粒转化至感受态细菌中, 得到阳性克隆后使用生工质粒提取试剂盒 SanPrep 柱式质粒 DNA 小量抽提试剂盒提取质粒, 质粒经 PCR 鉴定及测序无误后, 即可作为标准品。用微量分光光度计测定质粒浓度和 260 nm 处吸光度值 [ $A_{(260)}$ ], 通过公式换算成拷贝数, 制作标准品原液。

#### 1.2.4.4 qPCR 定量分析菌属丰度

10 倍梯度稀释各质粒, 做 4~6 个点, 通过进行 qPCR 选取合适标准品用于制备标准曲线。每次实验同时设标准品及阴性对照, 使用  $\text{ddH}_2\text{O}$  作为阴性对照, 并且每个样品均同时做 2 个平行复孔。将 DNA 样品稀释 50 倍作为模板上机检测, 利用 LightCycler480 II 型荧光定量 PCR 仪 (瑞士 Roche 公司) 对样品进行扩增和定量。反应体系为  $10.0\text{ }\mu\text{L}$ , 其中  $2\times\text{SYBR Green qPCR Master Mix}$  (瑞士 Roche 公司)  $5.0\text{ }\mu\text{L}$ ,  $\text{ddH}_2\text{O}$   $3.6\text{ }\mu\text{L}$ , 目标细菌上游和下游引

物各  $0.2\text{ }\mu\text{L}$ , 细菌总 DNA  $1.0\text{ }\mu\text{L}$ 。反应条件: 第 1 步  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  预变性  $3\text{ min}$ , 第 2 步 PCR 反应  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  变性  $5\text{ s}$ ,  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  退火/延伸  $30\text{ s}$ , 共 45 循环; 第 3 步制作熔解曲线。

### 1.3 统计学处理

所有数据均采用 SPSS26.0 统计软件进行数据录入、整理和统计。正态分布计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示, 3 组计量资料比较采用单因素方差分析, 进一步两组间比较采用 LSD- $t$  法; 非正态分布计量资料用  $M(Q_1, Q_3)$  表示, 组间比较采用非参数 Kruskal-Wallis 秩和检验。用 Pearson 相关性分析菌属丰度与血糖、血压、血脂及膳食摄入量等的相关性。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 4 种菌属丰度 qPCR 检测

#### 2.1.1 标准曲线和熔解曲线

按比例稀释成不同拷贝数标准品的对数值为横轴, 反应过程中达到的 CT 值为纵轴得到各菌属检测的标准曲线 (Megamonas:  $E=95.2\%$ ,  $R^2=0.9977$ , 斜率 =  $-3.442$ ; Barnesiella:  $E=106.0\%$ ,  $R^2=0.9975$ , 斜率 =  $-3.187$ ; Clostridium:  $E=83.5\%$ ,

$R^2=0.9971$ , 斜率 = -3.795; Ruminococcus:  $E=95.8\%$ ,  $R^2=0.9987$ , 斜率 = -3.426)。4 种菌属熔解曲线分析均为单峰, 扩增产物单一, 无非特异性扩增, 见图 1。

2.1.2 3 组间不同菌属丰度差异分析

Megamonas、Barnesiella、Clostridium、Ruminococcus 丰度在 3 组间比较, 差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ )。Megamonas 与 Barnesiella 丰度在 IGR 组中较 T2DM 组、NGT 组高, 差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ ); T2DM 组与 NGT 组比较, 差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。Clostridium 与 Ruminococcus 丰度在 T2DM 组中较 IGR 组和 NGT 组低, 差异均有统计学

意义 ( $P<0.05$ ); 在 IGR 组中较 NGT 组高, 但差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ), 见表 2。

