

研究报告

黎族人肠道微生物群落结构特征及其与饮食关联性

彭倩楠 霍冬雪 徐传标 胡淇淞 张家超*

(海南大学食品学院 海南 海口 570228)

摘要:【目的】对采集自海南省白沙地区的黎族健康志愿者肠道菌群进行研究,旨在揭示黎族人肠道微生物群落结构特征及其与饮食的相关性。【方法】以海南省白沙黎族自治县征集的22名志愿者晨便为研究对象,应用基于16S rRNA基因V3–V4可变区的高通量测序技术测定其肠道菌群组成,并与其他民族肠道菌群进行比较分析,详细记录黎族22名志愿者的营养物质摄入情况,探索其肠道微生物群落结构特征及其与饮食的相关性。【结果】在门水平上,拟杆菌门(Bacteroidetes, 58.96%)和硬壁菌门(Firmicutes, 37.77%)在黎族志愿者肠道内含量最高;在属的水平上,普氏菌属(*Prevotella*, 49.38%)在黎族健康志愿者肠道内含量最高。基于微生物群落 α 和 β 多样性的分析结果表明,黎族人肠道菌群与中国其他民族人群肠道菌群呈现出显著差异且 α 多样性显著低于其他民族,特征性差异菌属为:链型杆菌属(*Catenibacterium*)、普氏菌属(*Prevotella*)、巨型球菌属(*Megasphaera*)、巨单胞菌属(*Megamonas*)、考拉杆菌属(*Phascolarctobacterium*)和布劳特氏菌属(*Blautia*)。基于肠道核心微生物与营养物质相关性的研究显示,普氏粪杆菌(*Faecalibacterium prausnitzii*)与膳食纤维、Cu、Mg和Mn的摄入量呈现显著正相关,与脂肪和VB₂的摄入量呈现显著负相关,而罗氏乳杆菌(*Lactobacillus rogosae*)与膳食纤维、Zn和Fe的摄入量呈显著正相关,与烟酸摄入量呈显著负相关。【结论】揭示了肠道微生物在不同地域和民族之间的差异,研究结果提供了一种通过膳食来优化菌群结构、调控宿主肠道微生态平衡的新思路。

关键词: 黎族, 肠道菌群, 饮食, 高通量测序

Intestinal microbiota in Li cohort and its correlation with their diets

PENG Qian-Nan HUO Dong-Xue XU Chuan-Biao HU Qi-Song ZHANG Jia-Chao*

(College of Food Science and Technology, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: [Objective] To analyze the intestinal microbiota of healthy Li cohort in Baisha of Hainan Province, study the profiles of intestinal microbiota of Li cohort and its correlation with their diet. [Methods] Morning faeces of 22 volunteers in Baisha of Hainan Province were selected as the study object, high-throughput sequencing technology based on 16S rRNA gene V3–V4 variable region was

Foundation item: Natural Science Foundation of Hainan Province (No. 20163042); Scientific Research Foundation of Hainan University (No. KYQD1548)

*Corresponding author: E-mail: zhjch321123@163.com

Received: February 10, 2017; **Accepted:** May 31, 2017; **Published online** (www.cnki.net): June 26, 2017
基金项目: 海南省自然科学基金面上项目(No. 20163042); 海南大学科研启动基金(No. KYQD1548)

*通讯作者: E-mail: zhjch321123@163.com

收稿日期: 2017-02-10; 接受日期: 2017-05-31; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2017-06-26

used to research the intestinal microbiota of Li cohort. Then, compared and analyzed the intestinal microbiota between Li cohort and other ethnic groups. At the same time, the nutrient intake of 22 volunteers of Li cohort was recorded in detail to study the profiles in intestinal microbiota of Li cohort and its correlation with their diet. **[Results]** Bacteroidetes (58.96%) and Firmicutes (37.77%) were the most abundant phylum in the gut of Li cohort. Meanwhile, at the genus level, *Prevotella* (49.38%) was the predominant genus. We compared the differences in gut microbiota between the Li cohort and other ethnic groups in China. Based on the analysis of α and β diversity in microbiota communities, the gut microbiota of Li cohort was significantly differences with other ethnic groups in China, and the α diversity in Li cohort was significantly lower than other ethnic groups. And the structure difference could be attributed to the genera of *Catenibacterium*, *Prevotella*, *Megasphaera*, *Megamonas*, *Phascolarctobacterium* and *Blautia*. The correlation between core microbiota and nutrients showed that *Faecalibacterium prausnitzii* was significantly positively related to the intake of dietary fiber, Cu, Mg and Mn, and negatively related to the intake of fat and VB₂, while the *Lactobacillus rogosae* was significantly positively related to the intake of dietary fiber, Zn and Fe, and negatively related to the intake of niacin. **[Conclusion]** Present research reflected the differences in the gut microbiota among different regions and ethnic groups, and provided a theoretical basis for further understanding the balance in host's intestinal microecology.

Keywords: Li cohort, Gut microbiota, Diet, High-throughput sequencing

人体肠道中栖息着约 30 个属 500 多种动态细菌, 这些细菌的动态变化在维持人体健康方面起着不可替代的作用, 它们与人体形成了密不可分的互惠共生关系^[1]。研究发现, 肠道微生物在不同结构和组成上会影响宿主的营养物质加工、能量代谢平衡^[2]、免疫发育和成熟^[3]及其它多种重要的生理活动。前期研究表明, 宿主基因型^[4]、性别^[5]、年龄、身体质量指数、地理环境^[5]、饮食结构^[6]以及生活方式等均可影响肠道菌群的构成。

