

沈群教授主持“谷子的发展与营养”特约专栏文章之四

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2022.04.011

任欣, 张付龙, 秦梦园, 等. 小米饲料干预对高脂膳食联合 STZ 诱导糖尿病大鼠肠道菌群的影响[J]. 粮油食品科技, 2022, 30(4): 76-84.
REN X, ZHANG F L, QIN M Y, et al. Effect of foxtail millet intervention on gut microbiota in high-fat-diet and STZ Induced diabetic rats[J].
Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2022, 30(4): 76-84.

小米饲料干预对高脂膳食联合 STZ 诱导糖尿病大鼠肠道菌群的影响

任欣^{1,2}, 张付龙¹, 秦梦园¹, 沈群²✉

(1. 北京工商大学 食品与健康学院, 食品营养与人类健康北京高精尖创新中心, 北京市食品添加剂工程技术研究中心, 北京 100048; 2. 中国农业大学 食品科学与营养工程学院, 国家粮食产业(青稞深加工)技术创新中心, 北京 100083)

摘要: 肠道菌群在 II 型糖尿病的发生和发展过程中发挥重要作用, 为了进一步全面探究小米饲料干预对糖尿病大鼠肠道菌群的影响, 采用 16S rRNA 高通量测序技术, 分别从横(不同组别)、纵(干预前后)两个维度全面比较了高脂饲料联合链球菌素(Streptozotocin, STZ)诱导糖尿病大鼠经小米饲料饲喂后肠道微生物结构、组成及相对丰度的变化。结果显示, 小米饲料干预后, 糖尿病大鼠肠道内拟杆菌门和厚壁菌门比值下降, 瘤胃球菌属(*Ruminococcus_2*)和乳酸杆菌的相对丰度显著增加, 布劳特氏菌属的相对丰度显著减少, 并且均与生理指标具有一定相关性, 表明小米饲料干预能够在一定程度上逆转 II 型糖尿病对大鼠肠道菌群的影响, 使大鼠肠道微生物组成向着更为健康的方向发展。

关键词: 小米; 糖尿病; 肠道菌群; 乳酸杆菌

中图分类号: TS201.4 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2022)04-0076-09

网络首发时间: 2022-06-30 19:03:39

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3863.TS.20220629.1820.030.html>

Effect of Foxtail Millet Intervention on Gut Microbiota in High-fat-diet and STZ Induced Diabetic Rats

REN Xin^{1,2}, ZHANG Fu-long¹, QIN Meng-yuan¹, SHEN Qun²✉

(1. Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health, Beijing Engineering and Technology Research Center of Food Additives, School of Food and Health, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China; 2. College of Food Science and Nutritional Engineering, National Center of Technology Innovation (Deep Processing of Highland Barley) in Food Industry, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: Gut microbiota plays an important role in the occurrence and development of type 2 diabetes mellitus. In order to further explore the effect of foxtail millet on gut microbiota of diabetic rats, the 16S rRNA high throughput sequencing technology was used to compare the changes of gut microbial composition

收稿日期: 2022-02-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(32101876)

Supported by: National Natural Science Foundation of China (No. 32101876)

作者简介: 任欣, 女, 1989 年出生, 博士, 副教授, 研究方向为谷物营养。E-mail: renxin@btbu.edu.cn. 作者详细介绍见 PC11.

通讯作者: 沈群, 女, 1967 年出生, 博士, 教授, 研究方向为谷物营养。E-mail: shenqun@cau.edu.cn. 作者详细介绍见 PC8.

and relative abundance in the rats fed with high-fat diet combined with STZ, from two dimensions of horizontal (different groups) and vertical (before and after intervention), respectively. It was shown that foxtail millet can significantly increase the relative abundance of *Ruminococcus_2* and *Lactobacillus*, and significantly reduce the relative abundance of *Blautia*. Foxtail millet intervention also decreased the ratio of *Bacteroides* to *Firmicum* in high-fat-diet and STZ induced diabetic rats. And these changes were related to physiological indexes. In conclusion, foxtail millet intervention can reverse the effect of type 2 diabetes on gut microbiota, and make the gut microbial composition of rats develop toward a more healthier direction.

Key words: foxtail millet; diabetes; gut microbiota; *Lactobacillus*

II型糖尿病是一种复杂的慢性代谢疾病,已经给全球人类健康构成了重大威胁。我国更是成为全球糖尿病患者数量最多的国家^[1]。近年来随着肠道微生物研究的不断深入,不仅给人们研究疾病提供了一个新视角,而且其潜在的医学价值也在不断被挖掘。从肠道微生物结构组成和发挥作用方式两个角度来看,它可能直接或间接的参与了众多复杂代谢疾病的发展,且关系十分紧密^[2]。已有研究表明,II型糖尿病和肥胖均与肠道菌群的紊乱有关,具体表现在肠道微生物组成和相对丰度上与健康个体的偏离^[3],而个体饮食的差异在很大程度上又会影响到其体内肠道菌群的变化^[4]。现阶段对肠道菌群结构组成的鉴定及发挥功能的机制探究已经成为人类疾病研究领域内的一个重要组成元素^[5],包括II型糖尿病^[6]。然而由于肠道微生物体量巨大、复杂多变,有关不同条件下,包括特定膳食干预条件下以及膳食干预前后,肠道微生物的组成变化仍需进一步深入细致的研究。

