

自然衰老大鼠的肠道菌群演变

姜河¹，刘珊²，常超³，耿婕¹（1. 天津大学附属天津市胸科医院 心血管内科，天津 300051；2. 天津大学附属天津市胸科医院 心脏病研究所，天津 300222；3. 天津大学附属天津市胸科医院 心脏外科重症监护室，天津 300051）

【摘要】 目的 探究大鼠在自然衰老过程中肠道菌群组成的演变过程。方法 在无特定致病菌环境中饲养 8 月龄雄性无特定病原体级的 SD 大鼠 5 只，分别于 19、20、21、22、23、24 月龄时取大鼠粪便进行 16s 核糖体 RNA 检测以分析肠道菌群的丰度及组成。结果 大鼠肠道菌群的丰度及多样性随月龄的增加而降低。19~21 月龄大鼠肠道菌群的组成相似，以厚壁菌门和拟杆菌门为主，且占比接近，22~24 月龄大鼠厚壁菌门相对丰度显著减少，而拟杆菌门相对丰度显著增多。不同月龄大鼠肠道菌群的差别主要存在于厚壁菌门、拟杆菌门、放线菌门和变形菌门等，月龄越大的老年大鼠肠道菌群中益生菌丰度越低，致病菌丰度越高。结论 自然衰老大鼠随着月龄增加肠道菌群的丰度和多样性也随之发生演变，为老年大鼠及人群的肠道菌群及疾病研究提供了数据参考。

【关键词】 衰老大鼠；肠道菌群；微生物；16s rRNA；高通量测序

Evolution of intestinal flora in naturally aging rats

Jiang He¹, Liu Shan², Chang Chao³, Geng Jie¹ (1. Department of Cardiology, the Affiliated Chest Hospital of Tianjin University, Tianjin 300051, China; 2. Institute of Cardiology, the Affiliated Chest Hospital of Tianjin University, Tianjin 300222, China; 3. Cardiac Surgery Intensive Care Unit, the Affiliated Chest Hospital of Tianjin University, Tianjin 300051, China)

Corresponding author: Geng Jie, E-mail: gengjie_1973@126.com

【Abstract】 **Objective** To explore the evolution of intestinal flora in rats during natural aging. **Methods** Five 8-month-old male rats were raised without specific pathogenic bacteria. At the age of 19, 20, 21, 22, 23 and 24 months, the abundance and diversity of their intestinal flora were detected by 16s ribosomal RNA (16s rRNA). **Results** The abundance and diversity of intestinal flora in rats decreased with increasing age. The composition of intestinal flora of 19-21 month-old rats was similar, with predominating *Firmicutes* and *Bacteroides*, equally. The relative abundance of *Firmicutes* in 22-24 month-old rats decreased, while *Bacteroides* increased significantly. The differences of intestinal flora of rats at different months of age were mainly in *Firmicutes*, *Bacteroides*, *Actinobacteria* and *Proteobacteria*. Older rats had lower abundance of probiotic bacteria and higher abundance of pathogenic bacteria in the intestinal flora with aging. **Conclusions** The abundance and diversity of intestinal flora of rats change during the natural aging, providing data reference for the research of intestinal flora and diseases in elderly rats and people.

【Keywords】 Aging rats; Intestinal flora; Microbiota; 16s RNA; High throughput sequencing

Fund Programs: Health Science and Technology Program of Tianjin (ZC20126); Hospital Management Research Program of Tianjin Hospital Association (2019ZC13); Tianjin Key Medical Discipline (Specialty) Construction Project (TJYXZDXK-055B)

人体的胃肠道中存在 10~100 万亿微生物，其中包括细菌、真菌、原生动物、病毒以及古细菌等，这些微生物的基因总和是人类基因总数的 100 多倍，不仅扩展了宿主的基因库，而且构成宿主

的肠道微生态环境稳态，参与宿主的代谢、免疫功能^[1]。近年来，随着高通量测序技术的不断发展与成熟，越来越多的研究证实，肠道菌群与肥胖、糖尿病等代谢性疾病^[2]、炎症性肠病^[3]、胃肠道及

基金项目：天津市卫生健康科技项目（ZC20126）；天津市医院协会医院管理研究项目（2019ZC13）；天津市医学重点学科（专科）建设项目（TJYXZDXK-055B）