在众多影响因素中, 宿主基因型和饮食的影响最为显著。不同民族肠道菌群的构成差异显著, 如西方人肠道菌群中含量最多的是拟杆菌属 (*Bacteroides*)^[7], 韩国人肠道菌群中含量最多的是栖粪杆菌属 (*Faecalibacterium*)^[8], 蒙古人肠道菌群中含量最多的是普氏菌属 (*Prevotella*)^[9], 俄罗斯人肠道菌群中普遍缺乏 *Prevotella* 和 *Bacteroides*, 但有些样本双歧杆菌 (*Bifidobacterium*) 和乳杆菌 (*Lactobacillus*) 占绝对优势, 还存在很多古细菌^[10]。虽然不同人群肠道菌群差异较大, 但其自身肠道菌群均能使宿主保持良好的健康状况。长期的饮食习惯同样影响着肠道菌群结构的形成^[11], 前期研究表明, 饮食结构以蛋白质和脂肪

为主时, 其肠道的主要菌属为 *Bacteroides*; 饮食结构以糖类为主时, 其肠道主要菌属为 *Prevotella*^[12]; 而当摄入较高的膳食纤维时, 肠道菌属则以 *Bifidobacterium* 含量较高^[13]。

目前关于世界各地区和各民族人群肠道菌群多样性的报道已有很多, 但迄今为止并没有关于黎族人肠道菌群的相关研究报道。黎族是海南省的主要少数民族, 黎族人作为海南最早的居民, 主要聚居在中国海南省中南部, 其历史可追溯到新石器时代, 在数千年的历史发展中逐步形成了本民族特有的风俗和饮食习惯。黎族人饮食较为清淡, 饮食结构类似于地中海饮食, 主要以丰富的植物性食物为主, 如葫芦瓜、萝卜和小白菜等, 食物加工简单, 烹调方式为水煮; 在动物性食物方面, 主要以海洋性食品为主, 如田螺、鱼等; 椰子、芒果、木瓜、香蕉等是其食用的主要水果。从营养的角度来看, 其饮食结构中膳食纤维含量较高。

本研究基于 16S rRNA 基因 V3-V4 可变区的高通量测序技术, 对采集自海南省白沙黎族自治县的黎族志愿者粪便微生物进行研究, 并对志愿者的饮食进行详细记录, 旨在揭示黎族人肠道菌群

结构及其与饮食的关联性。通过对黎族人肠道菌群构成和饮食关联性的研究,可有效反映出肠道微生物在不同地域和民族之间的差异,这有利于进一步了解我国少数民族的健康情况,同时也为基于肠道菌群为靶点的人体肠道微生态平衡调控及宿主健康管理提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源:从海南省白沙黎族自治县的牙叉镇和白沙镇共征集 22 名农村志愿者,采集其晨便。其中男性 12 名,女性 10 名,志愿者年龄在 23-46 岁之间,平均年龄 33.5 岁;BMI 指数 17.42-28.67,平均 BMI 指数 21.33,所有志愿者均已基于口头询问和户口证件的结果确定其典型黎族身份,且身体健康,无肠道疾病史,近 3 个月内未服用抗生素类药物。同时,详细记录了 22 名志愿者的饮食情况。

1.1.2 主要试剂:51504-粪便微生物宏基因组 DNA 提取试剂盒,德国 QIAGEN 公司;粪便/土壤宏基因组 DNA 提取试剂盒,美国 MOBIO 公司;Agilent DNA 1000 试剂盒,Agilent Technologies 公司;琼脂糖凝胶回收试剂盒及质粒小提试剂盒、*Taq* DNA 聚合酶、DNA Marker,大连宝生物工程有限公司;TE 缓冲液(pH 8.0)、5×TBE 电泳缓冲液、10% SDS、20 mg/mL 蛋白酶 K、酚/氯仿/异戊醇(25:24:1, 体积比)、氯仿/异戊醇(24:1, 体积比)、0.5 mol/L EDTA、10 mol/L CTAB、5 mol/L NaCl、1%的琼脂糖凝胶、预冷异丙醇、3 mol/L 醋酸钠,试验所用缓冲液和常用试剂均参照供应商所提供实验手册配制。

1.1.3 主要仪器:DYY-12 电泳仪,北京六一仪器厂;CDS-800 型 UVP 凝胶成像分析系统,Sagecreation 公司;5804 台式高速冷冻离心机、微量加样器,Eppendorf 公司;HHSI-NI 电热恒温水浴槽,北京长安科学仪器厂;ND-2000 型微量紫外分光光度计,基因有限公司;THZ-C 恒温振荡器,太仓实验设备厂;ZHUY-200D 恒温培养振荡

器,上海智城分析仪器制造有限公司;PL303/01 电子天平,Mettler Toledo 公司;MLS-3751L 型全自动高压蒸汽灭菌器,Panasonic 仪器公司;DHP-9272 型电热恒温培养箱,上海一恒科学仪器有限公司;HC-2518 型台式高速离心机,安徽中科中佳科学仪器有限公司;SW-CJ-2FD 型双人单面净化工作台,苏州净化设备有限公司;Agilent 2100 生物分析仪,Agilent Technologies 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 粪便样品采集及保存:用一次性采样勺采集约 10 g 志愿者的新鲜晨便样品于 50 mL 离心管中,向离心管中加入约 2-3 倍体积的保护液充分混匀,用封口膜封好采样管管口,立即将其置于液氮中,并置于-80 °C 保存。

1.2.2 粪便中细菌宏基因组 DNA 的提取:经过前期试验条件摸索,采用 Bead-Beating 加试剂盒的方法提取。质地较稀的样品选用德国 QIAGEN 粪便基因组 DNA 提取试剂盒,而较为粘稠或较硬的样品则选用美国 MOBIO 粪便基因组 DNA 提取试剂盒提取。用琼脂糖凝胶电泳检测提取后的 DNA 的完整性和纯度,然后用微量紫外分光光度计检测其浓度,将符合试验要求的 DNA 置-80 °C 保存备用。