前期研究已经证明,糖尿病大鼠经小米膳食干预后,血糖代谢有所改善,并且对糖耐量减低患者也能发挥良好的降糖效果^[7-8],并且均与肠道菌群组成与结构变化有关^[9-10]。但是,以往有关肠道菌群的研究均是单独进行不同组别间在同一时间点的横向比较,从未进行过同一组别在不同时间点的纵向比较,未能全面清晰的展示小米膳食干预对肠道菌群的影响。因此,本研究以前期人群实验为指导,以高脂膳食联合链尿佐菌素(*Streptozotocin*, STZ)诱导糖尿病大鼠模型为干预对象,分别从横、纵两个维度分析比较正常对照大鼠、模型对照大鼠与小米膳食干预大鼠肠道微生物的组成和结构差异,阐明小米饲料干预对糖尿病大鼠肠道菌群的影响,为丰富“食物-菌群-疾病”理论提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验动物

本试验所用的30只6周龄雄性SD大鼠均取自北京维通利华实验动物技术有限公司(动物合格证号:11400700149680)。

1.1.2 动物饲料

试验过程中所用饲料由北京科奥协力有限公司提供。严格按照Research Diet配方要求制作10%低脂对照饲料和60%高脂饲料。在保持各营养素供能比恒定的前提下,根据人与大鼠之间的换算关系^[11],设计制作20%小米干预饲料^[7]。各饲料具体配方及营养素供能比如表1所示。

表1 试验用不同饲料的具体配方
Table 1 The specific formulas of animal feeds

成分	10%低脂 饲料	60%高脂 饲料	20%小米 干预饲料
小米粉/g	-	-	20.00
酪蛋白/g	189.56	258.45	23.85
L-胱氨酸/g	2.84	3.88	0.39
玉米淀粉/g	479.79	-	-
麦芽糊精/g	118.48	161.53	8.15
蔗糖/g	65.21	88.91	3.89
纤维素/g	47.39	64.61	2.46
大豆油/g	23.70	32.31	3.23
猪油/g	18.96	316.60	30.66
矿物质预混(S10026)/g	9.48	12.92	1.29
磷酸氢钙/g	12.32	16.80	1.68
碳酸钙/g	5.21	7.11	0.71
一水柠檬酸钾/g	15.64	21.32	2.13
维生素预混(V10001)/g	9.48	12.92	1.29
重酒石酸胆碱/g	1.90	2.58	0.26
供能比			
蛋白质/%	20	20	20
脂肪/%	10	60	60
碳水化合物/%	70	20	20

1.2 仪器与设备

PowerSoil-htp 96 Well Soil DNA Isolation Kit 试剂盒: 美国 MoBio 公司; GoTaq® Hot Start Colorless Master Mix: 美国 Promega 公司; QIAquick® PCR Purification Kit 试剂盒: Qiagen 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 大鼠饲养

所有大鼠饲养在 SPF 屏障环境中, 且保持在 (22±2) °C、55%±5% 相对湿度和 12 h : 12 h 光暗循环的条件, 大鼠可自由摄食和饮水。环境适应 1 周后, 随机从所有大鼠中挑选 10 只作为正常对照组 (NC, 10% 低脂饲料), 剩余 20 只大鼠进行为期 4 周的 60% 高脂饲料膳食干预。

1.3.2 糖尿病大鼠的造模及分组

4 周高脂饮食干预后, 模型组大鼠禁食 12 h, 然后腹腔注射 STZ 溶液 (注射剂量为 35 mg/kg, 将原 STZ 用 0.1 mmol/L 的柠檬酸盐缓冲液稀释成 1% 的溶液, 并调节 pH 为 4.2~4.5), 继续高脂喂养。NC 组 10 只注射等量缓冲液。3 天后尾静脉取血, 当随机血糖超过 16.7 mmol/L 时, 即判定为糖尿病^[12-13]。随后将造模成功的糖尿病大鼠随机分为模型对照组 (DC, 60% 高脂饲料) 和小米饲料干预组 (FM, 20% 小米干预饲料)。

1.3.3 样品采集

采集动物粪便时采用逼迫刺激法, 用手指轻轻按压大鼠腹部及臀部。在无菌条件下快速收取干预试验前后大鼠的粪便样品, 并立即放置在 -80 °C 的冷环境下保存, 用于后续肠道微生物组检测。

1.3.4 肠道菌群分析

利用 PowerSoil-htp 96 Well Soil DNA Isolation Kit 试剂盒从动物粪便样本中提取总 DNA, 用适量的无菌水稀释 DNA 纯度和浓度双达标的样品, 制成 0.5 ng/μL 的微量溶液。选定扩增区域后, 为保证扩增效率和减小出错率, 使用 GoTaq® Hot Start Colorless Master Mix 和带有 Barcode 的特异引物进行扩增。扩增结束后, 将其中等浓度的 PCR 产物进行混合, 混匀后用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测。QIAquick® PCR Purification Kit 试剂盒纯化与回收 PCR 产物。合格样本基因通过 MiSeq 上机测序, 经质控筛选出的序列按照微生物分类等级定级, 最后将序列进行 OTU 聚类划分 (97% 的相

似度标准)。

1.4 数据分析

本研究数据以 Mean ± SD 的形式表示。使用 IBM SPSS Statistics 20.0 软件中的单因素方差分析 (ANOVA) 或独立样本 T 检验来确定组间或组内差异的显著性, 当 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 时, 可以判定差异具有统计学意义。使用 GraphPad Prism 进行图形绘制。