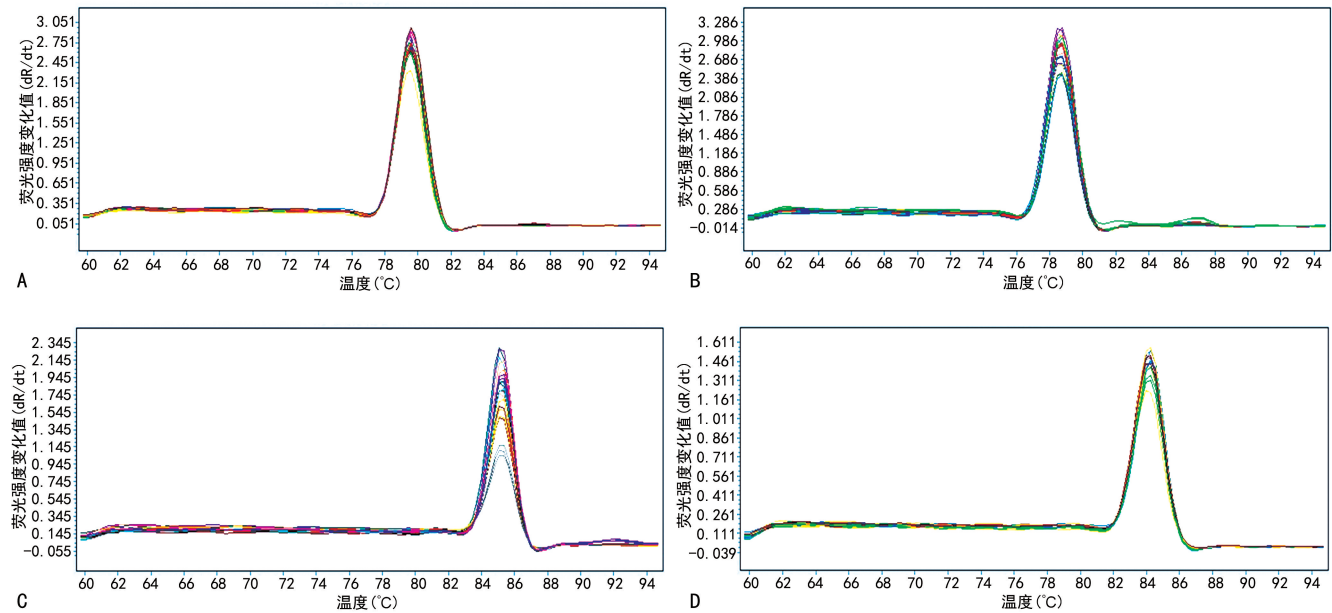
2.2 3 组一般临床资料及膳食营养素摄入量比较

2.2.1 3 组一般临床资料比较

3 组年龄、BMI、腰臀比、SBP、DBP、FPG、血清 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 水平比较, 差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 见表 3。

2.2.2 3 组膳食营养素摄入量比较

3 组蔬菜、水果和蛋类的摄入量比较, 差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ ); 3 组其他膳食营养素摄入量均无明显差异 ( $P>0.05$ ), 见表 4。



A: Megamonas 熔解曲线; B: Barnesiella 熔解曲线; C: Clostridium 熔解曲线; D: Ruminococcus 熔解曲线。

图 1 4 种菌属 qPCR 熔解曲线

表 2 3 组菌属丰度比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	Megamonas	Barnesiella	Clostridium	Ruminococcus
T2DM 组	72	2.65 ± 1.87 <sup>b</sup>	1.77 ± 1.21 <sup>b</sup>	5.02 ± 0.86	4.77 ± 1.07
IGR 组	35	3.57 ± 2.44	2.40 ± 1.61	5.72 ± 0.57 <sup>a</sup>	5.47 ± 0.65 <sup>a</sup>
NGT 组	124	2.53 ± 1.84 <sup>b</sup>	1.96 ± 1.22 <sup>b</sup>	5.54 ± 0.62 <sup>a</sup>	5.23 ± 0.74 <sup>a</sup>
F		3.670	3.699	16.948	10.267
P		0.027	0.026	<0.001	<0.001

<sup>a</sup>:  $P<0.001$ , 与 T2DM 组比较; <sup>b</sup>:  $P<0.05$ , 与 IGR 组比较。

表 3 3 组一般临床资料比较 [ $M(Q_1, Q_3)$ ]