通信作者：耿婕 E-mail: gengjie_1973@126.com

其他恶性肿瘤^[4]、心脑血管疾病^[5]和自身免疫性疾病^[6]密切相关，并在调节胰岛素敏感性、脂肪储存和体重方面发挥关键作用^[7]。

然而，肠道菌群往往受到宿主饮食习惯、基因组及环境因素的影响而存在差异，为真实世界研究带来了很大困难。因此在无特定致病菌环境中饲养的实验大鼠成为肠道菌群相关研究的重要工具动物。既往研究发现，在相同的饲养环境中，大鼠的性别、年龄、品系以及来源是决定大鼠肠道菌群多样性及差异性的主要内源性因素^[8]。但自然衰老大鼠的肠道菌群丰度及多样性的演变过程却鲜有报道。本研究旨在通过对在无特定致病菌环境中饲养的相同品系的衰老雄性大鼠不同月龄时的肠道菌群进行 16s 核糖体 RNA 检测，探究大鼠在自然衰老过程中的肠道菌群丰度及多样性演变，为老龄大鼠及人群的肠道菌群及疾病研究提供数据参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物及粪便收集 为避免性别、年龄、品系及饲养环境因素的干扰，在无特定致病菌环境中饲养 5 只 8 月龄无特定病原体级的 SD 大鼠，体重 (220±10) g，购自北京华阜康生物科技股份有限公司。大鼠可自由采食和饮水。饲养环境温度为 (20±0.5)℃，相对湿度为 (60±10)%，光照/黑暗周期控制 12h/12h。分别于 19、20、21、22、23、24 月龄时抓取大鼠，刺激排便后，迅速使用无菌冻存管采集新鲜粪便，置于液氮中冷冻，后保存于 -80℃ 冰箱中。本研究已通过伦理委员会批准，伦理号为 TJCH-2023-003。

1.2 微生物检测及生物学分析

1.2.1 微生物组总 DNA 提取 根据粪便样本特点采用不同的提取方案，获得高质量的宏基因组 DNA，并通过 Nanodrop 检测 DNA 样品浓度及纯度，通过琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 样品完整性，通过这些严谨、可靠的样本检测、质控流程确保测序结果的真实可信。

1.2.2 目标片段 PCR 扩增 设计扩增可变区的特定区段 (V3~V4 区) 的引物，采用 ABI GeneAmp® 9700 型 PCR 仪对样本 DNA 进行扩增。扩增引物为 341F (5'-CCTACGGNGGCWGCAG-

3') 和 805R (5'-GACTACHVGGTATCTA-ATCC-3')。

1.2.3 扩增产物荧光定量 将 PCR 扩增产物进行荧光定量，荧光试剂为 Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit (Thermo Fisher, P7589)，定量仪器为 Microplate reader (BioTek, FLx800)。根据荧光定量结果，按照每个样本的测序量需求，对各样本按相应比例进行混合。

1.2.4 测序文库制备 采用 Illumina 公司的 TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit 制备测序文库。在 Agilent Bioanalyzer 上采用 Agilent High Sensitivity DNA Kit 对测序文库进行质检，并在 Promega QuantiFluor 荧光定量系统上采用 Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit 对测序文库进行定量。

1.2.5 上机测序 测序文库的质检和定量检测合格后，根据有效浓度及目标数据量的需求将文库 pooling 上机测序。

1.2.6 数据分析 Illumina PE250 测序得到的 PE reads 首先根据重叠 (overlap) 关系进行拼接，同时对序列质量进行质控和过滤，对所有样本的有效数据以 97% 的一致性进行操作分类单元 (Operational Taxonomic Units, OTU) 聚类分析和物种注释 (数据库 Silval32)。基于 OTU 聚类分析结果，可以对 OTU 进行多种多样性指数分析，以及检测测序深度；基于分类学信息，可以在各个分类水平上进行群落结构的统计分析。在上述分析的基础上，可以进行一系列群落结构和系统发育等深入的统计学和可视化分析。

1.3 统计学方法 基于前述 OTU 聚类结果，使用 Qiime 软件 (Version 1.9.1) 计算各个样本的 α 多样性指数 (检验水准 $\alpha=0.05$)。样本间的物种丰度分布差异程度可通过统计学中的距离进行量化分析，使用统计算法 Bray-Curtis 计算两两样本间距离，获得距离矩阵，可用于后续进一步的 β 多样性分析和可视化统计分析，使用 R 软件 (Version 2.15.3) 绘制主坐标分析 (principal coordinates analysis, PCoA) 图。线性判别分析效应大小 (linear discriminant analysis effect size, LEfSe) 是一种线性判别分析 (linear discriminant

analysis, LDA) 方法, 默认 LDA 预设值为 >2 即认为组间具有显著差异。

2 结果

2.1 不同月龄大鼠肠道微生物群落构成 在门、属水平分别选择相对丰度最高的前 6 个、前 20 个物种做柱状图进行分析 (图 1A、B)。在门水平上, 19 月龄的大鼠肠道菌群拟杆菌门 (*Bacteroidetes*) 与厚壁菌门 (*Firmicutes*) 相对丰度最高, 且所占比例相当, 并持续至 21 月龄。自 22 月龄起, 厚壁菌门的相对丰度显著增多, 拟杆菌门的相对丰度较前显著减少。此外, 随着月龄的增加, 疣微菌门 (*Verrucomicrobiota*) 的相对丰度也逐渐减少, 而变形菌门 (*Proteobacteria*) 及放线菌