2 结果与讨论

2.1 小米饲料干预对高脂膳食联合 STZ 诱导糖尿病大鼠肠道菌群多样性的影响

本试验以细菌 16S rRNA 的 V3、V4 区 (338F_806R) 为测序依据, 经扩增后共收获 193 万条序列, 8.36 G 碱基数据, 平均读长达 433 bp。所有序列按标准相似度进行聚类划分后共获得 810 个 OTUs, 从分类等级角度分析, 可分为 13 个门、22 个纲、33 个目、58 个科和 158 个属。Rank-Abundance 曲线和 Shannon-Wiener 曲线表明本研究所取样本的物种分布较均匀, 测序数据量已足够大。为进一步比较分析各分组样本之间物种多样性的差异, 现选取 sobs、ace、chao 三个指数来衡量群落的丰富度, 选取 shannon、coverage 两个指数来衡量群落的多样性 (表 2), 结果发现小米饲料干预对 SD 大鼠肠道菌群的物种多样性无显著性影响。

2.2 小米饲料干预对高脂膳食联合 STZ 诱导糖尿病大鼠肠道菌群在门水平的影响

厚壁菌门 (*Firmicutes*) 和拟杆菌门 (*Bacteroidete*) 是人类肠道中的两大优势菌群, 累积占比高达 90% 以上。相比于人类菌群的结构组成, 鼠类肠道中拟杆菌门的相对丰度会显著减少, 而厚壁菌门和疣微菌门的相对丰度会显著增加^[6], 本试验结果与上述结论一致。如图 1 所示, SD 大鼠的肠道菌群主要由厚壁菌门 (*Firmicutes*)、拟杆菌门 (*Bacteroidete*)、变形菌门 (*Proteobacteria*)、柔膜菌门 (*Tenericutes*)、放线菌门 (*Actinobacteria*) 和疣微菌门 (*Verrucomicrobia*) 构成, 其中厚壁菌门的相对丰度高达 83.9%, 是优势菌群。Larsen 等的研究发现, II 型糖尿病患者与正常人群相比, 其体内的厚壁菌门比例显著降低, 拟杆菌门比例

表 2 糖尿病大鼠肠道微生物群落丰富度指数与多样性指数

Table 2 Indexes for community richness and diversity

组别	群落丰富度			群落多样性	
	sobs	ace	chao	shannon	coverage
干预前-NC	495.8 ± 69.2	559.7 ± 63.6	562.0 ± 64.8	3.9 ± 0.7	1.0 ± 0.0
干预前-DC	459.4 ± 83.6	513.4 ± 77.8	520.2 ± 73.2	4.2 ± 0.4	1.0 ± 0.0
干预前-FM	433.0 ± 57.8	497.2 ± 51.2	504.4 ± 51.6	4.2 ± 0.3	1.0 ± 0.0
干预后-NC	495.2 ± 26.4	545.1 ± 25.1	548.3 ± 25.6	4.1 ± 0.2	1.0 ± 0.0
干预后-DC	449.0 ± 68.8	517.1 ± 73.8	515.4 ± 69.1	4.0 ± 0.3	1.0 ± 0.0
干预后-FM	451.6 ± 75.5	528.8 ± 70.0	544.3 ± 66.2	4.1 ± 0.4	1.0 ± 0.0

注：数据以 Mean ± SD 的形式表示。NC，正常对照组；DC，模型对照组；FM，小米饲料干预组。

Note: Data was represented as a mean ± SD. NC, normal control group; DC, diabetic control group; FM, foxtail millet intervention group.

显著升高，且厚壁菌门与拟杆菌门比值与血糖浓度显著负相关^[14]。目前，长期食用全谷物食品可有效降低血糖的营养观念已渐渐深入人心，Martínez 等发现摄入全谷物食品可使厚壁菌门与拟杆菌门比值显著提高^[15]。从门水平纵向分析小米饲料对糖尿病大鼠肠道菌群组成的影响，可发现摄食小米饲料的患病大鼠肠道内厚壁菌门所占比例呈上升趋势，而拟杆菌门所占比例则呈下降趋势，即拟杆菌门与厚壁菌门的比值在减小，这意味着小米饲料可在一定程度上改善 II 型糖尿病大鼠体内肠道菌群紊乱的状态，继而使大鼠肠道微生物组成不断向正常大鼠靠拢。

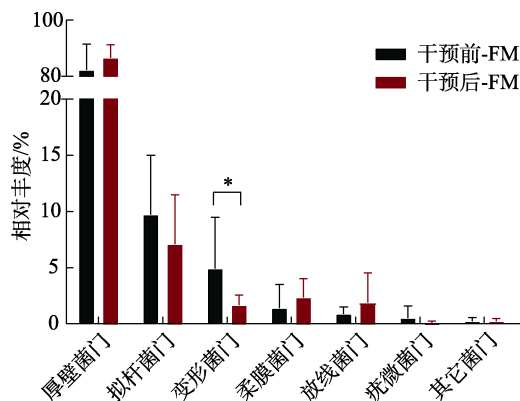


图 1 小米饲料干预对糖尿病大鼠肠道微生物在门水平的影响

Fig.1 Effect of foxtail millet intervention on relative abundance of gut microbial in phylum level of high-fat diet and STZ-induced diabetic rats

2.3 小米饲料干预对高脂膳食联合 STZ 诱导糖尿病大鼠肠道菌群在纲目科水平的影响

从纲水平进行比较（图 2 左），梭菌纲显然是糖尿病大鼠肠道中的优势菌群，占有重要比例，其相对丰度较高，其次是拟杆菌纲和芽孢杆菌纲。

糖尿病大鼠连续 4 周摄食小米饲料后，肠道内梭菌纲和拟杆菌纲所占比例降低，芽孢杆菌纲所占比例上升。此外， α -变形菌纲、 β -变形菌纲以及 δ -变形菌纲相对丰度减少，这与门水平变形菌纲相对丰度减少一致。

