

## 研究报告



## 低氧暴露对大鼠肠道微生物群落的影响

马燕<sup>1,2</sup> 马爽<sup>1,2</sup> 尚春香<sup>1,2</sup> 格日力<sup>\*1,2</sup>

1 青海大学医学院高原医学研究中心 青海 西宁 810001

2 青海省高原医学应用基础重点实验室 青海 西宁 810001

**摘要:** 【背景】低氧暴露时机体会对物质的吸收和代谢作出调整,以维持自身的能量需求。肠道微生物参与了宿主众多生理过程,尤其在宿主消化、代谢、免疫等多方面发挥了重要作用。而目前对于低氧暴露过程中宿主肠道微生物群落结构和功能的动态变化,以及这些变化与宿主习服低氧之间的关系则少有报道。【目的】研究大鼠暴露于低氧环境后其肠道微生物群落的结构和多样性,探讨低氧暴露对宿主肠道微生物群落的影响,以及肠道微生物群落的变化与宿主代谢之间可能存在的关系。【方法】分别收集低氧暴露 1、7、14、21 和 28 d 的实验组(模拟海拔 4 500 m)和对照组(43.5 m)的 SD 大鼠粪便样品,通过 Illumina HiSeq 测序平台对样品进行 16S rRNA V3–V4 区测序,利用 Uparse、Qiime、LEfSe 和 PICRUST 软件分析肠道微生物群落结构、丰度、多样性、组间差异,并利用 KEGG 数据库对肠道微生物的功能进行预测。【结果】不同低氧暴露时间组和对照组 SD 大鼠肠道微生物群落特征具有明显差异。低氧暴露组 SD 大鼠的肠道微生物群落中拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、拟杆菌目(*Bacteroidales*)、拟杆菌科(*Bacteroidaceae*)、普氏菌科(*Prevotellaceae*)、普氏菌属(*Prevotella*)和普氏菌种(*copri*)的相对丰度较高且具有统计学意义。相应时间的对照组 SD 大鼠肠道微生物群落中瘤胃球菌科(*Ruminococcaceae*)、瘤胃球菌属(*Ruminococcus*)、梭菌纲(*Clostridia*)和梭菌目(*Clostridiales*)等相对丰度较高且具有统计学意义。功能预测发现遗传信息处理和代谢相关通路在低氧暴露组 SD 大鼠肠道微生物中明显富集。【结论】低氧暴露过程中 SD 大鼠肠道微生物群落结构和多样性呈动态变化,碳水化合物代谢相关菌群(普氏菌和拟杆菌)明显增加,可能参与了宿主能量代谢调整,有利于机体对低氧环境的习服。

关键词: 低氧, 肠道微生物, 高通量测序

## Effects of hypoxic exposure on rats' gut microbiota

MA Yan<sup>1,2</sup> MA Shuang<sup>1,2</sup> SHANG Chun-Xiang<sup>1,2</sup> Gerili<sup>\*1,2</sup>

1 Research Center for High Altitude Medicine, Qinghai University Medical College, Xining, Qinghai 810001, China

2 Key Laboratory for Application of High Altitude Medicine in Qinghai Province, Xining, Qinghai 810001, China

**Abstract:** [Background] Individuals adjust their nutrition absorption and energy metabolism when exposing to hypobaric hypoxia. Gut microbiota performs essential functions for host physiology, including

**Foundation items:** National Key Basic Research Program of China (2012CB518200); National Natural Science Foundation of China (31571231)

\*Corresponding author: E-mail: geriligao@hotmail.com

**Received:** 16-04-2018; **Accepted:** 22-05-2018; **Published online:** 06-06-2018

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973 计划)(2012CB518200); 国家自然科学基金(31571231)

\*通信作者: E-mail: geriligao@hotmail.com

收稿日期: 2018-04-16; 接受日期: 2018-05-22; 网络首发日期: 2018-06-06

digestive, metabolic, and immune mechanisms. However, little is known about the dynamic composition of gut microbiota as well as metabolic function during host acclimatized to hypobaric hypoxia. **[Objective]** To characterize and compare the gut microbiota of SD rats during 1, 7, 14, 21 and 28 days after being exposed to a simulated altitude of 4 500 m (hypobaric chamber) with control groups (43.5 m). **[Methods]** We studied fecal samples by Illumina HiSeq platform targeting the V3-V4 region of the 16S rRNA gene. Sequences were processed using the QIIME software package, UPARSE pipeline. LEfSe analysis was used to determine the different species between groups. The functional profiles of microbial communities were predicted by using PICRUSt. **[Results]** Fecal microbiota analysis revealed that the hypoxic exposure caused distinctive gut microbiota in rats, compared to the control groups. We detected the overrepresentation of *Bacteroidetes*, *Bacteroidales*, *Bacteroidaceae*, *Prevotellaceae*, *Prevotella*, *copri* and underrepresentation of *Ruminococcaceae*, *Ruminococcus*, *Clostridia* and *Clostridiales* in hypoxic exposure rats' feces. PICRUSt analysis revealed that Genetic Information Processing and metabolic related pathways were enriched in the hypoxic exposure groups than those in the control groups. **[Conclusion]** Hypoxic exposure caused dramatic changes of the structure, diversity and predicted function of gut microbiota in rats. The relative abundance of gut microbiota with complex glycan depolymerisation were enriched after hypoxic exposure. Those may involve in host adjustment of metabolism, and could be beneficial for host acclimatized to hypobaric hypoxia.