门 (*Actinobacteria*) 的相对丰度逐渐增多。在属水平上, 19~21 月龄的大鼠肠道菌群鼠杆菌科某未定名属 (*Muribaculaceae_norank*) 相对丰度最高, 梭菌纲某未定名属 (*Clostridia UCG-014_norank*) 次之。此外, 宿主关联乳杆菌属 (*Ligilactobacillus*)、乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、黏液乳杆菌属 (*Limosilactobacillus*)、瘤胃球菌属 (*Ruminococcus*)、苏黎世杆菌属 (*Turicibacter*) 等菌属相对丰度均较高。随着月龄的逐渐增大, 鼠杆菌科某未定名属相对丰度显著减少, 宿主关联乳杆菌属、乳杆菌属、黏液乳杆菌属、苏黎世杆菌属相对丰度显著增加, 而梭菌纲某未定名属及瘤胃球菌属相对丰度无显著变化。

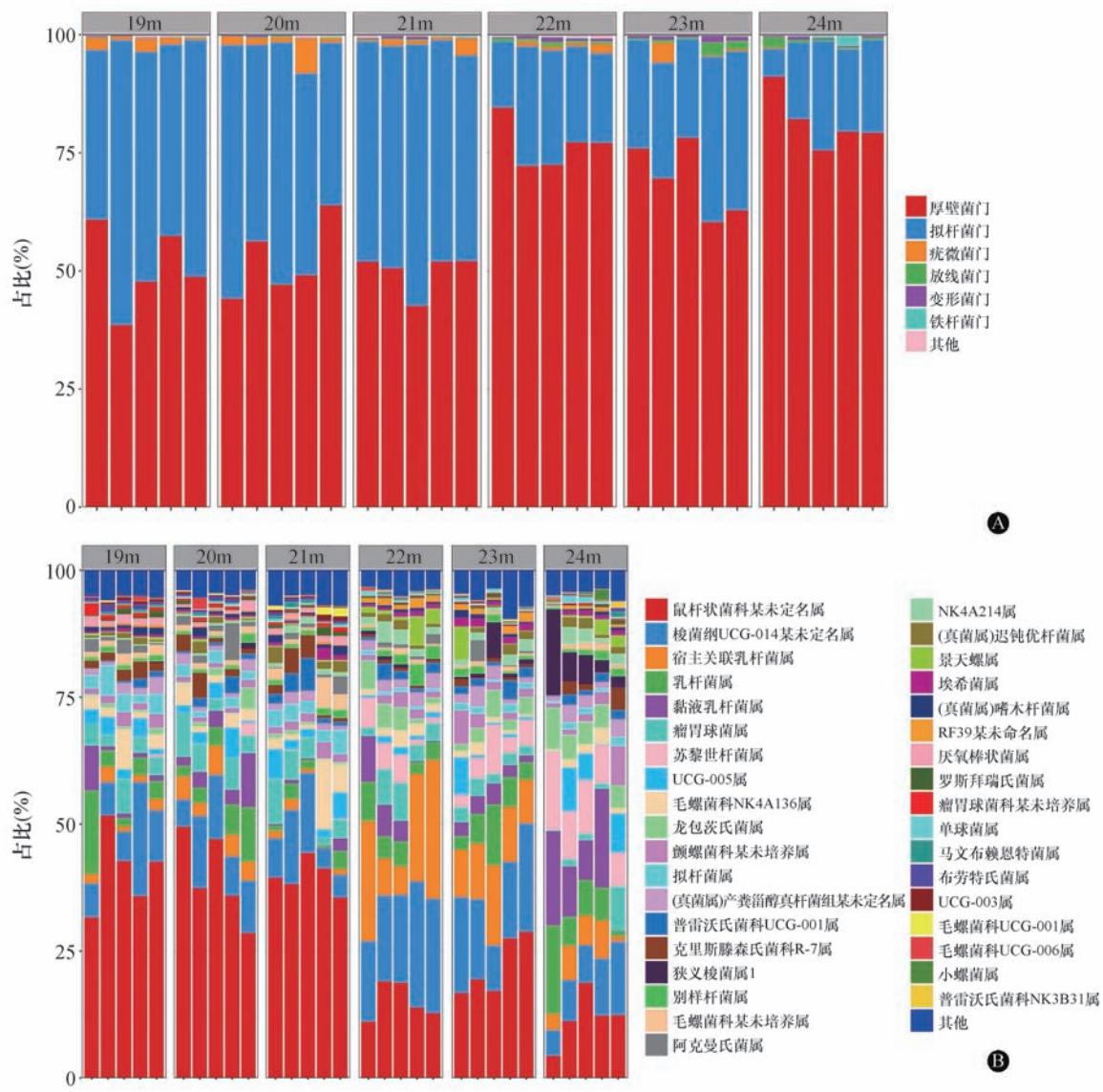


图 1 不同水平微生物群落相对丰度

注: A, 不同月龄大鼠肠道菌群的门水平相对丰度柱状图; B, 不同月龄大鼠肠道菌群的属水平相对丰度柱状图。

2.2 不同月龄大鼠肠道微生物的 α 多样性 如图2A至C所示, 不同月龄大鼠的肠道菌群 α 多样性存在显著差异。随着月龄的不断增加, 大鼠肠道菌群Chao指数(图2A)及Shannon指数(图2B)均呈现下降趋势, 差异有统计学意义($P = 0.001\,68$, $P = 0.008\,98$), Simpson指数(图2C)呈现上升趋势($P = 0.039\,35$)。这提示, 随着大

鼠不断衰老, 肠道菌群的丰度及多样性均逐渐降低。

2.3 不同月龄大鼠肠道微生物的 β 多样性 β 多样性通过分析各样本间的物种组成成分和丰度信息来反映样本间的关系, 如图3所示, 图中PC1能解释样本差异数据的45.46%, PC2能解释样本差异数据的4.7%, 不同颜色的散点代表不同月龄