从目水平进行比较（图 2 中），梭菌目是糖尿病大鼠肠道中的优势菌群，同样占有重要比例，其次是拟杆菌目和乳杆菌目。糖尿病大鼠连续 4 周摄食小米饲料后，肠道内梭菌目和拟杆菌目所占比例降低，乳杆菌目所占比例上升。此外，脱硫弧菌目、伯克霍尔德氏菌目和脱铁杆菌目的相对丰度均减少。

从科水平进行比较（图 2 右），瘤胃球菌科与毛螺菌科均为糖尿病大鼠肠道内的优势菌群，两者所占比例大致相同。糖尿病大鼠连续 4 周摄食小米饲料后，肠道内瘤胃球菌科所占比例无明显变化，毛螺菌科所占比例降低，乳杆菌科所占比例上升。此外，拟杆菌科、脱硫弧菌科以及产碱杆菌科的相对丰度均减小。

2.4 小米饲料干预对高脂膳食联合 STZ 诱导糖尿病大鼠肠道菌群在属水平的影响

依据肠道细菌分类等级，属不仅是肠道微生物对机体产生实际功能作用的单元，同时也是 16s RNA 高通量测序技术能够准确鉴定的最小单元。从属水平分析，正常小鼠肠道菌群主要由乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、瘤胃球菌属 (*Ruminococcus_2*)、未分类 *Lachnospiraceae*、别样棒菌 (*Allobaculum*)、布劳特氏菌属 (*Blautia*) 等组成。与 NC 组大鼠相比，DC 组大鼠未分类 *Lachnospiraceae* 和未分类 *Verrucomicrobiaceae* 显

著增加, 拟杆菌科的 *norank-Bacteroidales-S24-7-group* 与瘤胃球菌属 (*Ruminococcus_2*) 极显著减少。此外, NC 组大鼠肠道内乳杆菌属 (约 13.9%) 明显高于 DC 组大鼠 (3.2%), 布劳特氏菌属 (NC 组约 3.6%) 明显低于 DC 组 (6.6%), 但由于显著性水平易受样本间肠道微生物波动的影响, 并未达到显著性差异统计水平。如图 3 所示, 纵向分析比较高脂膳食联合 STZ 诱导糖尿病大鼠连续 4 周摄食小米饲料前后体内肠道菌群在属水平上物种相对丰度的差异, 可发现干预 4 周后糖尿病大鼠肠道内布劳特氏菌属显著减少, 而

乳杆菌属和瘤胃球菌属 (*Ruminococcus_2*) 显著增加。如图 4 所示, 为使小米饲料能有助于改善糖尿病大鼠肠道菌群的结论更具科学性, 进一步排除糖尿病大鼠自我修复调节的可能性, 所以将小米饲料干预末期的 II 型糖尿病大鼠 (干预后-FM) 与模型组糖尿病大鼠 (干预后-DC) 肠道菌群在属水平上物种相对丰度的差异进行横向分析。结果发现, 相比于干预后-DC 组, 干预后-FM 组大鼠肠道内的乳杆菌属和瘤胃球菌属 (*Ruminococcus_2*) 显著提高, 而别样棒菌属和未分类 *Lachnospiraceae* 显著减少。

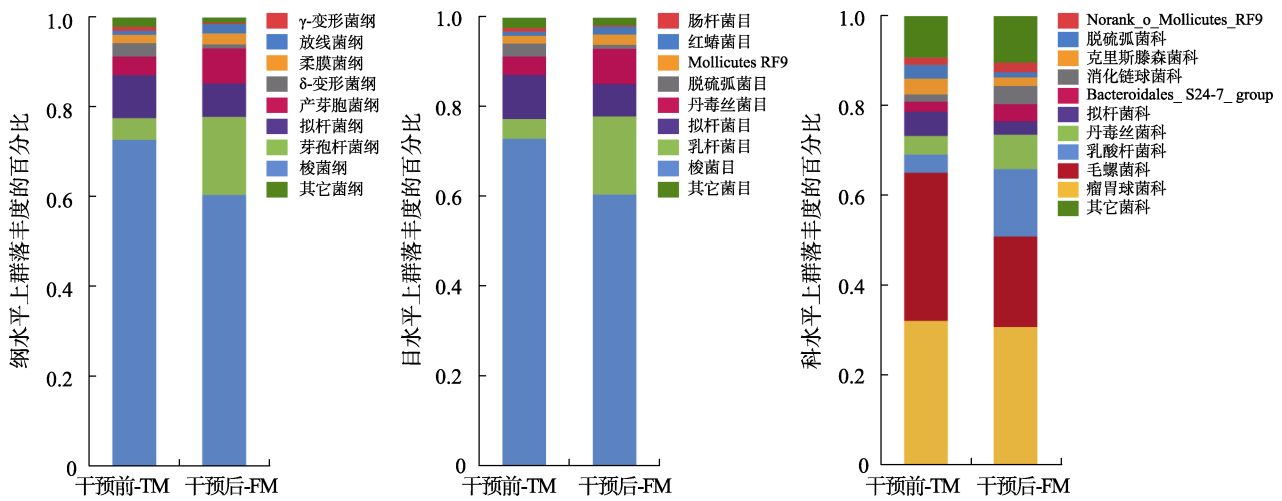


图 2 小米饲料干预对糖尿病大鼠肠道微生物在纲、目、科水平的影响

Fig.2 Effect of foxtail millet intervention on relative abundance of gut microbial in class level, order level and family level of high-fat diet and STZ-induced diabetic rats