**Keywords:** Hypoxia, Gut microbiota, High-throughput sequencing

高原环境是一个特殊而复杂的生态环境系统, 具有高寒、低氧、强紫外线辐射等气候特点<sup>[1]</sup>。高原恶劣的自然环境会对人或动物的生存和繁衍产生诸多影响<sup>[2]</sup>。以往对高原习服和损伤的研究多集中在呼吸、循环和血液系统, 对消化系统的关注较少。高原环境会导致胃肠消化功能障碍, 食物摄入、吸收、转运都受到不同程度的影响。低海拔人群快速进入海拔 3 000 m 以上的高原后除了出现头昏、头痛、心慌、气促、失眠等症状外, 消化系统症状发生率较高, 而且随着海拔增高, 消化系统症状发生率有不同程度的增加, 尤其以恶心、呕吐、腹泻、食欲减退、体质量降低等症状最为突出<sup>[3]</sup>。

肠道微生物作为人或动物的“共生体”, 辅助宿主进行营养吸收和能量代谢是其核心功能之一<sup>[4]</sup>。发酵、甲烷化和硫还原是肠道微生物进行物质代谢的主要方式<sup>[5]</sup>, 其以复杂碳水化合物和蛋白质为底物进行发酵, 对维持宿主正常生理功能具有重要意义<sup>[6]</sup>。肠道微生物利用底物发酵后的主要代谢产物短链脂肪酸 (Short chain fatty acid, SCFA) 参与调节机体营养代谢、能量供应、肠道免疫、炎症反应, 甚至对神经系统等诸多方面都有重要影响<sup>[7]</sup>。

以往就高原低氧对机体肠道微生物影响的

研究较少。其中对人体的研究发现平原人暴露于 3 505 m 的高原地区 15 d 后, 肠道中需氧菌的数量显著减少而兼性厌氧菌的数量明显增加<sup>[8]</sup>。将大鼠间歇性暴露于模拟海拔 4 872.9 m 的低氧环境 30 d 后发现了类似结果<sup>[9-10]</sup>。将大鼠急性暴露于高原低氧环境后会导致其肠道中双歧杆菌减少, 肠道菌群失调, 并且随着海拔的升高, 肠道菌群的失调率更高<sup>[11-12]</sup>。然而目前对持续性低氧暴露过程中宿主肠道微生物群落的结构、多样性改变, 以及这些变化与宿主习服低氧之间的关系尚未见报道。

本研究拟通过高通量测序技术和生物信息学方法, 探讨低氧暴露过程中 SD 大鼠肠道微生物群落结构、多样性的变化, 以及肠道微生物群落的变化与宿主代谢之间可能存在的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及分组

SPF (Specific pathogen free) 级 SD 雄性大鼠 40 只, 体重 250–300 g, 购于北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证号: SCXK(京)2012-10001。按体重大小标号后由随机数字表将大鼠随机分组, 分别为低氧暴露 1 d 组(H1D, 5 只)、低氧暴露 7 d

组(H7D, 5只)、低氧暴露 14 d 组(H14D, 5只)、低氧暴露 21 d 组(H21D, 5只)、低氧暴露 28 d 组(H28D, 5只)、对照 1 d 组(C1D, 3只)、对照 7 d 组(C7D, 3只)、对照 14 d 组(C14D, 3只)、对照 21 d 组(C21D, 3只)、对照 28 d 组(C28D, 3只)。每个笼具喂养 2–3 只。H1D、H7D、H14D、H21D、H28D 组饲养于青海大学高原医学研究中心低压氧舱(模拟海拔 4 500 m), C1D、C7D、C14D、C21D、C28D 组饲养于北京维通利华实验动物技术有限公司动物房。

正常饮食(饲料购于北京科奥协力饲料有限公司, 产品批号: 15073211)。所有器具、饲料均经过灭菌处理, 实验期间动物自由采食、进水, 并保持垫料干燥, 12 h 交替照明, 温度 18–22 °C。

## 1.2 主要试剂和仪器

PowerFecal™ DNA Isolation Kit, MO Bio Laboratories 公司; Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix, New England Biolabs 公司; GeneJET Gel Extraction Kit, Thermo Scientific 公司; TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit, Illumina 公司。

低压氧舱, 贵州风雷航空机械有限公司; 荧光实时定量仪、凝胶成像系统, Bio-Rad 公司; Nano Drop 2000c, Thermo Scientific 公司; 水平电泳仪, 北京六一仪器厂; HiSeq 测序平台, Illumina 公司。

## 1.3 样品采集与保存

分别在低氧暴露第 1 天取 H1D 和 C1D 组的粪便, 在低氧暴露第 7 天取 H7D 和 C7D 组的粪便, 低氧暴露第 14 天取 H14D 和 C14D 组的粪便, 低氧暴露第 21 天取 H21D 和 C21D 组的粪便, 低氧暴露第 28 天取 H28D 和 C28D 组的粪便。粪便采集的具体方法: 用 75% 酒精消毒大鼠肛周皮肤, 刺激其排便, 使用灭菌镊子从大鼠肛门部取出粪便保存于含磷酸缓冲液(PBS)的无菌 EP 管, 随后迅速投入液氮, 保存至 -80 °C 备用。

## 1.4 肠道微生物 DNA 的提取

取 0.2 g 粪便样品, 采用 PowerFecal™ DNA

Isolation Kit 提取样品中的基因组 DNA。提取后的 DNA 经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测其完整性, 选取条带清晰、DNA 浓度和纯度检测合格的样品送至天津诺禾致源生物信息科技有限公司测序。

## 1.5 PCR 扩增和纯化

以稀释后的基因组 DNA 为模板, 使用 16S rRNA 基因 V3–V4 区特异性 PCR 引物(341F: 5'-CCTAYGGGRBGCASCAG-3'; 806R: 5'-XXXXX XGGACTACNNGGTATCTAAT-3')进行 PCR 扩增。30 µL PCR 反应体系: Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix 15 µL, 模板 DNA 10 ng, 正、反向引物 0.2 µmol/L。PCR 反应条件: 98 °C 1 min; 98 °C 10 s, 50 °C 30 s, 72 °C 30 s, 30 个循环; 72 °C 5 min。PCR 产物 4 °C 保存。根据 PCR 产物浓度进行等量混样, 充分混匀后使用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测, 采用 GeneJET Gel Extraction Kit 对目的条带进行回收。