1.2.3 细菌 16S rRNA 基因 V3-V4 可变区扩增:用细菌 16S rRNA 基因 V3-V4 可变区通用 PCR 扩增引物,扩增引物为:338F (5'-ACTCCTACGGGAGG CAGCA-3')和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCT AAT-3')。以提取的 DNA 作为模板,用上述引物进行扩增。PCR 反应体系为:10×PCR buffer 5 μL, dNTP mix (2.5 mmol/μL) 4 μL, 正反向引物 (10 μmol/L)各 1.5 μL, 模板 DNA 1.5 μL, *Taq* DNA 聚合酶(5 U/μL) 0.5 μL, ddH₂O 补足至 50 μL。PCR 反应条件为:95 °C 4 min; 95 °C 1 min, 55 °C 45 s, 72 °C 1 min, 20-25 次循环; 72 °C 7 min, 4 °C 终止反应。

1.2.4 PCR 产物纯化、平衡及测序:对扩增的 PCR 产物采用柱纯化的方式进行纯化,并采用

Agilent DNA 1000 试剂盒和 Agilent 2100 生物分析仪定量 PCR 产物。将 22 份样品的宏基因组 DNA 定量到 100 nmol/L 的浓度后, 分别加载到 Illumina MiSeq 高通量测序平台进行测序。

1.2.5 测序结果的生物信息学处理: 筛选高质量 DNA 序列后, 使用 QIIME 分析平台对所提取的高质序列在去除前后引物和标签后进行生物信息学分析。先使用 PyNAST 校准排齐序列, 再使用 100% 相似性进行 Uclust 归并建立无重复的 V3-V4 序列集。在 100% 相似性归并的基础上进行了 97% 相似性的归并, 建立了分类操作单元(Operational taxonomic units, OTU)。所得 OTU 序列用 ChimeraSlayer 去除其可能存在的嵌合体序列后, 用 Ribosomal database project (RDP) classifier 对剩余序列进行同源性比对和种属分类学鉴定。将剩余的代表序列插入 FastTree 软件生成所有 OTU 代表序列的系统发育进化树, 并在此基础上进行 α 和 β 多样性计算。可通过 α 多样性中的香农指数 (Shannon-Wiener index) 和超 1 指数 (Chao1 index), 分别对样品菌群构成的丰度和多样性进行评价。在基于 UniFrac Distance 上对各样品之间进行加权 (Weighted) 和非加权 (Unweighted) 的主坐标分析 (Principal coordinate analysis, PCoA), 同时采用基于 UniFrac Distance 的非加权组平均法 (Unweighted pair-group method with arithmetic mean, UPGMA) 进行样品聚类。

1.2.6 数据的统计分析及图表绘制: 使用 Mann-Whitney 或 Kruskal-Wallis tests 对黎族人肠道菌属的相对含量进行显著性分析, 使用多元方差分析 (Multivariate analysis of variance, MANOVA) 对黎族人肠道菌群群落结构的差异性进行显著性分析, 使用 Spearman Rank 进行肠道核心菌群与营养元素的相关性分析。应用 R 语言 Pheatmap 包进行聚类分析和热图构建, 应用 Ade4 包进行菌群与饮食的相关性分析。试验设计原始测序数据上传 NCBI 网站, 数据项目编号是: PRJNA356130。

2 结果与分析

2.1 志愿者信息及样品测序情况概述

通过高通量测序和序列提取质控, 22 份测序样品共产生 251 719 条高质序列, 平均每个样品获取高质序列数超过 11 000 条 (Range=7 300-15 099), 可以满足后续分析需求 (一般认为对于人类肠道微生物宏基因组的研究, 细菌 16S rRNA 基因可变区测序条带数平均大于 8 000 条即可满足后续多样性分析要求)。按 97% 的相似度共划分出 15 172 个 OTU 进行后续分析, 平均每个样品 OTU 为 690 个 (Range=403-1 187)。志愿者信息及样品测序情况概述见表 1。

表 1 志愿者信息及样品测序情况概述
Table 1 The information of subjects and summarize of sequencing

样品 Sample	性别 Sex	年龄 Age	身体质量指数 BMI	条带 Band	操作分类单元 OTU
LN1	男	36	22.66	11 344	752
LN2	女	44	21.33	10 908	511
LN3	男	29	28.67	12 107	623
LN4	女	23	17.48	9 782	645
LN5	男	29	19.23	11 078	464
LN6	男	32	19.95	9 750	599
LN7	男	29	17.19	10 412	518
LN8	女	42	21.63	11 913	610
LN9	男	39	24.77	15 099	830
LN10	女	26	21.46	14 247	629
LN11	男	29	21.19	11 374	750
LN12	女	38	23.56	10 198	951
LN13	男	44	21.99	8 989	1 062
LN14	女	36	23.18	14 917	993
LN15	女	42	20.96	12 254	752
LN16	男	33	20.03	9 931	737
LN17	女	24	23.31	9 753	403
LN18	女	37	17.42	7 300	546
LN19	男	38	24.24	11 973	606
LN20	女	23	19.53	12 771	1 187
LN21	男	26	18.99	12 827	436
LN22	男	38	20.45	12 792	568

2.2 黎族人肠道微生物结构特征及核心菌群

在门水平上,通过对筛选出的高质序列进行 RDP 和 BLAST 同源性序列比对发现,健康黎族志愿者粪便中含量最高的两个细菌门为拟杆菌门(Bacteroidetes, 58.96%)和硬壁菌门(Firmicutes, 37.77%),总含量达到序列总数的 96.73%。此外,变形菌门(Proteobacteria, 1.20%)、软壁菌门(Tenericutes, 0.70%)、放线菌门(Actinobacteria, 0.47%)、迷踪菌门(Elusimicrobia, 0.18%)和黏胶球形菌门(Lentisphaerae, 0.11%)含量依次递减。