注: FM, 小米饲料干预组。

Note: FM, foxtail millet intervention group

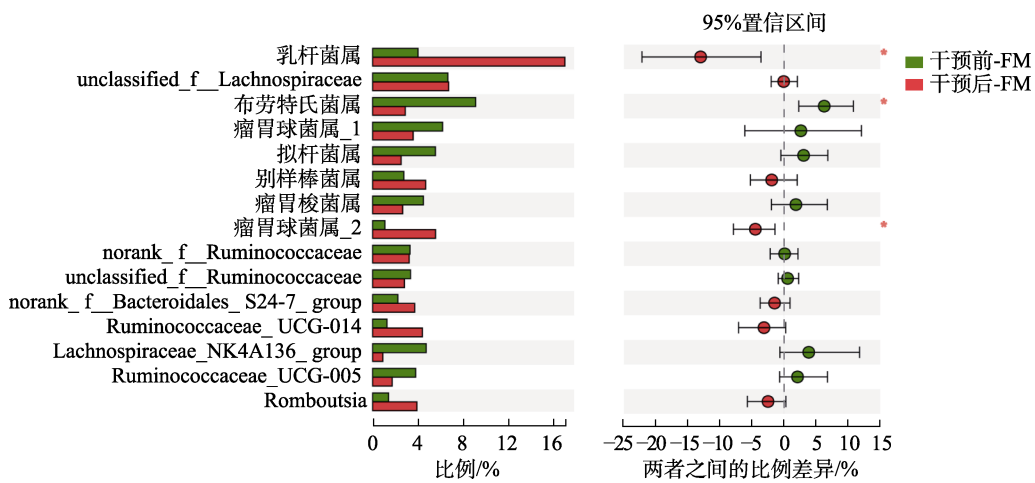


图 3 小米饲料干预前后糖尿病大鼠肠道微生物在属水平的差异比较

Fig.3 The difference comparison of gut microbial between Before-FM and After-FM in genus level of high-fat diet and STZ-induced diabetic rats

注: FM, 小米饲料干预组。

Note: FM, foxtail millet intervention group.

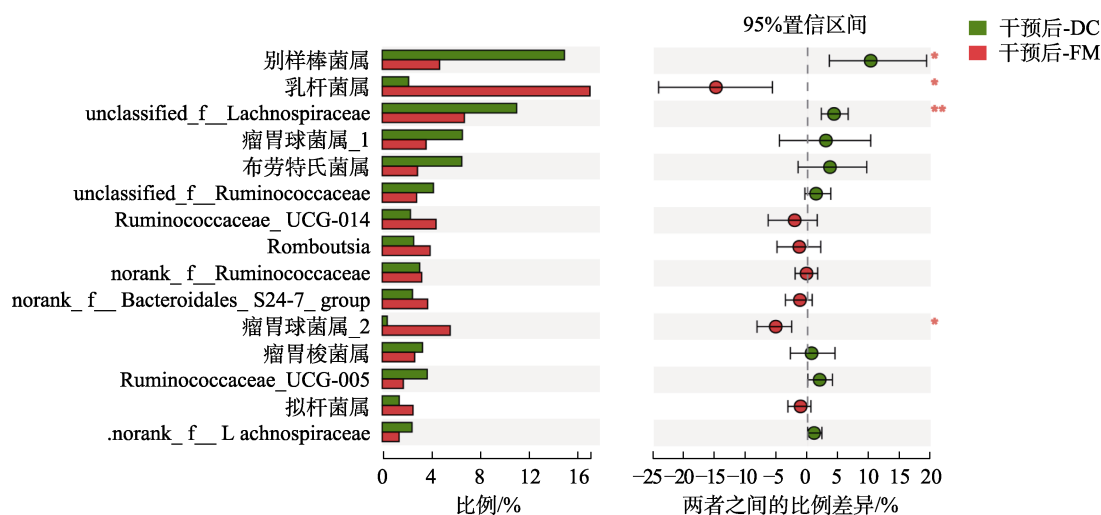


图4 小米饲料干预结束后糖尿病大鼠肠道微生物在属水平的差异比较

Fig.4 The difference comparison of gut microbial between After-DC and After-FM in genus level of high-fat diet and STZ-induced diabetic rats

注: DC, 模型对照组; FM, 小米饲料干预组。

Note: DC, diabetic control group; FM, foxtail millet intervention group

应用 Spearman 相关性分析各菌属与空腹血糖 (FG)、糖耐量后 2 h 血糖 (2h-G)、甘油三酯 (TG)、胆固醇 (TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 和低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 之间的相关性, 结果如图 5 所示。由图可知, 瘤胃球菌属 (*Ruminococcus_2*) 与 FG 呈极显著负相关关系 ($r=-0.806$, $P<0.01$), 与 2h-G ($r=-0.644$, $P<0.05$) 和 TG ($r=-0.709$, $P<0.05$) 呈显著负相关关系。乳酸杆菌与 TG ($r=-0.758$, $P<0.05$) 呈显著负相关关系, 与 TC ($r=0.661$, $P<0.05$) 和 HDL-C ($r=0.685$, $P<0.05$) 呈显著正相关关系。别样棒菌属与 2h-G ($r=-0.65$, $P<0.05$) 和 TG ($r=-0.661$, $P<0.05$) 均呈显著负相关关系。布劳特氏菌属、未分类毛螺菌科均与 TG 呈显著正相关关系, 与 HDL-C 呈显著负相关关系。相对丰度较低的 *Lachnoclostridium*、厌氧球菌属和嗜胆菌属均与 TG 呈显著正相关关系, 与 TC、HDL-C 呈显著负相关关系。