## 1.6 文库构建和上机测序

使用 TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 进行文库构建, 检测合格后, 使用 HiSeq2500 PE250 进行上机测序。

## 1.7 生物信息分析

使用 QIIME 和 FLASH 软件对测序得到的原始数据进行拼接、过滤, 得到有效数据。利用 Uparse 软件对所有样品的有效数据按 97% 的相似度进行 OTU (Operational taxonomic unit) 聚类。筛选 OTU 中出现频数最高的序列作为 OTU 的代表序列。对 OTU 代表序列进行物种注释, 用 RDP Classifier 方法与 GreenGene 数据库进行物种注释分析(设定阈值为 0.8–1.0)。最后对各样品的数据进行均一化处理, 以样品中数据量最少的为标准进行均一化处理, 后续的  $\alpha$  和  $\beta$  多样性分析都是基于均一化处理后的数据。使用 QIIME 软件和 R 软件, 进行  $\alpha$  和  $\beta$  多样性分析, 多样性指数的组间差异进行分析(Tukey 检验或 Wilcoxon 检验)。使用 R 软件绘制无度量多维标定法(Non-metric multi-dimensional scaling, NMDS)分析图。组间差异性分析使用

LEfSe 软件分析。LEfSe 分析默认设置线性判别分析(Linear discriminant analysis ,LDA)的筛选值为 4。使用 PICRUST 软件对肠道微生物群落的功能进行预测分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 测序结果

测序得到的数据量为 3 037 465 条序列,平均每个样品为 75 937 条序列。质控后总体有效数据量及平均有效数据量分别为 1 707 496 条和 42 687 条,有效序列的平均长度为 416 bp。对所有样品的有效序列进行聚类,以 97%的一致性将序列聚类成为 OTU。共注释到 1 601 个 OTU,其中平均每个样品 743 个。

### 2.2 肠道微生物群落多样性分析

#### 2.2.1 $\alpha$ 多样性分析

为了研究不同低氧暴露时间组和对照组 SD 大鼠肠道微生物群落的丰富度和多样性,对各组  $\alpha$  多样性指数(表 1)进行了计算和 Tukey 检验或 Wilcoxon 检验。结果显示:Chao1 指数在 H28D 和 C28D 组间存在显著性差异(Tukey 检验);ACE 指数在 H28D 和 C28D ,H7D 和 H14D ,H7D 和 H28D 组间存在显著性差异(Wilcoxon 检验),说明 H28D 组

微生物群落丰富度显著高于 C28D 和 H7D 组, H14D 组微生物群落丰富度显著高于 H7D 组。Simpson 指数 H14D 和 C14D 组间存在显著差异(Wilcoxon 检验),说明 H14D 组肠道微生物群落多样性显著低于 C14D 组;Shannon 指数 H14D 组低于 C14D 组(Wilcoxon 检验),但差异无显著性。

#### 2.2.2 $\beta$ 多样性分析

为了研究不同低氧暴露时间组和对照组 SD 大鼠肠道微生物群落构成的差异,基于加权的 UniFrac 距离矩阵进行 UPGMA 聚类分析和 NMDS 分析。图 1 将 UPGMA 聚类分析的结果与门水平上各样品肠道微生物相对丰度进行了整合展示。不同低氧暴露时间组 SD 大鼠肠道微生物群落聚为一类,对照组 SD 大鼠肠道微生物群落聚为一类,其中 H7D 和 H14D 组的距离较近,H21D 和 H28D 组的距离较近(图 1、2)。

### 2.3 肠道微生物群落相对丰度和组间差异性分析

#### 2.3.1 门水平和属水平上肠道微生物群落结构相对丰度

根据物种注释结果,选取每组肠道微生物在分类学门水平和属水平上最大相对丰度排名前 10 的物种,以柱型图进行展示(图 1、3)。

表 1 不同低氧暴露时间组和对照组 SD 大鼠肠道微生物群落  $\alpha$  多样性分析

Table 1  $\alpha$  diversity analysis between hypoxic exposure groups and control groups

Groups	OTUs	$\alpha$ diversity			
		Chao1 index	ACE index	Simpson index	Shannon index
H1D	3 784	751.08±36.67	751.69±28.48	0.96±0.01	6.55±0.39
H7D	3 489	726.39±57.18	721.08±41.34	0.95±0.03	6.38±0.70
H14D	3 882	796.89±54.30	797.14±55.45 <sup>#</sup>	0.93±0.03 <sup>△</sup>	6.02±0.52
H21D	3 744	746.43±82.50	758.28±72.13	0.94±0.05	6.35±1.06
H28D	4 021	799.89±60.23 <sup>*</sup>	796.68±50.28 <sup>*#</sup>	0.96±0.02	6.67±0.44
C1D	2 252	757.40±58.45	763.67±53.50	0.97±0.01	6.89±0.17
C7D	2 156	695.90±73.10	714.11±79.59	0.96±0.01	6.46±0.49
C14D	2 311	810.90±56.30	810.93±52.57	0.97±0.00	6.82±0.06
C21D	2 304	753.22±43.99	752.58±43.79	0.96±0.01	6.66±0.42
C28D	1 794	574.31±75.00	585.45±72.06	0.96±0.01	6.01±0.52

注:与 C28D 比,\* :  $P<0.05$ ;与 H7D 组比,<sup>#</sup> :  $P<0.05$ ;与 C14D 比,<sup>△</sup> :  $P<0.05$ 。

Note: \*:  $P<0.05$ , compared with C28D; <sup>#</sup>:  $P<0.05$ , compared with H7D; <sup>△</sup>:  $P<0.05$ , compared with C14D.