项目	T2DM 组 (n=72)	IGR 组 (n=35)	NGT 组 (n=124)	H	P
年龄(岁)	54.00(46.25, 59.00)	50.00(38.00, 57.00)	41.00(37.00, 46.75)	337.000	<0.001
BMI(kg/cm <sup>2</sup> )	29.04(26.43, 30.66)	28.00(26.11, 31.59)	27.44(24.12, 29.97)	7.720	0.021
腰臀比	0.95(0.92, 0.99)	0.92(0.87, 0.96)	0.89(0.85, 0.95)	30.860	<0.001
SBP(mmHg)	137.00(126.00, 145.00)	121.00(112.00, 140.00)	119.00(110.00, 130.00)	41.730	<0.001
DBP(mmHg)	80.00(76.00, 88.00)	80.00(72.00, 90.00)	75.50(68.00, 80.00)	16.790	<0.001



续表 3 3 组一般临床资料比较[ $M(Q_1, Q_3)$ ]

项目	T2DM 组( $n=72$ )	IGR 组( $n=35$ )	NGT 组( $n=124$ )	$H$	$P$
FPG(mmol/L)	8.57(7.20,11.99)	6.18(5.86,6.56)	5.07(4.80,5.31)	181.200	<0.001
TC(mmol/L)	4.69(3.98,5.60)	4.50(4.00,4.99)	4.03(3.49,4.53)	18.970	<0.001
TG(mmol/L)	3.23(1.48,3.12)	1.90(1.19,2.46)	1.50(1.13,1.20)	23.500	<0.001
LDL-C(mmol/L)	2.56(2.13,3.21)	2.60(2.05,2.92)	2.225(1.76,2.60)	18.100	<0.001
HDL-C(mmol/L)	1.26(1.07,1.70)	1.35(1.15,1.86)	1.50(1.16,1.90)	7.390	0.025

表 4 3 组膳食摄入量比较[ $M(Q_1, Q_3), g$ ]

项目	T2DM 组( $n=72$ )	IGR 组( $n=35$ )	NGT 组( $n=124$ )	$H$	$P$
谷类	458.90(337.00,598.60)	423.90(321.40,636.50)	404.40(292.20,540.70)	1.587	0.162
豆类	17.96(11.92,24.39)	24.19(13.13,31.76)	21.82(9.28,36.04)	3.148	0.207
蔬菜	244.40(177.90,342.60)	321.30(242.50,553.80)	311.00(257.50,387.20)	13.460	0.001
薯类	57.14(25.51,91.01)	61.67(50.66,100.8)	65.31(50.00,101.40)	4.026	0.134
菌枣	9.12(3.39,25.71)	11.43(5.36,29.57)	12.86(4.35,28.30)	1.191	0.551
水果	473.70(278.80,750.60)	688.20(446.90,1097)	638.30(419.00,1015)	10.080	0.007
乳类	159.60(36.43,400.70)	178.60(89.29,400.70)	232.10(64.28,400.70)	0.595	0.743
肉类	127.30(84.61,181.10)	113.50(75.24,171.40)	121.70(80.84,184.10)	0.567	0.753
水产	3.33(0.14,10.00)	5.00(0.14,13.95)	2.40(0.7,02)	1.923	0.382
蛋类	30.72(12.09,55.00)	15.71(2.50,48.48)	31.43(11.93,55.00)	6.409	0.041
干果	49.34(20.18,92.73)	56.71(19.71,85.00)	55.00(18.61,85.00)	0.282	0.869
茶水	1 325.00(1 000.00,1 994.00)	1 350.00(750.00,1 800.00)	1 175.00(881.30,1 850.00)	0.821	0.663
平均每人每日盐	6.10(5.33,8.33)	6.00(4.17,6.67)	6.00(4.17,7.09)	4.190	0.123
平均每人每日油	34.44(27.78,47.92)	33.33(23.33,55.56)	33.33(26.67,41.67)	0.959	0.619
平均每人每日动物油	0(0,0.83)	0(0,0.67)	0(0,0.42)	1.238	0.539

### 2.3 4 种菌属丰度与一般临床资料、膳食营养素摄入量的相关性分析

Barnesiella 的菌群丰度对数值(lgSQ 值)与平均每人每日油、平均每人每日动物油的摄入量呈正相关( $r=0.187, 0.208, P<0.05$ )。Clostridium 的 lgSQ 值与 FPG、TC、TG、平均每人每日盐的摄入量呈负相