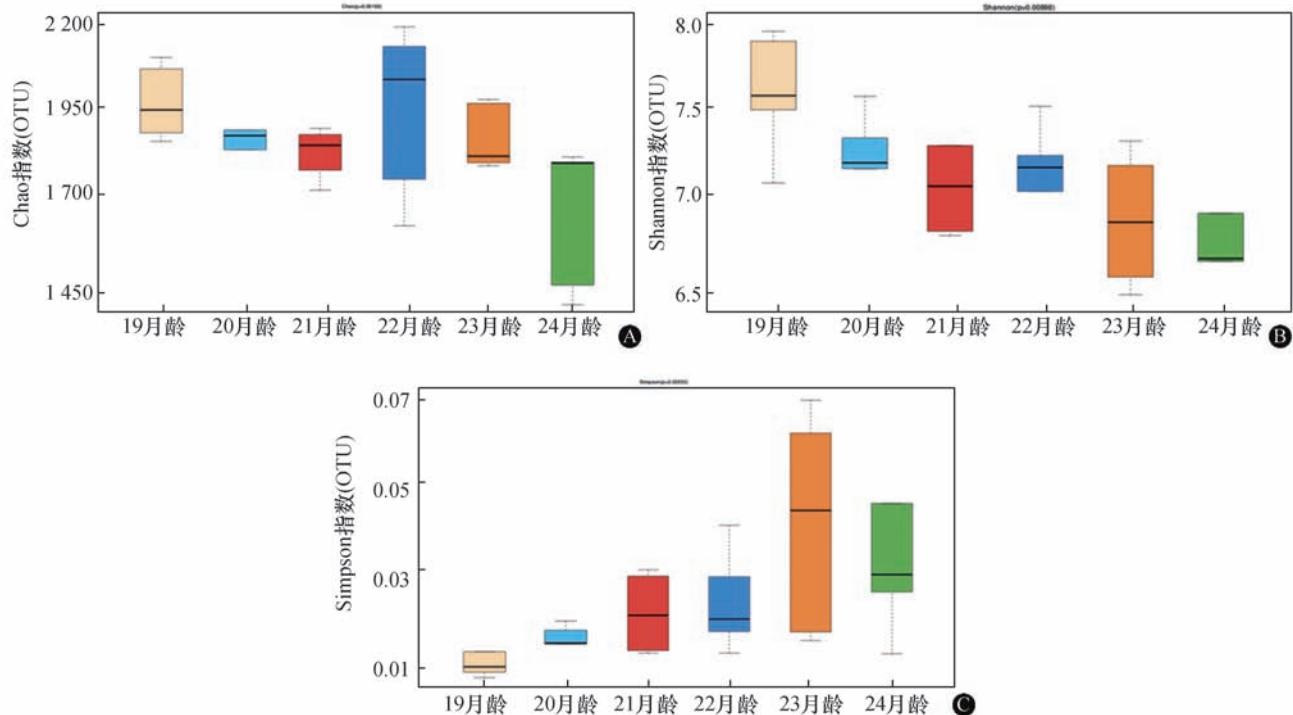


图2 不同月龄大鼠的肠道菌群 α 多样性分析图

注: A, Chao指数; B, Shannon指数; C, Simpson指数。

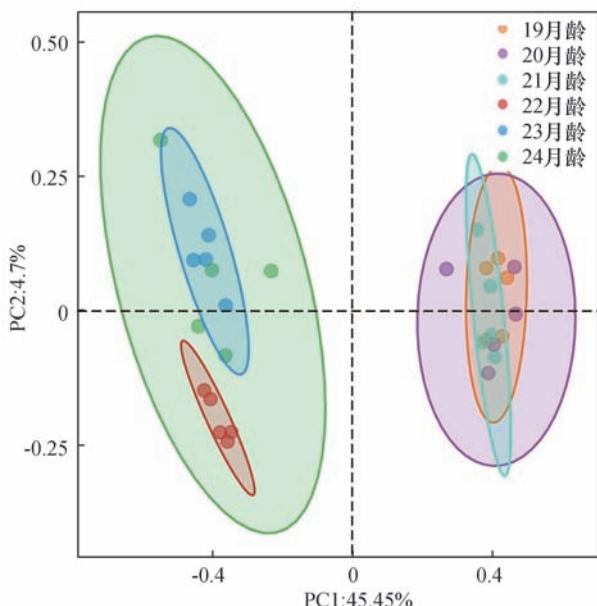


图3 不同月龄大鼠的肠道菌群PCoA分析结果

注: PC, 主成分。

大鼠的肠道菌群, 菌群结构相近的样本有聚在一起的倾向, 直观清晰地反映不同月龄大鼠间的肠道菌群差异。19~21月龄大鼠肠道菌群结构相似, 22~24月龄大鼠肠道菌群结构相似。月龄越大, 相同月龄大鼠组内各样本间越分散, 反之越集中。

2.4 不同月龄大鼠肠道微生物的LEfSe差异分析 如图4所示, 对不同月龄大鼠的肠道菌群进行比较, 6个采样时间点共筛选出72个具有差别的细菌群落。不同月龄大鼠肠道菌群的差别主要存在于厚壁菌门、拟杆菌门、放线菌门和变形菌门等。19月龄大鼠粪便样本中拟杆菌门的鼠杆菌科及拟杆菌科(*Bacteroidaceae*)等相对丰度显著增高; 20月龄大鼠粪便样本中厚壁菌门的消化球菌科(*Peptococcaceae*)等相对丰度显著增高; 21月