在属水平上,健康黎族志愿者粪便中含量最高的是 *Prevotella*, 平均含量达到菌群总量的 49.38%。此外,在黎族人粪便中隶属于硬壁菌门且相对含量大于 1.0%的细菌属为:栖粪杆菌属(*Faecalibacterium*, 4.56%)、真细菌属(*Eubacterium*, 3.23%)、颤杆菌属(*Oscillibacter*, 2.83%)、巨型球菌属(*Megasphaera*, 1.78%)、瘤胃球菌属(*Ruminococcus*, 1.54%)、小杆菌属(*Dialister*, 1.49%)、链型杆菌属(*Catenibacterium*, 1.42%)和罗氏菌属(*Roseburia*, 1.02%),含量依次递减。属于拟杆菌门且相对含量大于 1.0%的细菌属为 *Prevotella* (49.38%)和 *Bacteroides* (4.00%),含量依次递减。从以上结果可知,黎族人肠道细菌的优势细菌门为 Firmicutes 和 Bacteroidetes,优势细菌属为 *Prevotella*、*Faecalibacterium* 和 *Bacteroides*。

应用斯皮尔曼等级数计算黎族人肠道核心菌属的相关系数,并根据菌属的相对含量应用重心聚类方法(Centroid linkage)进行聚类分析,分析结果如图 1 所示。在核心菌属中,罕见小球菌属(*Subdoligranulum*)与 *Oscillibacter* 呈明显正相关,相关系数为 0.54。柯林斯菌属(*Collinsella*)与多尔氏菌属(*Dorea*)呈明显正相关,相关系数为 0.46。*Collinsella* 与 *Roseburia* 呈明显负相关,相关系数为-0.58。

22 名志愿者肠道中优势菌群的分布情况如图 2 所示,结合表 1 志愿者的身体质量指数 BMI 可以看出,大部分志愿者体质偏瘦,相应肠道菌群中

以 *Prevotella* 为主要菌群,而 *Bacteroides* 菌群偏少。然而 LN3、LN9 和 LN19 志愿者的身体质量指数 BMI 值偏大,尤其是 LN3 志愿者的身体质量指数 BMI 值超过 28,相应的 LN3、LN9 和 LN19 志愿者肠道内 *Bacteroides* 菌群数量高于其他志愿者。

2.3 黎族人与全国其他民族人群的结构差异及菌属差异

基于加权和非加权(Weighted 和 Unweighted) Unifrac Distance 的主坐标分析(Principal coordinate analysis, PCoA)对样品进行分析,与已有文献中关于中国其他民族人群肠道菌群的研究结果^[14]进行对比,展示出黎族人与中国其他民族人群肠道菌群的相互关系。由图 3A、B 可见,黎族人肠道中的细菌属与其他民族人群差异显著。在属水平上(表 2), *Catenibacterium*、*Prevotella* 和 *Megasphaera* 等在黎族人肠道中含量较高的细菌属在其他民族人群肠道中含量较低或者没有,巨单胞菌属(*Megamonas*)、考拉杆菌属(*Phascolarctobacterium*)和布劳特氏菌属(*Blautia*)等在其他民族人群肠道中含量较高的细菌属在黎族人肠道中含量较低或者没有。

通过计算样品中香农指数、辛普森指数(Simpson index)、超 1 指数和获得菌种数量值(Observed species)并取平均值,可得到黎族志愿者肠道菌群的 α 多样性,反映出样品中微生物多样性和物种丰富度。如图 3C 所示,获得的香农指数、超 1 指数和获得菌种数量值显著低于中国其他民族人群肠道菌群相应多样性指数,说明黎族人肠道菌群 α 多样性显著低于中国其他民族。

2.4 饮食特征描述及核心微生物与饮食的相关性

通过对 22 名黎族志愿者饮食摄入情况的详细记录,推算出黎族人日常饮食营养物质表(表 3)。分析可知,黎族人日常饮食中膳食纤维的摄入量明显高于全国平均水平、蛋白质和脂肪的摄入量明显低于全国平均水平^[15],尤其是脂肪的摄入更少。这与黎族人日常饮食中以植物性食物为主、动物性食物摄入较少的饮食结构相一致。