关( $r=-0.280, -0.165, -0.255, -0.167, P<0.05$ )。Ruminococcus 的 lgSQ 值与 FPG、HDL-C、平均每人每日盐的摄入量呈负相关( $r=-0.213, -0.131, -0.182, P<0.05$ )，与水果的摄入量呈正相关( $r=0.131, P<0.05$ )，见表 5、6。

表 5 4 类菌属的 lgSQ 值与临床资料之间的相关性

项目	Megamonas		Barnesiella		Clostridium		Ruminococcus	
	$r$	$P$	$r$	$P$	$r$	$P$	$r$	$P$
年龄	-0.035	0.605	0.035	0.605	-0.053	0.423	0.040	0.549
BMI	-0.037	0.590	0.042	0.537	0.021	0.754	0.062	0.353
腰臀比	0.040	0.565	0.014	0.842	0.039	0.559	0.020	0.773
SBP	0.006	0.925	-0.070	0.311	-0.122	0.065	-0.024	0.723
DBP	-0.026	0.702	-0.015	0.826	-0.110	0.097	-0.048	0.472
FPG	-0.001	0.993	-0.077	0.263	-0.280	<0.001	-0.213	0.001
TC	0.015	0.825	-0.008	0.908	-0.165	0.013	-0.026	0.694
TG	0.123	0.069	-0.106	0.122	-0.255	<0.001	-0.102	0.124
LDL-C	-0.031	0.646	0.069	0.320	-0.018	0.791	-0.013	0.846
HDL-C	0.072	0.294	0.057	0.411	-0.057	0.398	-0.131	0.050

表 6 4 类菌属的 lgSQ 值与膳食摄入量之间的相关性

膳食营养素	Megamonas		Barnesiella		Clostridium		Ruminococcus	
	r	P	r	P	r	P	r	P
谷类	-0.086	0.207	0.018	0.791	0.007	0.912	-0.021	0.747
豆类	0.048	0.483	0.029	0.670	0.046	0.489	0.096	0.147
蔬菜	0.011	0.873	0.001	0.986	-0.019	0.777	-0.026	0.696
薯类	-0.038	0.579	0.098	0.153	0.028	0.674	0.037	0.575
菌枣	-0.072	0.293	0.033	0.633	0.038	0.570	0.083	0.210
水果	0.015	0.823	0.067	0.331	0.093	0.158	0.131	0.047
乳类	0.113	0.095	0.052	0.445	0.110	0.094	0.092	0.161
肉类	-0.106	0.120	-0.102	0.136	0.073	0.266	0.067	0.310
水产	0.127	0.062	0.064	0.350	0.040	0.549	0.080	0.227
蛋类	-0.084	0.219	-0.053	0.444	-0.122	0.063	-0.121	0.067
干果	-0.098	0.150	0.014	0.835	-0.013	0.845	0.019	0.769
茶水	-0.056	0.415	0.052	0.452	-0.057	0.387	-0.005	0.939
平均每人每日盐	-0.026	0.701	0.034	0.623	-0.167	0.011	-0.182	0.005
平均每人每日油	0.110	0.106	0.187	0.006	0.010	0.876	0.026	0.690
平均每人每日动物油	0.102	0.133	0.208	0.002	-0.009	0.888	-0.038	0.570

### 3 讨 论

IGR 是发展为糖尿病的高风险状态<sup>[8]</sup>,若及时发现并介入饮食或药物等的干预会降低其进展为 T2DM 的概率<sup>[9]</sup>。研究表明,肠道菌群的变化与 T2DM 的发生、发展有关<sup>[10]</sup>。厚壁菌门和拟杆菌门是肠道中的两个主要菌门,T2DM 患者肠道中厚壁菌门与拟杆菌门占比较健康人群低<sup>[11]</sup>。通过饮食干预调整宿主肠道菌群平衡可能延缓甚至逆转糖尿病前期发展为糖尿病<sup>[12]</sup>。本研究结果显示,Megamonas 和 Barnesiella 丰度在 IGR 组升高;Clostridium 和 Ruminococcus 丰度则在 T2DM 组中降低,4 种菌属在 T2DM 组中的丰度变化与前期的高通量测序结果一致<sup>[6]</sup>,可能是影响 T2DM 发生、发展的关键菌属。