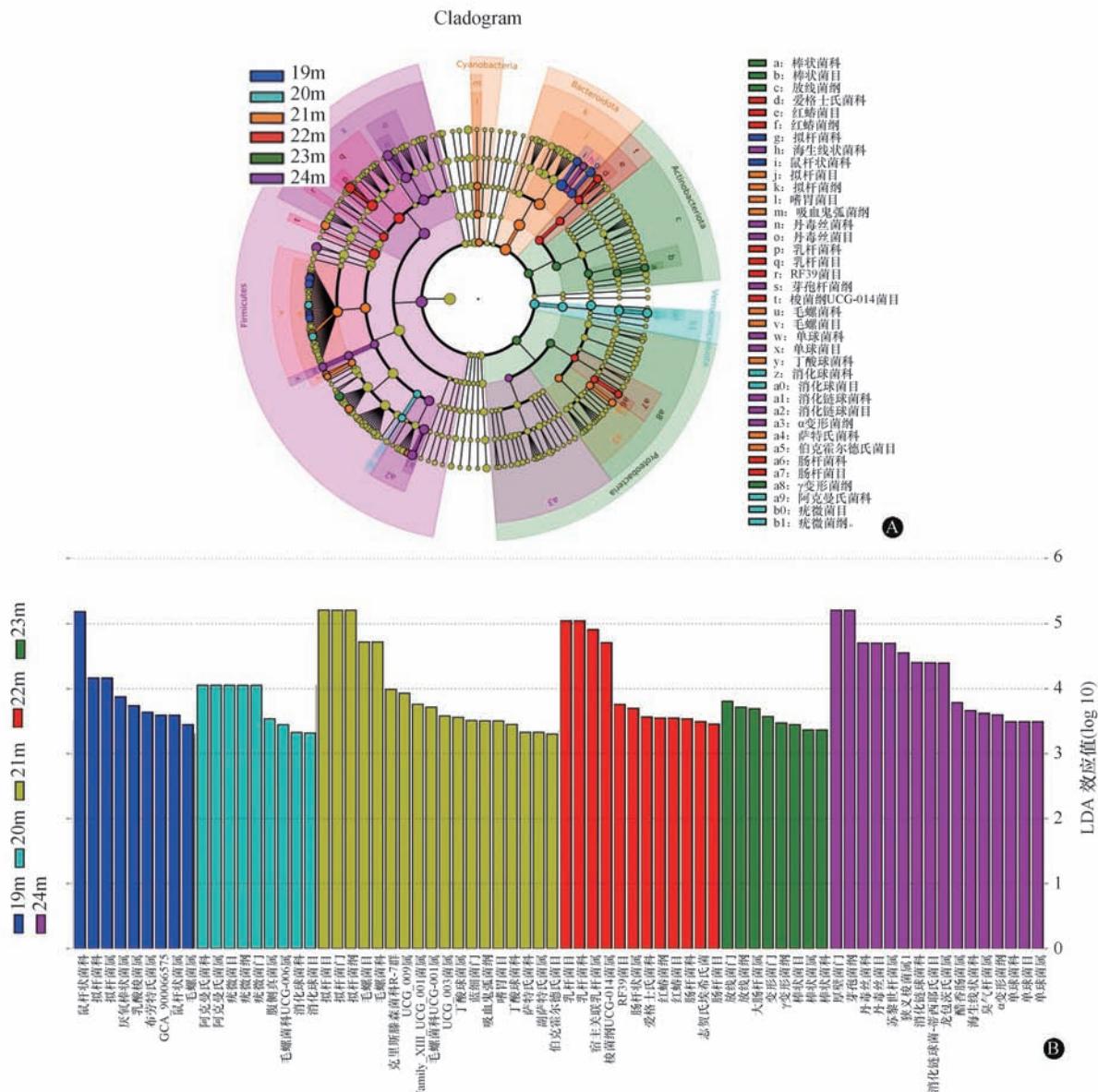


图4 不同月龄大鼠肠道菌群的 LEfSe 差异分析

注: A, 不同月龄大鼠肠道菌群 LEfSe 多级物种层级树状图; B, 不同月龄大鼠肠道菌群标志物种的 LDA 效应值柱状图; LDA, 线性判别分析。

龄大鼠粪便样本中厚壁菌门的毛螺菌科 (*Lachnospiraceae*) 以及变形菌门的萨特氏菌科 (*Sutterellaceae*) 等相对丰度显著增高; 22月龄大鼠粪便样本中放线菌门的爱格士菌科 (*Eggerthellaceae*)、厚壁菌门的乳杆菌科 (*Lactobacillaceae*) 以及变形菌门的肠杆菌科 (*Enterobacteriaceae*) 等相对丰度显著增高; 23月龄大鼠粪便样本中放线菌门的棒状菌科 (*Corynebacteriaceae*) 等相对丰度显著增高; 24月龄大鼠粪便样本中拟杆菌门的海生线状菌科 (*Marinifilaceae*) 以及厚壁菌门的丹毒丝菌科 (*Erysipelotrichaceae*)、单球藻科 (*Mono-*

globaceae) 和消化链球菌科 (*Peptostreptococcaceae*) 等相对丰度显著增高。总体来说, 月龄越大的大鼠存在的差异菌属越多, 这与之前的 PCoA 分析结果显示月龄越大的大鼠样本越离散结果相符合。

3 讨论

在机体自然衰老过程中, 肠道是起始器官, 包括肠道组织退行性变、肌层增厚等组织学改变^[9], 从而导致肠壁黏膜功能、肠道通透性均会发生相应的衰老性变化^[10], 从而影响肠道菌群的生存环境, 改变肠道菌群的稳态及功能, 甚至发生