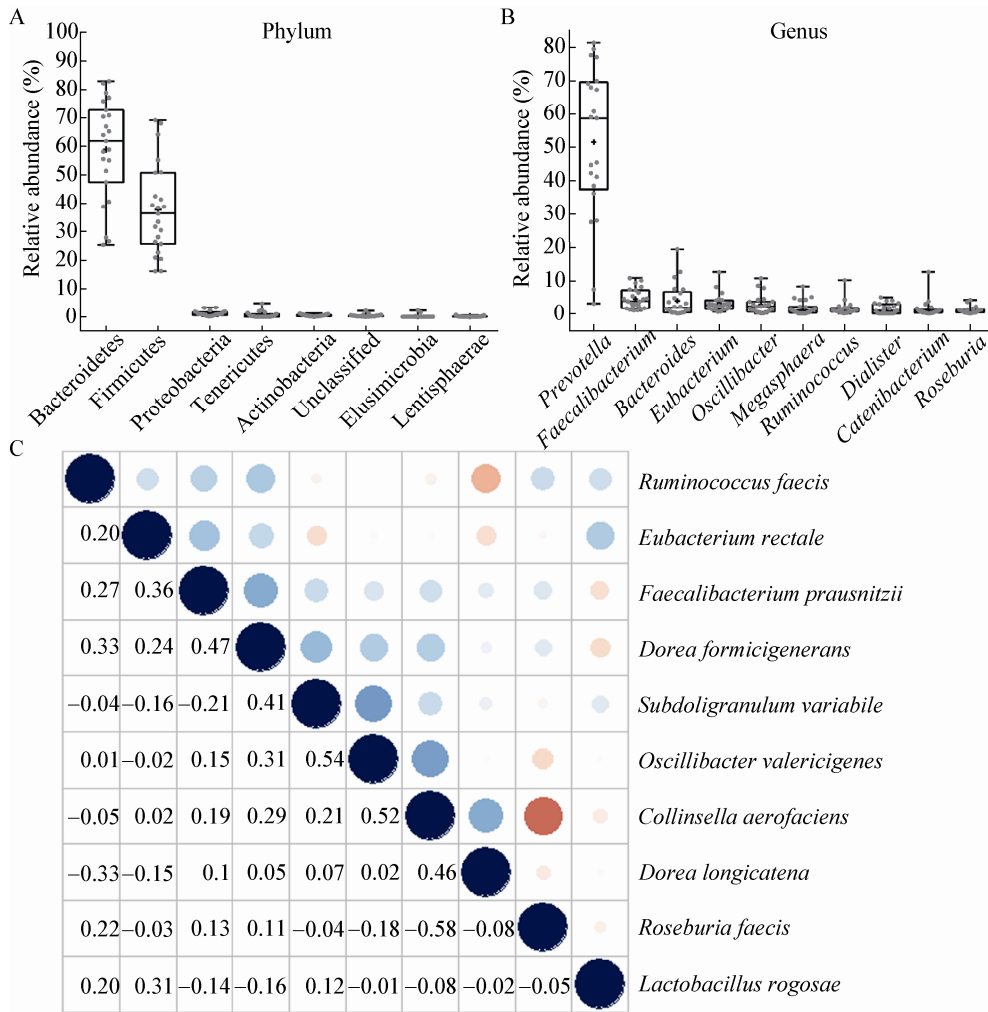


图 1 黎族人肠道菌群构成及核心微生物群落特征

Figure 1 The composition of gut microbiota and community characters of core gut microbiota of Li cohort

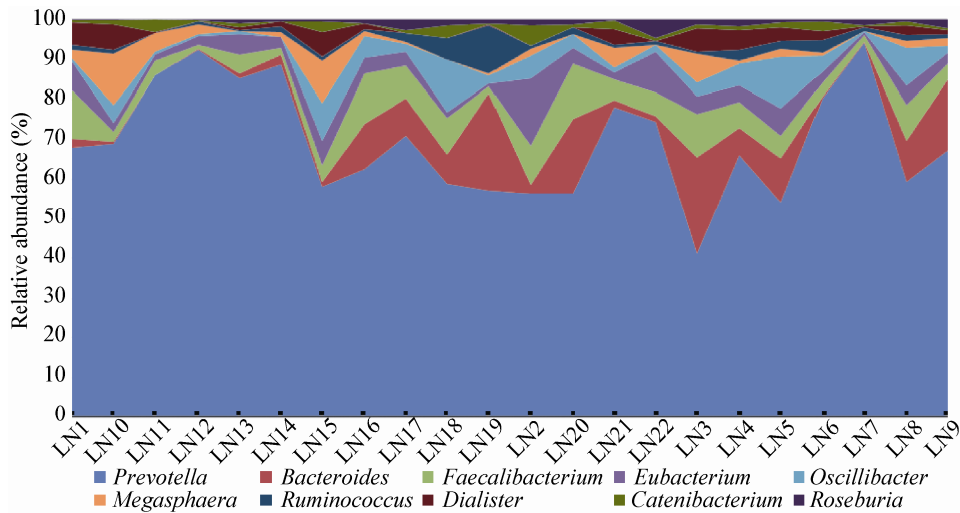


图 2 各志愿者肠道优势菌属含量分布

Figure 2 The distribution of intestinal dominant bacteria genera in each volunteer

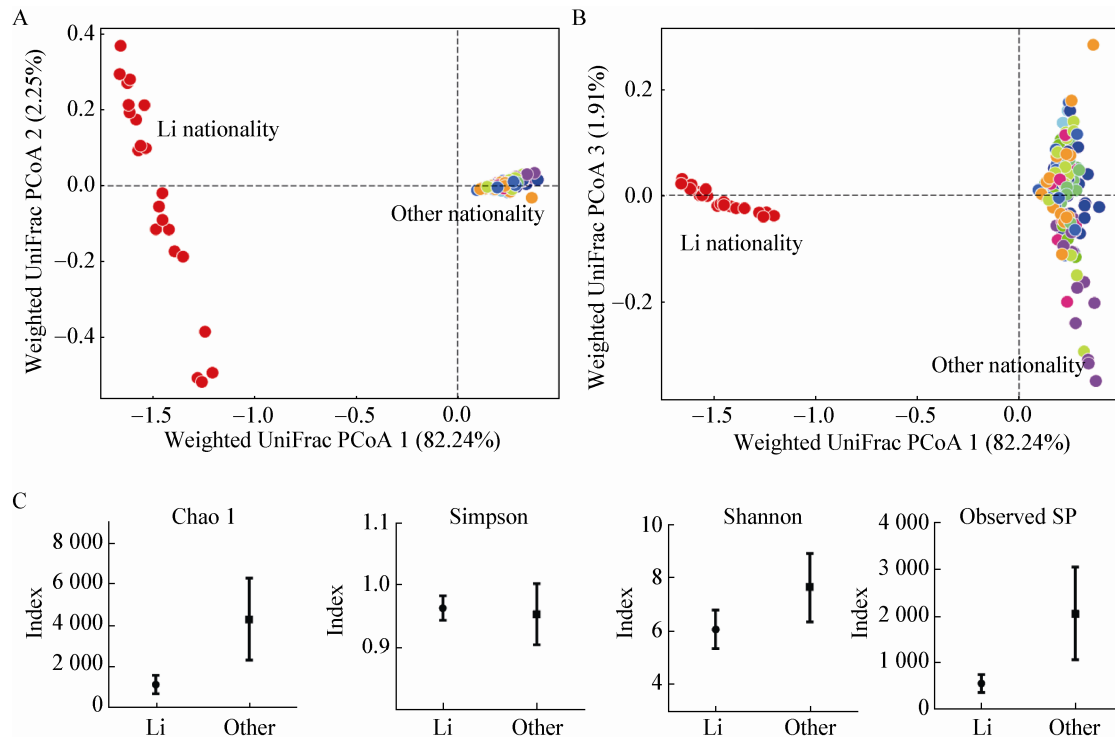


图3 黎族与其他民族志愿者肠道菌群 α 和 β 多样性比较

Figure 3 The α diversity and β diversity of intestinal microbiota among Li cohort and other national volunteers