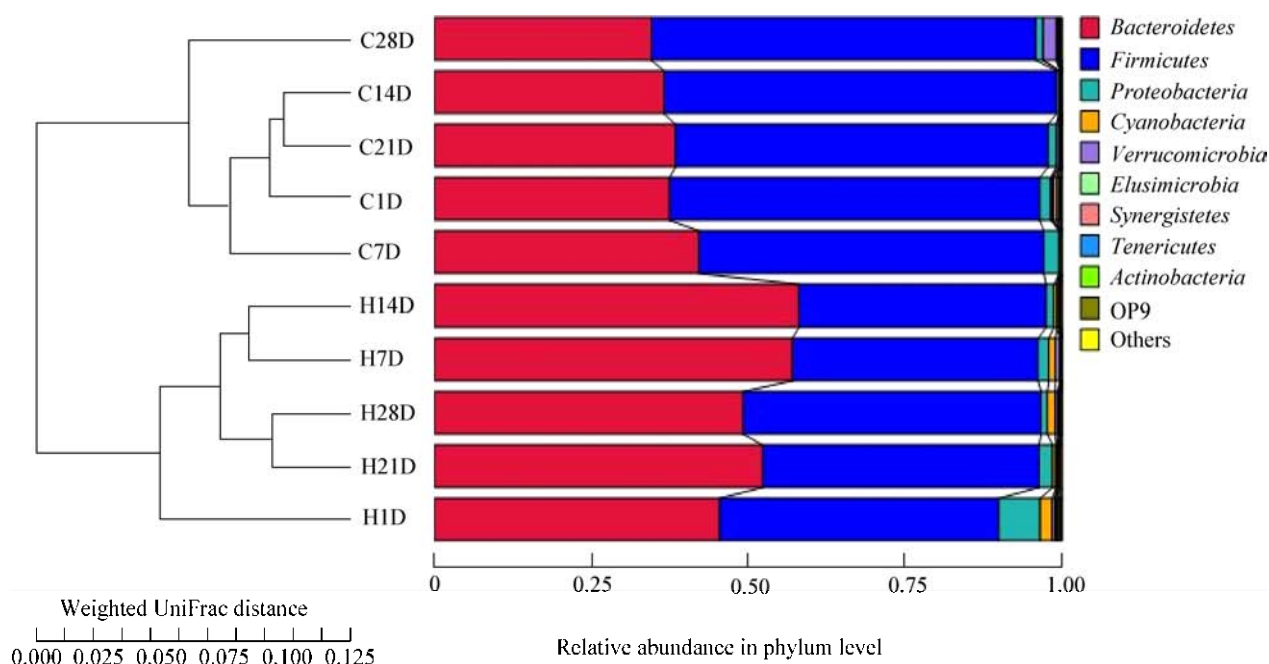


图 1 基于加权的 UniFrac 距离构建的 UPGMA 聚类树

Figure 1 UPGMA clustering tree based on weighted UniFrac distance and community composition of gut microbiota among groups

注：左侧是 UPGMA 聚类树结构，标尺是加权的 UniFrac 距离。右侧是各组在门水平上的物种相对丰度分布图，纵坐标是组名，横坐标是相对丰度，Others 表示图中这 10 个门之外其他所有门的相对丰度之和。

Note: UPGMA clustering tree (at left). Scale length represented weighted UniFrac distance. In the stacked bar chart (at right), each bar represents the average relative abundance of each bacterial taxon. The top 10 taxa with high relative abundance in phylum level were illustrated. Others represent taxa beyond the top 10 taxa.

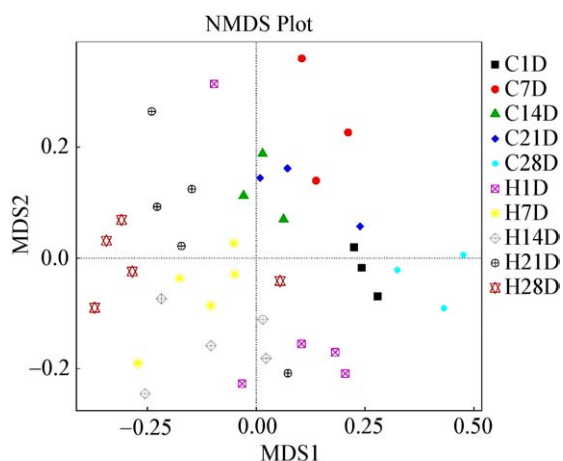


图 2 基于加权的 UniFrac 的 NMDS 分析

Figure 2 NMDS analysis based on weighted UniFrac distance

注：每个符号代表了一个样品，符号之间的距离反映了样品群落结构之间的差异。

Note: Each symbol represents the gut microbiota of one sample. Distances between symbols on the ordination plot reflect relative dissimilarities in community structures.

不同低氧暴露时间组 SD 大鼠肠道微生物群落中门水平含量大于 1% 的有 4 个菌门，分别为拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、蓝细菌门(*Cyanobacteria*)，平均相对丰度分别为 52.36%、42.90%、2.530%、1.02%。

对照组 SD 大鼠肠道微生物群落中门水平含量大于 1% 的有 3 个菌门，分别为厚壁菌门(*Firmicutes*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、变形菌门(*Proteobacteria*)，平均相对丰度分别为 59.40%、37.81%、1.41%。

不同低氧暴露时间组和对照组 SD 大鼠肠道微生物群落中厚壁菌门与拟杆菌门的比值(*Firmicutes/Bacteroidetes* ratio, F/B 值)分别为 0.98 (H1D)、0.69 (H7D)、0.68 (H14D)、0.84 (H21D)、0.96 (H28D)、1.57 (C1D)、1.30 (C7D)、1.71 (C14D)、1.55 (C21D)、1.77 (C28D)。不同低氧暴露时间组的 F/B 值低于同时间对照组。