乳酸杆菌作为肠道有益菌参与人体免疫调节和维持机体健康状态的作用早已成为共识^[16]。现已证明, 许多急慢性疾病与肠道内乳酸杆菌的联系十分密切, 如高血脂、结肠炎、肥胖、机体炎症反应、II 型糖尿病等^[17]。例如 *Lactobacillus plantarum* X1、*Lactobacillus rhamnosus* GG 和 *Lactobacillus reuteri* GMNL-263 这三种不同类型的乳酸杆菌, 虽都是有益菌, 但功能各不相同,

Lactobacillus plantarum X1 能够刺激胰岛素分泌和抑制 α -葡萄糖苷酶的活性^[18], 而 *Lactobacillus rhamnosus* GG 则通过增加血清中的脂联素间接缓解胰岛素抵抗^[19], *Lactobacillus reuteri* GMNL-263 能够增加脂肪组织中 PPAR- γ 和 GLUT4 的表达、加速肝脏脂肪的消耗, 从而达到改善血糖代谢的目的^[20]。由于纵向比较和横向比较在乳酸杆菌相对丰度上的结果保持一致, 即 After-FM 组显著高于 After-DC 组和 Before-FM 组, 从而推测小米饲料降血糖的功效可能是通过增加肠道内乳酸杆菌的相对丰度来实现的, Zhang 等^[21]的研究结果也佐证了这一猜测。另外, 在本试验相关性结果中显示乳酸杆菌与血清中的 TG、HDL-C 两个指标显著相关, 再结合高血脂模型大鼠中 *Lactobacillus plantarum* NCU116 的作用可推测其发挥降血脂作用的途径可能是提高血清中 HDL-C 的水平或降低血清中 TG 的水平^[22]。

瘤胃球菌属是革兰氏阳性厌氧细菌, 据现阶段研究表明, 其主要功能表现在生物降解方面, 如降解抗性淀粉和某些纤维物质^[23-24]。本研究中糖尿病大鼠肠道内瘤胃球菌属的相对丰度相比于正常对照大鼠而言有所降低, 但摄食小米饲料 4 周后这一变化发生了巨大反转, 即干预后大鼠肠道内瘤胃球菌属的相对丰度 (1.1%) 比干预前大鼠 (5.6%) 提高了 4.5%。现已有许多研究证明抗性淀粉和膳食纤维具有降血糖的功效, 长期食用可

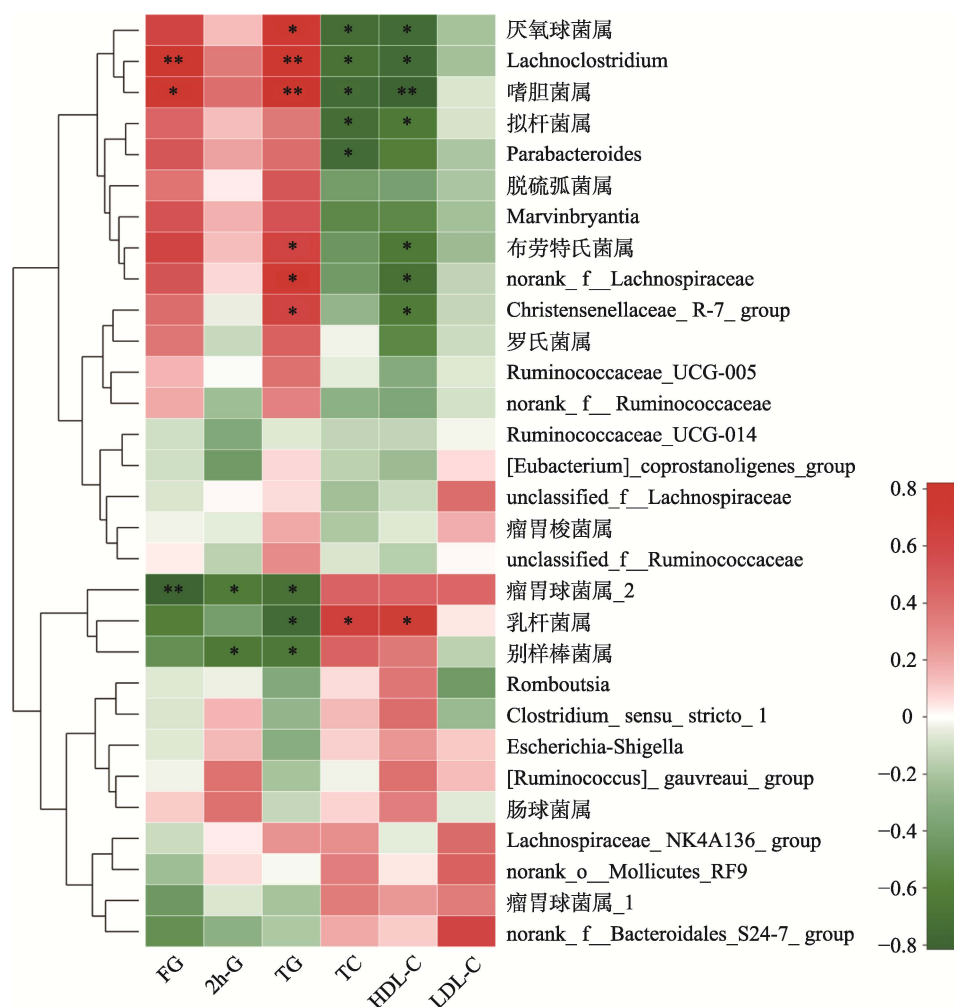


图 5 属水平上丰度排名前 30 的细菌与血糖血脂的相关性分析

Fig.5 The Spearman correlation analysis between the 30 most abundant genera of gut microbial in genus level and blood glucose and blood lipid