通过对肠道核心微生物与营养物质相关性分析发现(图4), 普氏粪杆菌(*Faecalibacterium prausnitzii*)与膳食纤维、Cu、Mg和Mn呈显著正相关, 与脂肪和VB₂呈显著负相关, 说明饮食中膳食纤维、Cu、Mg和Mn含量较高的人群肠道菌群中*Faecalibacterium prausnitzii*数量较多, 而饮食中脂肪和VB₂含量较高的人群肠道菌群中*Faecalibacterium prausnitzii*数量则较少。罗氏乳杆菌(*Lactobacillus rogosae*)与膳食纤维、Zn和Fe呈显著正相关, 与烟酸呈显著负相关, 说明饮食中膳食纤维、Zn和Fe含量较高的人群肠道菌群中*Lactobacillus rogosae*数量较多, 而饮食中烟酸含量较高的人群肠道菌群中*Lactobacillus rogosae*数量则较少。

3 讨论

黎族人肠道菌群的优势细菌门为拟杆菌门和硬壁菌门, 其含量分别为58.96%和37.77%, 这与欧洲人^[16]、韩国人^[17]和蒙古人^[18]的肠道优势菌群一

致。在属水平上, 普氏菌属在黎族人肠道菌群中所占比例最大, 达到了总含量的49.38%。经过查阅文献发现, *Prevotella* (尤其是*Prevotella ruminicola*) 在肠道中主要参与碳水化合物及植物蛋白质的分解代谢, 分解后的主要产物有乙酸和氢气等物质^[19], 而拟杆菌属在肠道中主要参与动物蛋白、氨基酸和脂肪的代谢。Wu等^[20]的研究证实长期的饮食结构与肠道内*Bacteroides*和*Prevotella*的含量有着密切关系, 特别是长期摄入蛋白质和动物脂肪会使*Bacteroides*含量提高, 而长期以碳水化合物为主的膳食结构则会使其肠道内*Prevotella*富集。结合采样过程中所记录的黎族志愿者的饮食情况, 我们发现黎族人的饮食结构类似于地中海饮食结构, 日常饮食中以素食为主, 喜好清淡。因此, *Prevotella*成为黎族志愿者肠道中的优势菌属也是食物调控的结果。Liu等^[9]的研究表明, 处于内陆干旱、半干旱型气候环境中以红肉和乳制品为主要膳食的蒙古人肠道内含量最高的是*Prevotella*, 该菌群产生短

链脂肪酸发挥抗炎作用, 使膳食纤维摄入比例很低的蒙古人仍然可以保持健康。Schnorr 等^[21]的研究发现, 适应稀树大草原环境生活的哈扎人肠道菌群多样性非常丰富, 含有高水平的螺旋体菌属 (*Treponema*) 和低水平的 *Bifidobacterium*, 且哈扎人

男女的肠道菌群结构显著不同, 这可能与其男女的饮食结构不同有直接关系, 哈扎人中男性主要狩猎和采集蜂蜜, 女性则收集块茎等植物食物。由此可知, 在生活环境、基因等其他因素相同的情况下, 饮食是塑造肠道菌群结构的主要因素。

表 2 黎族人与全国其他民族人群肠道差异性菌属
Table 2 Different genera among Li cohort and other ethnic groups

菌属 Bacterial genus	白族 Bai	藏族 Tibetan	维族 Wei	蒙族 Mongol	壮族 Zhuang	汉族 Han	黎族 Li	P 值 P-value
<i>Catenibacterium</i>	0.02	0.01	0.02	0.00	0.00	0.00	1.42	7.54E-19
<i>Methanosphaera</i>	0.15	0.00	0.78	0.06	0.02	0.16	0.00	3.85E-17
<i>Bifidobacterium</i>	0.77	0.71	4.67	4.53	0.52	1.49	0.00	4.29E-15
<i>Methanobrevibacter</i>	0.19	1.53	5.10	1.55	0.60	0.87	0.00	1.02E-12
<i>Megamonas</i>	12.70	3.46	5.79	1.24	8.67	9.99	0.00	1.41E-12
<i>Prevotella</i>	4.73	18.48	1.40	0.36	6.02	2.58	47.27	6.47E-12
<i>Gemmiger</i>	0.36	0.24	0.78	0.37	0.34	0.76	0.00	8.21E-12
<i>Trabulsilla</i>	0.52	0.51	3.41	2.25	2.18	2.05	0.00	8.95E-12
<i>Blautia</i>	4.77	4.22	3.70	4.88	5.83	6.93	0.22	2.54E-11
<i>Oscillibacter</i>	0.03	0.39	0.08	0.08	0.07	0.05	2.83	3.43E-11
<i>Enterobacter</i>	0.29	0.04	0.31	0.29	0.37	0.89	0.00	4.09E-11
<i>Sutterella</i>	0.09	0.23	0.05	0.44	0.05	0.03	0.58	1.69E-09
<i>Megasphaera</i>	0.17	0.14	2.07	0.07	0.01	0.65	1.78	1.47E-08
<i>Mitsuokella</i>	0.00	0.00	0.41	0.00	0.00	0.02	0.29	4.90E-08
<i>Parasutterella</i>	0.37	0.07	0.57	0.81	0.41	0.35	0.09	3.24E-07
<i>Butyricoccus</i>	0.12	0.05	0.10	0.19	0.20	0.19	0.04	5.57E-07
<i>Phascolarctobacterium</i>	8.30	13.47	13.25	21.49	16.63	8.17	0.60	6.18E-07
<i>Dialister</i>	0.06	0.06	0.59	0.01	0.01	0.07	1.49	2.24E-06
<i>Akkermansia</i>	0.02	2.59	0.18	0.76	0.15	0.23	0.06	3.08E-06
<i>Succinivibrio</i>	0.05	0.54	1.25	0.00	0.00	0.01	0.20	1.96E-05
<i>Clostridium</i>	2.49	2.38	1.97	2.46	2.22	3.12	0.95	0.000 1
<i>Lachnospira</i>	0.33	0.09	0.04	0.10	0.12	0.19	0.03	0.000 2
<i>Streptococcus</i>	0.19	0.07	0.76	0.23	1.07	0.34	0.77	0.000 3
<i>Dorea</i>	1.48	1.21	1.08	1.01	1.53	1.71	0.56	0.000 7
<i>Lactobacillus</i>	0.90	0.34	0.62	0.72	0.24	0.34	0.46	0.001 0
<i>Ruminococcus</i>	2.45	3.43	1.63	2.13	3.66	3.02	1.54	0.001 5
<i>Coproccoccus</i>	0.65	1.09	0.52	1.29	0.99	1.14	0.68	0.001 8
<i>Parabacteroides</i>	0.17	0.26	0.09	0.34	0.26	0.30	0.88	0.001 9
<i>Collinsella</i>	0.29	0.70	1.10	0.82	0.61	0.66	0.29	0.012 6
<i>Bacteroides</i>	4.83	7.04	5.34	10.40	3.05	3.63	6.31	0.024 7