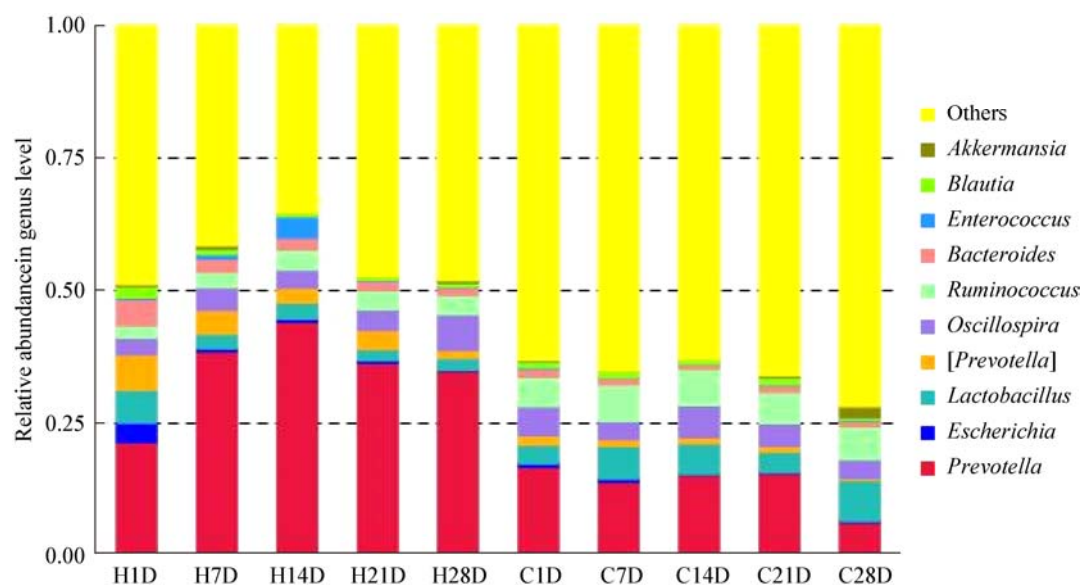


图3 属水平上不同低氧暴露时间组和对照组 SD 大鼠肠道微生物群落结构相对丰度的比较

Figure 3 Community composition of gut microbiota between hypoxic exposure groups and control groups

注: 各组在属水平上的物种相对丰度分布图, 横坐标是组名, 纵坐标是相对丰度, Others 表示图中这 10 个属之外其他所有属的相对丰度之和。

Note: In the stacked bar chart, each bar represents the average relative abundance of each bacterial taxon. The top 10 taxa with high relative abundance in genus level were illustrated. Others represent taxa beyond the top 10 taxa.

不同低氧暴露时间组 SD 大鼠肠道微生物群落中属水平含量大于 2% 的有 5 个属, 分别为: 普氏菌属(*Prevotella*)、颤螺菌属(*Oscillospira*)、乳酸菌属(*Lactobacillus*)、胃球菌属(*Ruminococcus*)、拟杆菌属(*Bacteroides*), 平均相对丰度分别为 38.89%、4.32%、3.24%、3.23%、2.61%。

对照组 SD 大鼠肠道微生物群落中属水平含量大于 2% 的有 4 个属, 分别为: 普氏菌属(*Prevotella*)、胃球菌属(*Ruminococcus*)、乳酸菌属(*Lactobacillus*)、颤螺菌属(*Oscillospira*), 平均相对丰度分别为 13.59%、6.25%、5.41%、4.56%。

### 2.3.2 组间差异性肠道微生物群落

利用 LEfSe 分析研究不同低氧暴露时间组和对照组 SD 大鼠组间差异性肠道微生物群落。结果表明与相应时间对照组相比, 低氧暴露组 SD 大鼠的肠道微生物群落中拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、拟杆菌目(*Bacteroidales*)、拟杆菌科(*Bacteroidaceae*)、普氏菌科(*Prevotellaceae*)、普氏菌属(*Prevotella*)和

普氏菌种(*copri*)等相对丰度较高且具有统计学意义(图 4); 相应时间对照组 SD 大鼠的肠道微生物群落中, 瘤胃球菌科(*Ruminococcaceae*)、瘤胃球菌属(*Ruminococcus*)、梭菌纲(*Clostridia*)和梭菌目(*Clostridiales*)等相对丰度较高且具有统计学意义(图 4)。

### 2.4 肠道微生物群落的功能预测

为了进一步探讨不同低氧暴露时间组 SD 大鼠肠道微生物群落的功能, 利用 PICRUSt 软件对肠道微生物群落的功能进行预测分析。根据所有样品在 KEGG 数据库中的功能注释及丰度信息, 选取丰度排名前 35 的第三层级功能及它们在每个样品中的丰度信息绘制热图(图 5), 并从功能差异层面进行聚类。

结果显示, 不同低氧暴露时间组 SD 大鼠肠道微生物群落的功能预测多集中在遗传信息处理和代谢相关通路上, 如其他离子偶联转运体、染色体、DNA 修复和重组蛋白、氨基酸相关酶、嘧啶代谢、