菌群易位等现象，从而导致免疫调节异常及相关疾病^[11]。越来越多研究者意识到肠道菌群是促进宿主机体发育和稳态的重要生理因素，并且在不同的生命周期中，肠道菌群随着宿主的年龄变化而变化^[12]。但不同个体间菌群差异较大，易受饮食习惯、健康状态、治疗药物及宿主基因组的影响，为人群中肠道菌群的进一步研究带来很大困难。因此，本文拟通过对无菌大鼠衰老过程中肠道菌群变化趋势的探究，为衰老人群相关疾病的研究提供理论基础。

Yang 等^[13]研究显示，年龄会影响大鼠肠道菌群厚壁菌门/拟杆菌门比值，老龄鼠体内拟杆菌门更多，厚壁菌门更少。在本研究中也得到相似的结果，自然衰老的大鼠随着月龄的增加，厚壁菌门逐渐减少，拟杆菌门逐渐增多。拟杆菌门属于革兰氏阴性菌，既往研究发现其基因组中富含大量碳水化合物活性酶基因，能够降解和发酵多种膳食纤维，以乙酸盐和丙酸盐为主要代谢产物^[14]。另有研究发现，拟杆菌门具有多种产生维生素和辅酶的基因，在宿主的食物消化和营养利用中发挥重要作用^[15]。厚壁菌门属革兰氏阳性菌，研究发现其基因组中富含生物合成及膜转运相关基因，可产生丁氨酸及多种 B 族维生素^[16]。另有研究发现，厚壁菌门丰度升高可能与抗炎和改善肠道屏障相关^[17]。综上所述，很多学者认为，由厚壁菌门增加或拟杆菌门减少引起的厚壁菌门/拟杆菌门比值增加是肠道菌群失调的标志，但这种菌群失调对老龄鼠及人群的消化系统、免疫系统及神经系统等多个系统功能的影响有待进一步研究。