表3 黎族人日常饮食营养物质调查表
Table 3 Daily dietary nutrition ingredient of Li cohort

营养成分 Nutrient content	日均摄入量 Daily intake	营养成分 Nutrient content	日均摄入量 Daily intake
Protein (g)	64.91	Mg (mg)	248.31
Fat (g)	34.16	Ca (mg)	241.31
Carbohydrate (g)	206.13	Fe (mg)	14.49
Fiber (g)	20.25	Zn (mg)	7.77
VA (μ g)	156.79	Cu (mg)	0.47
VC (mg)	52.85	Mn (mg)	0.93
VB ₁ (mg)	1.03	K (mg)	1 460.46
VB ₂ (mg)	0.34	P (mg)	484.71
Niacin (mg)	7.59	Se (μ g)	38.06

基于微生物群落 α 和 β 多样性的分析结果, 我们证实了黎族人的肠道菌群与中国其他民族人群的肠道菌群差异显著, 差异显著的菌属为 *Catenibacterium*、*Prevotella*、*Megasphaera*、*Megamonas*、*Phascolarctobacterium* 和 *Blautia* 等, 而且黎族人肠道菌群差异比中国其他民族人群的肠道菌群差异要小。早在 2012 年, Yatsunenکو 等^[22]通过对 531 名分布于南美洲委内瑞拉亚马逊州、非洲南部马拉威共和国和北美洲美国城市人的肠道菌群结构进行研究, 认为不同地区人群的肠道菌群的构成及其功能差异显著。郑艺等^[23]和黄卫强等^[24]分别对壮族人和白族人肠道菌群的多样性进行了研究, 证明不同民族成年人肠道菌群聚类现象明显。黎族人的

饮食结构是导致其与中国其他民族人群肠道菌群差异显著的主要原因, 其肠道菌群中参与碳水化合物以及植物蛋白质分解代谢的菌属比较多, 如 *Prevotella* 等。此外, 本研究所采用的是基于 16S rRNA 基因 V3-V4 可变区的高通量测序技术对黎族人的肠道菌群进行研究, 而此前研究中国其他民族人群肠道菌群多样性的文献中多采用 PCR 和 DGGE 技术, 研究方法的不同可能也会对研究结果产生一定的影响。

4 结论

基于 16S rRNA 基因 V3-V4 可变区的高通量测序技术分析黎族人肠道菌群的多样性, 结果发现黎族人肠道菌群中以 Firmicutes 和 Bacteroidetes 为优势菌门, *Prevotella* 为优势菌属。结合黎族志愿者的饮食情况, 可发现黎族人日常饮食以素食为主, 脂肪摄入较少, 这与黎族人肠道菌群中 *Prevotella* 为最优势菌属结论一致。对黎族人肠道菌群多样性的研究, 实质上是探讨基因型和饮食结构对肠道菌群的影响。基于微生物群落 α 和 β 多样性的分析结果证实, 黎族人肠道菌群与中国其他民族人群肠道菌群呈现出显著差异且明显低于其他民族, 差异显著菌属为 *Catenibacterium*、*Prevotella* 和 *Megasphaera* 等。通过对黎族人肠道菌群构成