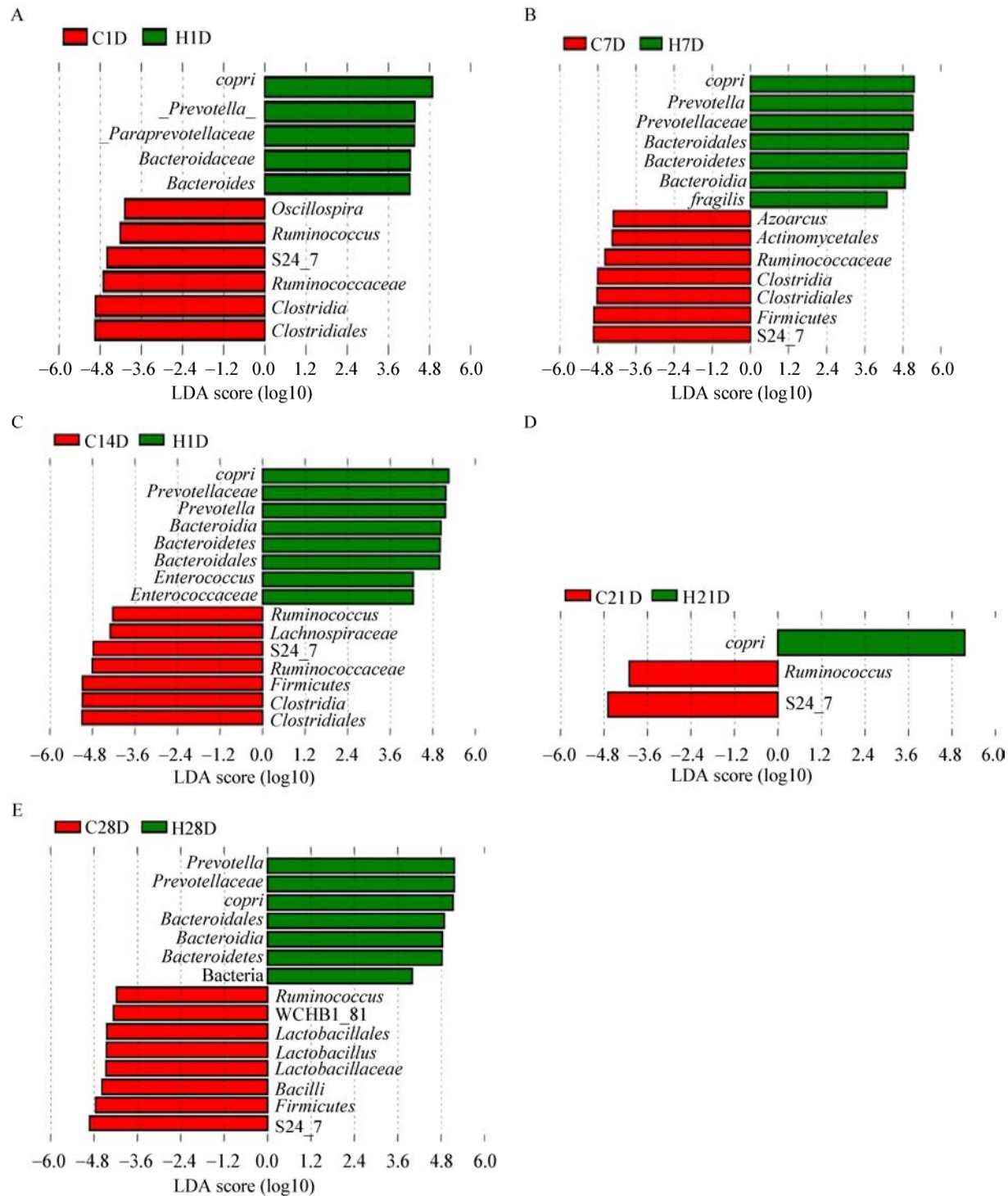


图 4 不同低氧暴露时间组和对照组 SD 大鼠肠道微生物群落的 LefSe 分析

Figure 4 Analysis of taxonomic relative abundances using LefSe analysis shows that multiple bacterial taxa are differentially enriched among groups

注：LDA 值分布柱状图中展示了不同组中丰度差异显著的物种，柱状图的长度代表差异物种的影响大小(LDA score).

Note: Histogram showing significantly enriched bacterial taxa among groups by linear discriminant analysis (LDA) score.