注: FG, 空腹血糖; 2h-G, 糖耐量后 2 h 血糖; TG, 甘油三酯; TC, 总胆固醇; HDL-C, 高密度脂蛋白胆固醇; LDL-C, 低密度脂蛋白胆固醇

Note: FG, fasting blood glucose; 2h-G, blood glucose 2 hours after glucose tolerance; TG, triglyceride; TC, total cholesterol; HDL-C, high density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein cholesterol

有助于机体血糖代谢的稳步进行, 并减小众多慢性代谢疾病的发病率, 包括 II 型糖尿病^[25]。双歧杆菌和瘤胃球菌属一样也是肠道有益菌, 摄食抗性淀粉可有效促进二者在肠道内快速生长繁殖^[26-27]。前期研究发现小米中抗性淀粉含量较高^[28], 这可能是经小米饲料干预后大鼠肠道内瘤胃球菌属相对丰度显著增加和血清中甘油三酯水平降低的主要原因。布劳特氏菌属是肠道内短链脂肪酸的来源之一, 其中乙酸最为主要^[29]。试验表明布劳特氏菌属在 II 型糖尿病大鼠肠道内的相对丰度高于 NC 大鼠, 且其在肠道内所占比例与血清中的 IL-6 和糖化血清蛋白水平均呈正相关关系^[30], 推测经小米饲料干预后其相对丰度降低将更易于血糖代谢的恢复。别样棒菌属是肠道内的一种短链脂肪

酸产生菌^[31], 在本次试验中, 可发现此菌的数量会随着糖尿病病情的延续进一步增多, 但相比于 After-DC 组, After-FM 组糖尿病大鼠肠道内别样棒菌属的数量显著减少, 这说明小米饲料可通过抑制别样棒菌属的生长繁殖, 来减轻糖尿病的病情。已有不少文献表明毛螺菌科 (*Lachnospiraceae*) 与 II 型糖尿病的关联十分密切^[32], 在本次试验中毛螺菌科与别样棒菌属的情况较为相似, 经 4 周的小米饲料干预后, 相比于 DC 大鼠, After-FM 组大鼠肠道内毛螺菌科相对丰度显著减少, 表明小米饲料干预也能够通过减少毛螺菌科的相对丰度来发挥其降血糖的效果。


3 结论

综上所述, SD 大鼠的肠道菌群主要由厚壁菌

门、拟杆菌门、变形菌门、柔膜菌门、放线菌门和疣微菌门等构成,其中厚壁菌门的相对丰度高达 83.9%,是绝对优势菌群。连续 4 周摄食小米饲料的糖尿病大鼠肠道内拟杆菌门与厚壁菌门的比值减小,表明小米饲料可在一定程度上改善糖尿病大鼠体内肠道菌群紊乱的状态,继而使大鼠肠道微生物组成向着更为健康的方向发展。从属水平分析,正常大鼠肠道内菌群主要由乳酸杆菌、瘤胃球菌属 (*Ruminococcus_2*)、未分类毛螺菌科、别样棒菌属、布劳特氏菌属等组成。相关性分析结果显示,瘤胃球菌属与空腹血糖 ($r=-0.806, P<0.01$)、糖耐量后 2h 血糖 ($r=-0.644, P<0.05$) 呈显著负相关,乳酸杆菌与高密度脂蛋白胆固醇 ($r=0.685, P<0.05$) 呈显著正相关。小米饲料干预降糖功效的发挥可能是通过增加糖尿病大鼠肠道内乳酸杆菌和瘤胃球菌属的相对丰度,减少布劳特氏菌属、别样棒菌属和毛螺菌科的相对丰度来实现的。

参考文献:

- [1] WELLEN K E, HOTAMISLIGIL G S. Inflammation, stress, and diabetes[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2005, 115(5): 1111-1119.
- [2] VIJAY-KUMAR M, AITKEN J D, CARVALHO F A, et al. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5[J]. *Science*, 2010, 328(5975): 228-231.
- [3] MUSSO G, GAMBINO R, CASSADER M. Obesity, diabetes, and gut microbiota [J]. *Diabetes Care*, 2010, 33(10): 2277-2284.
- [4] DAVID L A, MAURICE C F, CARMODY R N, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome[J]. *Nature*, 2014, 505(7484): 559-563.
- [5] VIJAY-KUMAR M, AITKEN J D, CARVALHO F A, et al. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5[J]. *Science*, 2010, 328(5975): 228.
- [6] QIN J, LI Y, CAI Z, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes[J]. *Nature*, 2012, 490(7418): 55-60.
- [7] REN X, YIN R, HOU D, et al. The glucose-lowering effect of foxtail millet in subjects with impaired glucose tolerance: a self-controlled clinical trial[J]. *Nutrients*, 2018, 10(10): 1509.
- [8] 任欣. 小米膳食干预改善血糖代谢的功能评价及机理分析 [D]. 中国农业大学, 2018.
REN X. The blood glucose-lowering effect and mechanisms of foxtail millet intervention[D]. China Agricultural University, 2018.
- [9] 任欣, 沈群. 小米膳食干预对糖耐受受损患者肠道菌群的影响[J]. *中国粮油学报*, 2020, 35(12): 37-43.
REN X, SHEN Q. Effect of foxtail millet intervention on gut microbiota in subjects with impaired glucose tolerance[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2020, 35(12): 37-43.
- [10] REN X, WANG L, CHEN Z, et al. Foxtail millet supplementation improves glucose metabolism and gut microbiota in rats with high-fat diet/streptozotocin-induced diabetes[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2022, 11(1): 119-128.
- [11] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9(9): 1069-1072.
HUANG J H, HUANG X H, CHEN Z Y, et al. Dose conversion among different animals and healthy volunteers in pharmacological study[J]. *Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [12] REED M, MESZAROS K, ENTES L, et al. A new rat model of type 2 diabetes: the fat-fed, streptozotocin-treated rat[J]. *Metabolism*, 2000, 49(11): 1390-1394.
- [13] SRINIVASAN K, VISWANAD B, ASRAT L, et al. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening[J]. *Pharmacological Research*, 2005, 52(4): 313-320.
- [14] LARSEN N, VOGENSEN F K, FW V D B, et al. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults[J]. *Plos One*, 2010, 5(2): e9085.
- [15] MARTINEZ I, LATTIMER J M, HUBACH K L, et al. Gut microbiome composition is linked to whole grain-induced immunological improvements[J]. *The ISME journal*, 2013, 7(2): 269.
- [16] 任大勇. 益生乳酸杆菌的黏附及免疫调节作用研究[D]. 吉林大学, 2013.
REN D Y. Research on adhesion and immunoregulation of probiotic lactobacillus strains[D]. Jilin University, 2013.
- [17] 李向菲. 产胞外多糖乳酸菌对 2 型糖尿病的干预及其机制研究[D]. 江南大学, 2016.
LI X F. Effect of exopolysaccharides-producing lactic acid bacteria on type 2 diabetes and its mechanism[D]. Jiangnan University, 2016.
- [18] LI X, WANG N, YIN B, et al. Lactobacillus plantarum X1 with α -glucosidase inhibitory activity ameliorates type 2 diabetes in mice[J]. *RSC Advances*, 2016, 6(68): 63536-63547.
- [19] PARK K Y, KIM B, HYUN C K. Lactobacillus rhamnosus GG reverses insulin resistance but does not block its onset in diet-induced obese mice[J]. *Journal of Microbiology Biotechnology*, 2015, 25(5): 753-757.
- [20] MUROTOMI K, UMENO A, YASUNAGA M, et al. Oleuropein-rich diet attenuates hyperglycemia and impaired glucose tolerance in type 2 diabetes model mouse[J]. *Journal of Agriculture and*

- Food Chemistery, 2015, 63(30): 6715-6722.
- [21] ZHANG Y, WANG L, ZHANG J, et al. Probiotic *Lactobacillus casei* Zhang ameliorates high-fructose-induced impaired glucose tolerance in hyperinsulinemia rats[J]. *European Journal of Nutrition*, 2014, 53(1): 221-232.
- [22] LI C, NIE S P, DING Q, et al. Cholesterol-lowering effect of *Lactobacillus plantarum* NCU116 in a hyperlipidaemic rat model[J]. *Journal of Functional Foods*, 2014, 8: 340-347.
- [23] KOIKE S, KOBAYASHI Y. Development and use of competitive PCR assays for the rumen cellulolytic bacteria: *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* and *Ruminococcus flavefaciens*[J]. *Fems Microbiology Letters*, 2001, 204(2): 361-366.
- [24] ZE X, DUNCAN S H, LOUIS P, et al. *Ruminococcus bromii* is a keystone species for the degradation of resistant starch in the human colon[J]. *The ISME journal*, 2012, 6(8): 1535.
- [25] SALMERÓN J, ASCHERIO A, RIMM E B, et al. Dietary fiber, glycemic load, and risk of NIDDM in men[J]. *Diabetes Care*, 1997, 20(4): 545-550.
- [26] DELZENNE N M, NEYRINCK A M, BÄCKHED F, et al. Targeting gut microbiota in obesity: effects of prebiotics and probiotics[J]. *Nature Reviews Endocrinology*, 2011, 7(11): 639.
- [27] FLINT H J, SCOTT K P, LOUIS P, et al. The role of the gut microbiota in nutrition and health[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2012, 9(10): 577.
- [28] REN X, CHEN J, MOLLA M M, et al. In vitro starch digestibility and in vivo glycemic response of foxtail millet and its products[J]. *Food & Function*, 2016, 7(1): 372-379.
- [29] PARK S K, KIM M S, ROH S W, et al. *Blautia stercoris* sp. nov., isolated from human faeces[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2012, 62(4): 776-779.
- [30] 齐翠娟. 肠道菌群在 I 型糖尿病患者的结构特征及潜在致病机制研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2016.
- QI C J. The composition of gut microbiota and the potential pathogenic mechanism in type 1 diabetes of Chinese children[D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2016.
- [31] WANG G, LI X, ZHAO J, et al. *Lactobacillus casei* CCFM419 attenuates type 2 diabetes via a gut microbiota dependent mechanism[J]. *Food & Function*, 2017, 8(9): 3155-3164.
- [32] KUSADA H, KAMEYAMA K, MENG X Y, et al. *Fusimonas intestini* gen. nov., sp. nov., a novel intestinal bacterium of the family Lachnospiraceae associated with diabetes in mice[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 18087. 
- 备注: 本文的彩色图表详见本期 PC11, 也可从本刊官网(<http://lyspkj.ijournal.cn>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。