既往对肠道菌群的研究年龄跨度大，多将衰老人群与年轻人群的肠道菌群进行对比研究。比如，Biagi 等^[18]研究发现，在半超级百岁（105 岁及以上）老人的肠道微生物群中，发现了不同于年轻人的肠道菌群微生态，这些人群肠道内的健康菌落包括疣微菌门的阿克曼菌属（*Akkermansia*）、放线菌门的双歧杆菌属（*Bifidobacterium*）和厚壁菌门的克里斯滕森菌科（*Christensenellaceae*）等。另有研究发现，中老年人的肠道菌群与其一生中其他时期显著不同，拟杆菌数量相对较多，且难辨梭菌菌群分布模式也发生了改变^[19]。而以

月为计量单位对衰老大鼠肠道菌群的演变过程进行详细探究却鲜有人为。本研究发现，19~21 月龄大鼠肠道菌群的组成相似，以厚壁菌门和拟杆菌门为主，且占比接近，22~24 月龄大鼠厚壁菌门相对丰度显著减少，而拟杆菌门相对丰度显著增多。在 β 多样性的 PCoA 分析中也同样发现，19~21 月龄大鼠肠道菌群结构相似，22~24 月龄大鼠肠道菌群结构相似。这提示衰老大鼠的肠道菌群组成并未以月的速度进行演变，而是在 3 个月左右的时间中存在明显差异。这一结果为今后大鼠肠道菌群的研究周期提供了基础，可有效降低实验成本，提高实验效率。

本研究通过对不同月龄大鼠的肠道菌群进行 LEfSe 分析发现，在科和属水平上，月龄越小的大鼠肠道益生菌丰度越高。比如拟杆菌门的拟杆菌科及乳杆菌科丰度在 19 月龄大鼠粪便中显著增高。既往研究显示，拟杆菌科的某些菌株不仅参与完善宿主免疫 T 细胞的功能，同时也参与结肠神经元活动的调节^[20]，Yoshida 等^[21]发现拟杆菌科的菌株可以减少肠道其他微生物脂多糖的产生，降低内毒素的释放入血，从而有效抑制促炎反应。既往大量研究显示，乳杆菌科的多种菌株通过参与合成多种消化酶、氨基酸和维生素帮助宿主对食物进行消化吸收和营养利用，同时具有免疫调节功能和增强肠道黏膜屏障的功能^[22]。因此拟杆菌和乳杆菌制剂已经作为益生菌被广泛应用到多种疾病的治疗中。在本研究中，随着衰老大鼠的月龄不断增加，致病菌丰度也随之增多。如在 21 月龄大鼠粪便中丰度增高的毛螺菌科，曾被证实^[23]在高脂饲料诱导的小鼠模型中丰度显著增加。研究发现，肠杆菌丰度与宿主体内胆固醇和胰岛素等肥胖相关指标的水平成正相关，同时与肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 6 等炎性相关因子的水平也呈正相关，提示肠杆菌可能参与宿主体内促炎反应^[24]。本研究也发现，在自然衰老的大鼠粪便样本中，随着月龄的增加，肠杆菌科相对丰度显著增多，但这类致病菌如何参与大鼠的衰老过程有待进一步研究。

综上所述，自然衰老的大鼠随着月龄的不断增加，肠道菌群的丰度及多样性均呈下降趋势，

厚壁菌门逐渐减少，拟杆菌门逐渐增多。在科和属水平上，拟杆菌科及乳杆菌科等益生菌相对丰度在月龄较小的大鼠肠道菌群中显著增高，而肠球菌科、链球菌科及毛螺菌科等致病菌相对丰度在月龄较大的大鼠样本中显著增高。本研究为衰老大鼠和人群的肠道菌群及相关疾病研究提供重要依据。