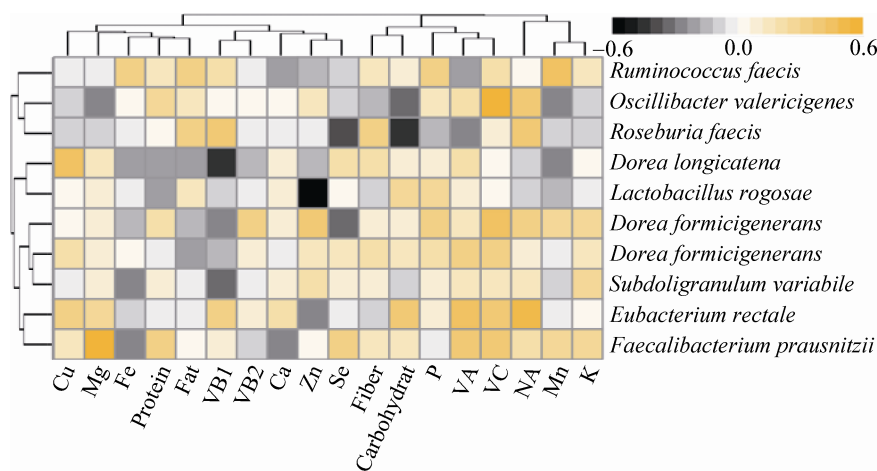


图4 肠道核心微生物与营养物质相关性分析

Figure 4 The correlation of core gut microbiota and nutrients

和饮食关联性的研究, 可有效反映出肠道微生物在不同地域和民族之间的差异, 这有利于进一步了解我国少数民族的健康情况, 同时也为基于肠道菌群为靶点的人体肠道微生态平衡调控及宿主健康管理提供基础数据。

参 考 文 献

- [1] Hooper LV, Gordon JI. Commensal host-bacterial relationships in the gut[J]. *Science*, 2001, 292(5519): 1115-1118
- [2] Matsumoto M, Kibe R, Ooga T, et al. Impact of intestinal microbiota on intestinal luminal metabolome[J]. *Scientific Reports*, 2012, 2: 233
- [3] Mazmanian SK, Liu CH, Tzianabos AO, et al. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system[J]. *Cell*, 2005, 122(1): 107-118
- [4] Zoetendal EG, Akkermans ADL, Akkermans WM, et al. The host genotype affects the bacterial community in the human gastrointestinal tract[J]. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 2001, 13(3): 129-134
- [5] Mueller S, Saunier K, Hanisch C, et al. Differences in fecal microbiota in different European study populations in relation to age, gender, and country: a cross-sectional study[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(2): 1027-1033
- [6] Ley RE, Hamady M, Lozupone C, et al. Evolution of mammals and their gut microbes[J]. *Science*, 2008, 320(5883): 1647-1651
- [7] Arumugam M, Raes J, Pelletier E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome[J]. *Nature*, 2011, 473(7346): 174-180
- [8] Nam YD, Jung MJ, Roh SW, et al. Comparative analysis of Korean human gut microbiota by barcoded pyrosequencing[J]. *PLoS One*, 2011, 6(7): e22109
- [9] Liu WJ, Zhang JC, Wu CY, et al. Unique features of ethnic Mongolian gut microbiome revealed by metagenomic analysis[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 34826
- [10] Tyakht AV, Kostyukova ES, Popenko AS, et al. Human gut microbiota community structures in urban and rural populations in Russia[J]. *Nature Communications*, 2013, 4: 2469
- [11] Finegold SM, Attebery HR, Sutter VL. Effect of diet on human fecal flora: comparison of Japanese and American diets[J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1974, 27(12): 1456-1469
- [12] Zhai QX, Tian FW, Wang G, et al. Progress in research on the role of intestinal microbiota in human health[J]. *Food Science*, 2013, 34(15): 337-341 (in Chinese)
翟齐啸, 田丰伟, 王刚, 等. 肠道微生物与人体健康的研究进展[J]. *食品科学*, 2013, 34(15): 337-341
- [13] Connolly ML, Lovegrove JA, Tuohy KM. *In vitro* evaluation of the microbiota modulation abilities of different sized whole oat grain flakes[J]. *Anaerobe*, 2010, 16(5): 483-488
- [14] Zhang JC, Guo Z, Xue ZS, et al. A phylo-functional core of gut microbiota in healthy young Chinese cohorts across lifestyles, geography and ethnicities[J]. *The ISEM Journal*, 2015, 9(9): 1979-1990
- [15] Fan YO, Liu AL, He YN, et al. Assessment of nutrient adequacy of adult residents in China[J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2012, 34(1): 15-19 (in Chinese)
范轶欧, 刘爱玲, 何宇纳, 等. 中国成年居民营养素摄入状况的评价[J]. *营养学报*, 2012, 34(1): 15-19
- [16] Qin JJ, Li RQ, Raes J, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing[J]. *Nature*, 2010, 464(7285): 59-65
- [17] Nam YD, Jung MJ, Roh SW, et al. Comparative analysis of Korean human gut microbiota by barcoded pyrosequencing[J]. *PLoS One*, 2011, 6(7): 22109
- [18] Zhang J, Zheng Y, Guo Z, et al. The diversity of intestinal microbiota of Mongolians living in Inner Mongolia, China[J]. *Beneficial Microbes*, 2013, 4(4): 319-328
- [19] Maslowski KM, Vieira AT, Ng A, et al. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43[J]. *Nature*, 2009, 461(7268): 1282-1286
- [20] Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes[J]. *Science*, 2011, 334(6052): 105-108
- [21] Schnorr SL, Candela M, Rampelli S, et al. Gut microbiome of the Hadza hunter-gatherers[J]. *Nature Communications*, 2014, 5: 3654
- [22] Yatsunenkov T, Rey FE, Manary MJ, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography[J]. *Nature*, 2012, 486(7402): 222-227
- [23] Zheng Y, Zhang JC, Qiao JM, et al. The diversity of gut Microbiota of Zhuang ethnic group living in urban and rural[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2016, 16(1): 226-236 (in Chinese)
郑艺, 张家超, 乔健敏, 等. 壮族人群肠道菌群多样性分析[J]. *中国食品学报*, 2016, 16(1): 226-236
- [24] Huang WQ, Zhang JC, Zheng Y, et al. The diversity of gut microbiota of Bai ethnic group[J]. *Microbiology China*, 2015, 42(3): 504-515 (in Chinese)
黄卫强, 张家超, 郑艺, 等. 白族成年人肠道菌群多样性研究[J]. *微生物学通报*, 2015, 42(3): 504-515