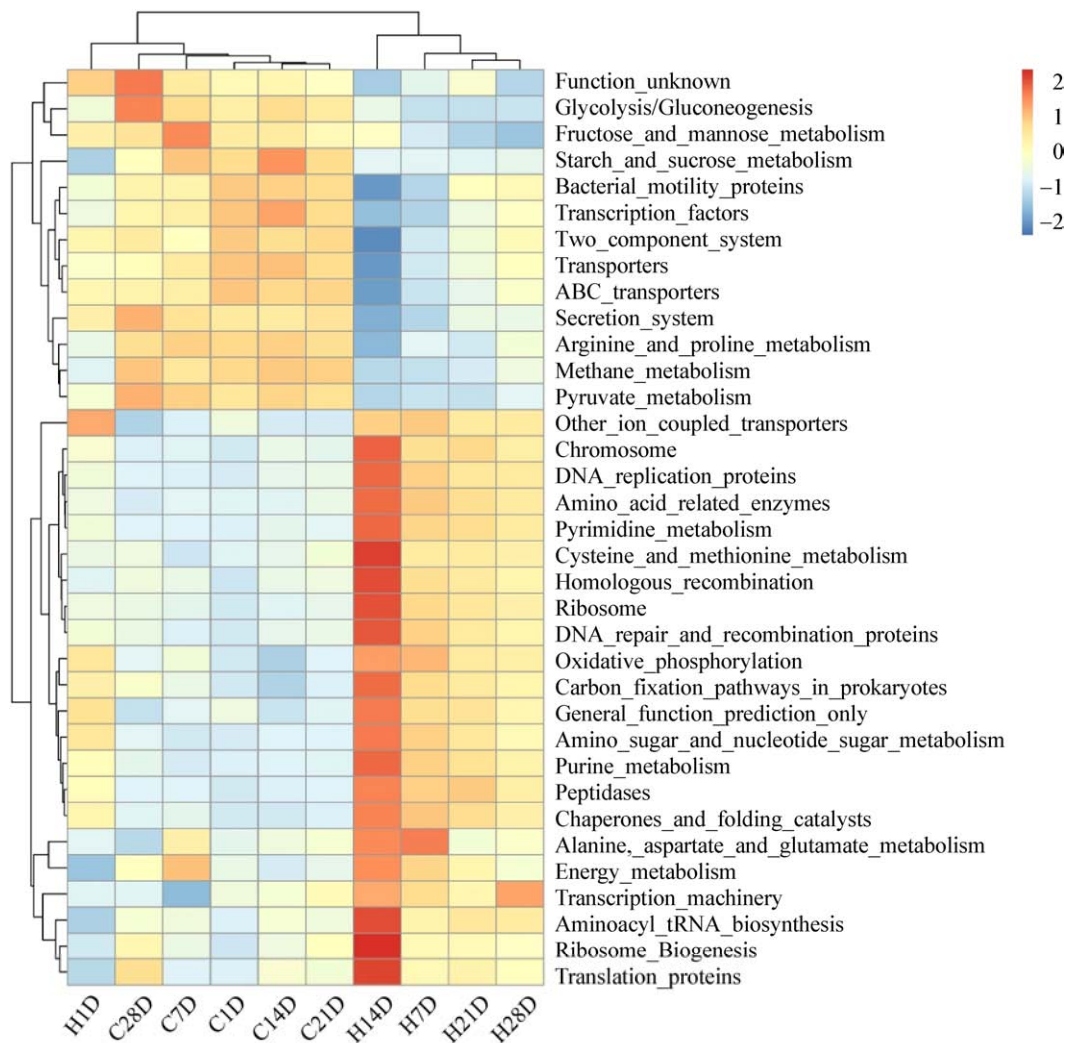


图 5 低氧不同暴露时间组和对照组 SD 大鼠肠道微生物群落的功能基因预测热图

**Figure 5 Heat map of predicted function of gut micorbiota among hypoxia exposure groups and control groups**

注：此聚类热图是基于所有样品在 KEGG 通路第 3 层级中的功能相对丰度绘制，图中展示了排名前 35 的功能聚类。

Note: Abundance of top 35 functional genes from the third level of KEGG pathway was shown in the heat map.

半胱氨酸和蛋氨酸代谢、同源重组、核糖体、氧化磷酸化、原核生物碳固定通路、一般功能预测、氨基糖和核苷酸糖代谢、嘌呤代谢、蛋白酶、分子伴侣和折叠催化剂、丙氨酸和天冬氨酸，及谷氨酸代谢、能量代谢、转录体、氨酰 tRNA 生物合成、核糖体合成和翻译蛋白。

对照组 SD 大鼠肠道微生物群落的功能预测为：未知功能、糖酵解和糖异生、果糖和甘露糖代谢、淀粉和蔗糖代谢、转录因子、双组分系统、转运蛋白、ABC 转运体、分泌系统、精氨酸和脯氨

酸代谢、甲烷代谢和丙酮酸盐代谢。

PICRUst 功能预测结果表明，不同低氧暴露时间组和对照组 SD 大鼠肠道微生物群落的功能存在一定差异。

3 讨论与结论

在肠黏膜的绒毛和微绒毛上，微生物通过分泌黏附因子等方式在肠黏膜上定殖<sup>[13]</sup>。人或动物的肠黏膜处于高灌注状态，因此对缺血、缺氧十分敏感。机体整体或肠道缺血、缺氧的状态会直接损伤



肠黏膜<sup>[14-15]</sup>, 进一步影响肠道微生物的定殖<sup>[8-10]</sup>。肠道微生物群落的多样性是在生态和进化压力的双重选择下, 由宿主和微生物群落共同进化形成的<sup>[5]</sup>。本研究通过  $\alpha$  多样性分析发现, 低氧暴露 28 d 组 SD 大鼠肠道微生物群落丰富度显著高于同时时间的对照组, 这与间歇性低氧处理小鼠 6 周后其肠道微生物群落的  $\alpha$  多样性结果一致<sup>[16]</sup>; 低氧暴露 14 d 组 SD 大鼠的肠道微生物群落多样性显著低于同时时间对照组; 低氧暴露 14 d 组大鼠的微生物群落丰富度显著高于低氧暴露 7 d 组。通过  $\beta$  多样性分析发现, 低氧暴露第 1、2 周 SD 大鼠的肠道微生物群落构成相似, 低氧暴露第 3、4 周 SD 大鼠的肠道微生物群落构成相似。上述结果提示低氧会改变 SD 大鼠肠道微生物群落的  $\alpha$  及  $\beta$  多样性, 而且在低氧暴露的过程中 SD 大鼠肠道微生物群落的结构和丰富度是动态变化的。

除了低氧对机体肠黏膜的损伤造成的肠道微生物群落多样性发生变化外, 我们推测低氧未习服物种在度过低氧暴露的急性期后, 肠道微生物群落多样性的改变很有可能与机体对营养代谢和能量物质利用的调整有关。本研究发现不同低氧暴露时间组肠道微生物群落的 F/B 值低于同时时间对照组。有研究表明藏族人的 F/B 值也较低<sup>[17]</sup>。一般体质量低的个体肠道微生物中厚壁菌门增加而拟杆菌门减少, F/B 值低于体质量高的个体。而 F/B 值的改变可能会导致机体从食物中的能量采集发生变化<sup>[18]</sup>。碳水化合物是体内氧化代谢的主要产能物质, 暴露于低氧环境时机体对碳水化合物的代谢对维持正常的生理功能显得尤为重要。本研究发现低氧暴露组 SD 大鼠肠道微生物群落中碳水化合物代谢相关菌群(普氏菌和拟杆菌)明显增加。另有研究指出, 与汉族相比藏族人肠道微生物中的拟杆菌和普氏菌是优势菌群<sup>[17,19]</sup>, 而高海拔的牦牛和藏系绵羊肠道微生物中的普氏菌也是优势菌群<sup>[20]</sup>。由此可见, 暴露于高原或低氧环境中的人或动物普氏菌是典型的优势菌群。普氏菌隶属于拟杆菌门, 可以发酵碳水化合物和蛋白质底物产生 SCFAs, 也