参考文献

- [1] 霍星宇, 耿婕. 肠道菌群及其代谢产物与心血管疾病关系的研究进展 [J]. 天津医药, 2020, 48 (5): 460-464.
- [2] MAGNE F, GOTTELAND M, GAUTHIER L, et al. The firmicutes/ bacteroides ratio: a relevant marker of gut dysbiosis in obese patients [J]. Nutrients, 2020, 12 (5): 1474.
- [3] ILJAZOVIC A, AMEND L, GALVEZ EJC, et al. Modulation of inflammatory responses by gastrointestinal prevotella spp. -From associations to functional studies [J]. Int J Med Microbiol, 2021, 311 (2): 151472-151472.
- [4] FESSLER J, MATSON V, GAJEWSKI TF. Exploring the emerging role of the microbiome in cancer immunotherapy [J]. J Immunother cancer, 2019, 7 (1): 108-119.
- [5] KUNO T, HIRAYAMA-KUROGI M, ITO S, et al. Reduction in hepatic secondary bile acids caused by short-term antibiotic-induced dysbiosis decreases mouse serum glucose and triglyceride levels [J]. Sci Rep, 2018, 8 (1): 1253.
- [6] NICCOLAI E, RUSSO E, BALDI S, et al. Significant and conflicting correlation of IL-9 with prevotella and bacteroides in human colorectal cancer [J]. Front Immunol, 2021, 11: 573158.
- [7] ZOU B, TANG Y, YANG WL, et al. Role of intestinal microbiota-farnesoid X receptor axis in metabolic diseases [J]. Chin J Pathophysiol, 2019, 35 (9): 1716-1720.
- [8] 黄树武, 闵凡贵, 王静, 等, 常用小鼠、大鼠肠道菌群比较研究 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29 (6): 777-784.
- [9] 秦廷洋, 代军, 马晓春, 等. 衰老对大鼠肠道组织形态及自噬水平的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2019, 39 (16): 4042-4045.
- [10] 任卫英, 李锂, 吴克芬, 等. 自然衰老与 D-半乳糖诱导的衰老大鼠肠道形态学和上皮紧密连接蛋白表达的对比研究 [J]. 老年医学与保健, 2016, 22 (4): 215-218, 222.
- [11] CYBULARZ M, WYDRA S, BERNDT K, et al. Frailty is associated with chronic inflammation and pro-inflammatory monocyte subpopulations [J]. Exp Gerontol, 2021, 149: 111317.
- [12] 涂师运, 王娟, 傅金凤, 等. 无菌小鼠在肠道菌群研究中的应用概述 [J]. 中国病理生理杂志, 2021, 37 (2): 356-362.
- [13] YANG T, SANTISTEBAN MM, RODRIGUEZ V, et al. Gut dysbiosis is linked to hypertension [J]. Hypertension, 2015, 65 (6): 1331-1340.
- [14] YUE Y, WANG J, WU X, et al. The fate of anaerobic syntrophy in anaerobic digestion facing propionate and acetate accumulation [J]. Waste Manage, 2021, 124: 128-135.
- [15] KARLSSON FH, USSERY DW, NIELSEN J, et al. A closer look at bacteroides: phylogenetic relationship and genomic implications of a life in the human gut [J]. Microb Ecol, 2011, 61 (3): 473-485.
- [16] LI W, ZHANG Y, MAO W, et al. Functional potential differences between Firmicutes and proteobacteria in response to manure amendment in a reclaimed soil [J]. Can J Microbiol, 2020, 66 (12): 689-697.
- [17] KAUR A, CHEN T, GREEN SJ, et al. Physical inaccessibility of a resistant starch shifts mouse gut microbiota to butyrogenic Firmicutes [J]. Mol Nutr Food Res, 2019, 63 (7): 1801012.
- [18] BIAGI E, FRANCESCHI C, RAMPELLI S, et al. Gut microbiota and extreme longevity [J]. Curr Biol, 2016, 26 (11): 1480-1485.
- [19] RAHAYU ES, UTAMI T, MARIYATUN M, et al. Gut microbiota profile in healthy Indonesians [J]. World J Gastroenterol, 2019, 25 (12): 1478-1491.
- [20] AKTAR R, PARKAR N, STENTZ R, et al. Human resident gut microbe bacteroides thetaiotaomicron regulates colonic neuronal innervation and neurogenic function [J]. Gut Microbes, 2020, 11 (6): 1745-1757.
- [21] YOSHIDA N, EMOTO T, YAMASHITA T, et al. Bacteroides vulgatus and bacteroides dorei reduce gut microbial lipopolysaccharide production and inhibit atherosclerosis [J]. Circulation, 2018, 138 (22): 2486-2498.
- [22] CAPURSO L. Thirty years of lactobacillus rhamnosus GG: a review [J]. J Clin Gastroenterol, 2019, 53 (Suppl 1): S1-S41.
- [23] ZHENG A, YI H, LI F, et al. Changes in gut microbiome structure and function of rats with isoproterenol-induced heart failure [J]. Int Heart J, 2019, 60 (5): 1176-1183.
- [24] 颜芳, 刘艳霞, 张偲, 等. 多囊卵巢综合征大鼠肠道菌群多样性研究 [J/CD]. 中国医学前沿杂志（电子版）, 2022, 14 (11): 34-42.

收稿日期: 2023-01-28

本文编辑: 高超 潘麒羽