Megamonas 属于厚壁菌门,研究显示 T2DM 组中的 Megamonas 丰度降低,经糖尿病常用药物沙格列汀治疗后会提高其丰度<sup>[13]</sup>。前期 16S rRNA 测序结果发现 IGR 组体内 Megamonas 丰度相较于 NGT 组明显增多<sup>[6]</sup>,与本研究结果一致。IGR 是糖尿病的前期阶段,有研究发现肥胖人群 Megamonas 丰度增加<sup>[14]</sup>,在本研究中 IGR 组 BMI 高于 NGT 组,可能影响了 Megamonas 丰度。Barnesiella 属于拟杆菌门紫单胞菌科(Porphyromonadaceae)<sup>[14]</sup>,是人体肠道微生物群中较丰富的新菌属类<sup>[15]</sup>。健康人肠道内的 Barnesiella 丰度是 IGR 患者肠道内的 2 倍<sup>[16]</sup>。在 T2DM 患者饮食中添加含多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids,PUFA)的鱼油会提高其肠道内 Barnesiella 丰度,对糖尿病有缓解作用<sup>[17]</sup>;中药半夏泻心汤治疗 T2DM 大鼠亦会增加其肠道内 Barnesiella 丰度且与糖尿病相关脂代谢因子 TG、TC 及炎症因子肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和白细胞介素(IL)-6 呈

负相关<sup>[18]</sup>;因此,Barnesiella 可能具有特殊的免疫调节特性<sup>[19]</sup>。但本次研究中 Barnesiella 丰度在 IGR 组明显增加,可能也与 IGR 组豆类和水产品摄入量较高有一定关系。Clostridium 属于厚壁菌门<sup>[20]</sup>,可以利用宿主无法消化的营养物质,产生大量的短链脂肪酸(short chain fatty acids,SCFAs)。Clostridium 喜膳食碳水化合物,尤其是非淀粉多糖,因此膳食多糖可能会影响肠道中 Clostridium 的数量<sup>[21]</sup>。前期研究发现在新发 T2DM 患者肠道中 Clostridium 丰度较健康人群明显减少<sup>[22]</sup>,与本研究结果一致。Ruminococcus 属于厚壁菌门,不产生内孢子并且需要可发酵的碳水化合物才能生长<sup>[23]</sup>。Barnesiella 和 Ruminococcus 等部分菌属可以产生 SCFAs<sup>[24-25]</sup>,SCFAs 不仅可为宿主提供营养和能量,还可以促进机体分泌胰高血糖素样肽,改善胰岛素抵抗<sup>[26]</sup>。T2DM 大鼠肠道内的 Ruminococcus 丰度明显下降,与本研究结果一致;此外,该研究还表明铁冬青酸可以改善 T2DM 大鼠的糖脂代谢,提高其肠道 Ruminococcus 丰度<sup>[27]</sup>。与 T2DM 相比,健康人肠道菌群中的 Barnesiella、Clostridium、Megamonas 等产 SCFAs 的菌丰度会更高<sup>[28-29]</sup>。

饮食习惯不同肠道菌群也会有差异<sup>[30]</sup>,在 IGR 人群中肥胖者 PUFA 的摄入量较少,但其发展为糖尿病的风险却更高<sup>[31]</sup>,该研究结果提供了通过改变饮食习惯及肠道菌群来治疗 IGR 的新思路。饮食的差异导致 IGR 发展为 T2DM 的风险不同,富含水果和蔬菜的多膳食纤维饮食会降低 IGR 发展为 T2DM 的风险,肉类为主的饮食会增加患 T2DM 的风险<sup>[32]</sup>。本研究中 Barnesiella 的 lgSQ 值与平均每人每日油、平均每人每日动物油摄入量呈正相关;Clostridium 和 Ruminococcus 的 lgSQ 值与平均每人每日盐的摄入

量呈负相关,且 Ruminococcus 的 IgSQ 值与水果的摄入量呈正相关,亦提示膳食可影响各种肠道菌属的丰度值,进一步影响 IGR 和 T2DM 的发生、发展。