可以产生醋酸盐和  $H_2$ , 它们定殖在肠黏膜上有利于对营养物质的吸收、肝糖原储存, 以及调节宿主免疫和修饰基因表达<sup>[21-23]</sup>。

本研究通过 PICRUSt 分析发现, 低氧暴露组 SD 大鼠肠道微生物群落的功能预测多在遗传信息处理和代谢通路上, 说明低氧对宿主肠道微生物或宿主本身在基因水平上可能造成了损伤。其次, 低氧暴露下肠道微生物可能通过加强生糖氨基酸(如半胱氨酸、蛋氨酸、丙氨酸, 天冬氨酸和谷氨酸)的代谢参与宿主能量代谢的调整。

综上所述, 低氧暴露过程中 SD 大鼠肠道微生物群落结构和多样性呈动态变化, 碳水化合物代谢相关菌群明显增加, 可能参与了宿主能量代谢调整, 有利于机体对低氧环境的习服。

## REFERENCES

- [1] West JB. Recent advances in high altitude medicine and biology[J]. *High Altitude Medicine & Biology*, 2015, 16(2): 73
- [2] West JB. High-altitude medicine[J]. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2012, 186(12): 1229-1237
- [3] Yang ZY, Luo YJ. Research progress of digestive system diseases on highland[J]. *People's Military Surgeon*, 2017, 60(4): 414-417 (in Chinese)  
杨振宇, 罗勇军. 高原地区常见消化系统疾病及研究进展[J]. *人民军医*, 2017, 60(4): 414-417
- [4] Kundu P, Blacher E, Elinav E, et al. Our gut microbiome: the evolving inner self[J]. *Cell*, 2017, 171(7): 1481-1493
- [5] Ley RE, Peterson DA, Gordon JI. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine[J]. *Cell*, 2006, 124(4): 837-848
- [6] van Hylckama Vlieg JE, Veiga P, Zhang CH, et al. Impact of microbial transformation of food on health-from fermented foods to fermentation in the gastro-intestinal tract[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2011, 22(2): 211-219
- [7] Tremaroli V, Bäckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism[J]. *Nature*, 2012, 489(7415): 242-249
- [8] Adak A, Maity C, Ghosh K, et al. Dynamics of predominant microbiota in the human gastrointestinal tract and change in luminal enzymes and immunoglobulin profile during high-altitude adaptation[J]. *Folia Microbiologica*, 2013, 58(6): 523-528
- [9] Adak A, Ghosh K, Mondal KC. Modulation of small intestinal homeostasis along with its microflora during acclimatization at simulated hypobaric hypoxia[J]. *Indian Journal of Experimental Biology*, 2014, 52(11): 1098-1105
- [10] Adak A, Maity C, Ghosh K, et al. Alteration of predominant gastrointestinal flora and oxidative damage of large intestine under simulated hypobaric hypoxia[J]. *Zeitschrift Für*

- Gastroenterologie, 2014, 52(2): 180-186
- [11] Shan TD, Deng ZY, Zhang FX, et al. Comparative study of molecular biology on acute high altitude and plain intestinal Bifidobacterium in rats[J]. Chinese Journal of Microecology, 2011, 23(3): 197-200 (in Chinese)  
单体栋, 邓芝云, 张方信, 等. 急进高原与平原大鼠肠道双歧杆菌的分子生物学实验对比研究[J]. 中国微生态学杂志, 2011, 23(3): 197-200
- [12] Yang WC, Zhang FX, Wu WM, et al. Changes of intestinal flora microecology in model rats of radical plateau[J]. Chinese Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2010, 19(6): 543-545 (in Chinese)  
杨文翠, 张方信, 吴文明, 等. 急进高原大鼠肠道微生态变化的探讨[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2010, 19(6): 543-545
- [13] Pickard JM, Zeng MY, Caruso R, et al. Gut microbiota: role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease[J]. Immunological Reviews, 2017, 279(1): 70-89
- [14] Taylor CT, Colgan SP. Regulation of immunity and inflammation by hypoxia in immunological niches[J]. Nature Reviews Immunology, 2017, 17(12): 774-785
- [15] Zhou J, Xu Q, Liu JW, et al. Characteristics of pathological injury of intestinal tract in rats under hypobaric hypoxia environment at different high altitude[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2017, 17(27): 5238-5241,5250 (in Chinese)  
周静, 许琴, 刘江伟, 等. 不同海拔高原低压缺氧环境下大鼠肠道病理损伤特点[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(27): 5238-5241,5250
- [16] Moreno-Indias I, Torres M, Montserrat JM, et al. Intermittent hypoxia alters gut microbiota diversity in a mouse model of sleep apnoea[J]. European Respiratory Journal, 2015, 45(4): 1055-1065
- [17] Lan DL, Ji WH, Lin BS, et al. Correlations between gut microbiota community structures of Tibetans and geography[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 16982
- [18] Remely M, Haslberger AG. The microbial epigenome in metabolic syndrome[J]. Molecular Aspects of Medicine, 2017, 54: 71-77
- [19] Li K, Dan Z, Gesang L, et al. Comparative analysis of gut microbiota of native Tibetan and Han populations living at different altitudes[J]. PLoS One, 2016, 11(5): e0155863
- [20] Zhang ZG, Xu DM, Li W, et al. Convergent evolution of rumen microbiomes in high-altitude mammals[J]. Current Biology, 2016, 26(14): 1873-1879
- [21] Zhang HS, DiBaise JK, Zuccolo A, et al. Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, 106(7): 2365-2370
- [22] Kovatcheva-Datchary P, Nilsson A, Akrami R, et al. Dietary fiber-induced improvement in glucose metabolism is associated with increased abundance of *Prevotella*[J]. Cell Metabolism, 2015, 22(6): 971-982
- [23] Ndeh D, Gilbert HJ. Biochemistry of complex glycan depolymerisation by the human gut microbiota[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2018, 42(2): 146-164