本文研究的 4 个菌属与糖尿病的发生、发展可能有一定的相关性,具体机制有待进行菌群移植验证。早期对 IGR 患者进行饮食或肠道菌群调节干预,可以有效减缓 T2DM 的发生。饮食、肠道菌群与糖尿病之间的关系非常复杂,是哪些菌属或菌种发挥作用,机制如何都有待深入研究。由于新发 T2DM 样本收集困难,本文纳入的研究对象分组不均,可能导致部分结果存在偏差,将在后续动物水平对此进行完善及深入研究,为特征饮食相关新一代益生菌研发奠定基础。

## 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 Res Clin Pract*, 2022, 183: 109119.
- [2] 安宇, 边南南, 丁小雨, 等. 1 型糖尿病伴认知功能损伤小鼠脑组织肠道菌群代谢物的改变[J]. *首都医科大学学报*, 2022, 43(4): 622-629.
- [3] ARTASENSI A, PEDRETTI A, VISTOLI G, et al. Type 2 diabetes mellitus: a review of multi-target drugs[J]. *Molecules*, 2020, 25(8): 1987.
- [4] SINGH R K, CHANG H W, YAN D, et al. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health[J]. *J Transl Med*, 2017, 15(1): 73.
- [5] LI W Z, STIRLING K, YANG J J, et al. Gut microbiota and diabetes: from correlation to causality and mechanism[J]. *World J Diabetes*, 2020, 11(7): 293-308.
- [6] NULI R, CAI J, KADEER A, et al. Integrative analysis toward different glucose tolerance-related gut microbiota and diet[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2019, 10: 295.
- [7] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2020 年版)[J]. *国际内分泌代谢杂志*, 2021, 41(5): 482-548.
- [8] JONAS D E, CROTTY K, YUN J D Y, et al. Screening for prediabetes and type 2 diabetes: updated evidence report and systematic review for the US preventive services task force[J]. *JAMA*, 2021, 326(8): 744-760.
- [9] ADESHIRLARIJANEY A, GEWIRTZ A T. Considering gut microbiota in treatment of type 2 diabetes mellitus[J]. *Gut Microbes*, 2020, 11(3): 253-264.
- [10] XU J, LIANG R, ZHANG W, et al. Faecalibacterium prausnitzii-derived microbial anti-inflammatory molecule regulates intestinal integrity in diabetes mellitus mice via modulating tight junction protein expression[J]. *J Diabetes*, 2020, 12(3): 224-236.
- [11] WANG Y, DILIDAXI D, WU Y, et al. Composite probiotics alleviate type 2 diabetes by regulating intestinal microbiota and inducing GLP-1 secretion in db/db mice[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 125: 109914.
- [12] WANG Z, WANG J, HU J, et al. A comparative study of acarbose, vildagliptin and saxagliptin intended for better efficacy and safety on type 2 diabetes mellitus treatment[J]. *Life Sci*, 2021, 274: 119069.
- [13] PALMAS V, PISANU S, MADAU V, et al. Gut microbiota markers associated with obesity and overweight in italian adults[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 5532.
- [14] UBEDA C, BUCCI V, CABALLERO S, et al. Intestinal microbiota containing barnesiella species cures vancomycin-resistant enterococcus faecium colonization [J]. *Infect Immun*, 2013, 81(3): 965-973.
- [15] GARCÍA-LÓPEZ M, MEIER-KOLTHOFF J P, TINDALL B J, et al. Analysis of 1 000 type-strain genomes improves taxonomic classification of bacteroidetes[J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 2083.
- [16] PINNA N K, ANJANA R M, SAXENA S, et al. Trans-ethnic gut microbial signatures of prediabetic subjects from india and denmark[J]. *Genome Med*, 2021, 13(1): 36.
- [17] ZHUANG P, LI H, 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.
- [18] CHEN Y, WANG M. New insights of anti-hyperglycemic agents and traditional chinese medicine on gut microbiota in type 2 diabetes [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2021, 15: 4849-4863.
- [19] DU Y, ZOU W, ZHANG K, et al. Advances and applications of clostridium co-culture systems in biotechnology[J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 560223.

- [20] 辛洪杰,白杨. 酪酸梭菌在胃肠道疾病中的研究与应用进展[J]. 现代消化及介入诊疗,2020,25(5):677-680.
- [21] GUO P,ZHANG K,MA X,et al. Clostridium species as probiotics: potentials and challenges [J]. J Anim Sci Biotechnol,2020,11:24.
- [22] 宋钉町,袁腾,阿丽雅·塔依尔,等. 新诊断 2 型糖尿病患者肠道梭菌属与膳食相关性研究[J]. 中国糖尿病杂志,2020,28(2):106-111.
- [23] ROUX A L,EL SAYED F,DUFFIET P,et al. Ruminococcus gnavus total hip arthroplasty infection in a 62-year-old man with ulcerative colitis[J]. J Clin Microbiol,2015,53(4):1428-1430.
- [24] MOROTOMI M,NAGAI F,SAKON H,et al. Dialister succinatiphilus sp. nov. and barnesiella intestinihominis sp. nov. , isolated from human faeces[J]. Int J Syst Evol Microbiol,2008,58(Pt 12):2716-2720.
- [25] FENG W,AO H,PENG C. Gut microbiota, short-chain fatty acids, and herbal medicines [J]. Front Pharmacol,2018,9:1354.
- [26] MÜLLER M,HERNÁNDEZ M A G,GOOSSENS G H,et al. Circulating but not faecal short-chain fatty acids are related to insulin sensitivity, lipolysis and GLP-1 concentrations in humans[J]. Sci Rep,2019,9:12515.
- [27] YAN Z,WU H,YAO H,et al. Rotundic acid protects against metabolic disturbance and improves gut microbiota in type 2 diabetes rats [J]. Nutrients,2019,12(1):67.
- [28] QUE Y,CAO M,HE J,et al. Gut bacterial characteristics of patients with type 2 diabetes mellitus and the application potential[J]. Front Immunol,2021,12:722206.
- [29] 肖瑶,牛玥,毛明慧,等. 2 型糖尿病与肠道核心菌群的相关性[J]. 南方医科大学学报,2021,41(3):358-369.
- [30] WANG H,GOU W,SU C,et al. Association of gut microbiota with glycaemic traits and incident type 2 diabetes, and modulation by habitual diet: a population-based longitudinal cohort study in chinese adults[J]. Diabetologia,2022,65(7):1145-1156.
- [31] DÍAZ-RIZZOLO D A,KOSTOV B,LÓPEZ-SILES M,et al. Healthy dietary pattern and their corresponding gut microbiota profile are linked to a lower risk of type 2 diabetes, independent of the presence of obesity[J]. Clin Nutr,2020,39(2):524-532.
- [32] CAI J,ZHANG Y,NULI R,et al. Interaction between dietary patterns and Tcf7l2 polymorphisms on type 2 diabetes mellitus among uygur adults in Xinjiang Province,China[J]. Diabetes Metab Syndr Obes,2019,12:239-255.

(收稿日期:2023-04-22 修回日期:2023-08-18)

(编辑:冯 甜)

(上接第 3367 页)

- [11] KOVIAZIN A K,FILATOVA L V,ZYUZGIN I S,et al. The significance of upfront autologous stem cell transplantation for high-intermediate/high-risk stage IV diffuse large B-cell lymphoma[J]. Cancer Rep (Hoboken),2023,6(4):e1786.
- [12] WEN Q,GAO L,XIONG J K,et al. High-dose chemotherapy combined with autologous hematopoietic stem cell transplantation as frontline therapy for intermediate/high-risk diffuse large B cell lymphoma[J]. Curr Med Sci,2021,41(3):465-473.
- [13] MOORE D C,PEERY M R,TOBON K A,et al. New and emerging therapies for the treatment of relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma[J]. J Oncol Pharm Pract,2022,28(8):1848-1858.
- [14] LOCKE F L,MIKLOS D B,JACOBSON C A,et al. Axicabtagene ciloleucel as second-line therapy for large B-cell lymphoma[J]. N Engl J Med,2022,386(7):640-654.
- [15] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2022 年版)[J]. 中华传染病杂志,2023,41(1):3-28.
- [16] JONES G L,WILL A,JACKSON G H,et al. Guidelines for the management of tumour lysis syndrome in adults and children with haematological malignancies on behalf of the British Committee for Standards in Haematology[J]. Br J Haematol,2015,169(5):661-671.

(收稿日期:2023-10-18 修回日期:2023-11-20)

(编辑:冯 甜)