

人体肠道微生物多样性和功能研究进展

刘开朗¹, 王加启^{1,*}, 卜登攀¹, 赵圣国^{1,2}

(1. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所动物营养学国家重点实验室, 北京 100193; 2. 甘肃农业大学, 兰州 730070)

摘要:人体肠道中庞大而复杂的微生物群落对人体自身代谢表型有深远的影响。肠道微生物群落在亚种或菌株水平上表现出极大的多样性。利用微生物分子生态学、元基因组学和代谢组学研究方法,发现肠道微生物与宿主表现出共进化的特点,肠道微生物群落及其基因组为宿主提供了互补的遗传和代谢功能,表现出互惠共生关系。但是,肠道微生物群落中影响宿主代谢表型的关键功能菌鉴定及其作用模式问题仍然悬而未决,综合运用多种高通量研究方法和多维数据分析方法可能成为解决这个问题突破口。

关键词:肠道微生物;多样性;16S rRNA;元基因组学;代谢组学

文章编号:1000-0933(2009)05-2589-06 中图分类号:Q16,Q938,R339.5 文献标识码:A

Advances in diversity and functionality of human gut microflora

LIU Kai-Lang¹, WANG Jia-Qi^{1,*}, BU Deng-Pan¹, ZHAO Sheng-Guo^{1,2}

1 State Key Laboratory of Animal Nutrition, Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China

2 Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(5): 2589 ~ 2594.

Abstract: The human intestine is inhabited by numerous microbes, which form a complex microbial community that deeply affects human physiology. This microbiota is dominated by relatively few divisions that are highly diverse at the strain/subspecies level, which together with its collective genomes (microbiome) provide us with genetic and metabolic attributes we have not been required to evolve on our own. New studies taking advantage of molecular microecological, metagenomic and metabolomic methods are revealing how the gut microbiota has coevolved with us and how it manipulates and complements our biology in ways that are mutually beneficial. However, how certain keystone members of the microbiota operate to maintain the stability and functional adaptability of this microbial organ still need to be answered, which necessitate the combination of high throughput methods and multivariable analysis.

Key Words: gut microflora; diversity; 16SrRNA; metagenomics; metabolomics

人体肠道为微生物提供了良好的栖息环境,成人肠道中的微生物达到了 $10^{12} \sim 10^{14}$ 个,不仅远远超过人体表皮微生物数量,而且 10 倍于人体自身细胞数目^[1]。前人研究通常将肠道微生物群落与人体的关系归纳为共栖(一个种类受益,而另一个种类不受影响)或互惠共生(两个种类都受益)。但是,“共栖”不能正确地描述肠道微生物群落个体对于其他个体或人体的有益作用。现在,许多研究者将人体肠道内微生物群落看作是人的一个器官,这主要是因为:微生物群落由多种细胞系组成,细胞间或细胞与宿主之间具有信息交流能力;能够消耗、贮藏和重新分配能量;调控具有代谢重要性的化学转换过程;能够通过自复制来维持和修复自身;人体肠道微生物群落基因组(微生物组)中包含的基因数目大概是人体自身基因数目的 100 倍,具有人体自身不具备的代谢功能。因此,越来越多的研究者将人视为由人体和相关微生物共同组成的“超生物”,从人

基金项目:国家“十一五”科技攻关奶业重大专项资助项目(2006BAD04A03);动物营养学国家重点实验室自主课题(2004DA125184(团)0801)

收稿日期:2008-01-14; 修订日期:2008-07-22

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: jqwangcaas@gmail.com

体自身基因组和微生物组结合体的角度来进行研究。

在动物消化道微生物群落的研究中,反刍动物和白蚁是最常见的研究模型。反刍动物和白蚁动物以植物性食物为主,肠道内的厌氧菌能够降解食物中的长链多聚糖化合物,并将单糖转化成为短链脂肪酸。研究表明,这些动物的肠道是一个调控精密的生化反应器。在这个共生关系中,宿主获得碳水化合物和能量,而微生物则得到多聚糖化合物和稳定的厌氧环境^[2]。人体小肠是一个与之类似的厌氧反应器,是肠道绝大部分微生物定植的区域。这些微生物可以降解植物胶质、纤维素、半纤维素和抗消化淀粉等难消化多聚糖化合物。

肠道微生物对人体健康和疾病的影响一直是微生物学研究的重要领域之一。现在,试验生物学和生物信息学的发展使得人们可以对下列问题开展系统的研究:肠道微生物的多样性,关键功能菌的基因组信息,微生物之间的营养吸收和共享机制,肠道微生物群落的适应性以及这些微生物对人体健康的促进作用。本文综述了人体肠道微生物多样性和功能研究方面的研究方法和进展,并提出了面临的一些挑战。

1 人体肠道微生物多样性:16S rRNA 分析

早期的肠道微生物研究以微生物分离培养为基础。近年来,以细菌核糖体 RNA 序列(16S rRNA)分析为基础的未培养微生物研究技术的发展大大拓展了肠道微生物研究的内容,通过对细菌分类和进化标记基因 16S rRNA 基因进行测序,全面深入地反映环境微生物群落结构的多样性,使人们对肠道微生物有了新的认识。

在相当长的生物进化过程中,rRNA 分子功能几乎保持恒定,而且有些部位分子排列顺序变化非常小,从这种排列顺序可以检测出种系发生关系。rRNA 结构既具有保守性,又具有高变性。保守性能够反映出生物物种的亲缘关系,为系统发育重建提供线索;高变性能揭示出生物物种的特征核酸序列,是种属鉴定的分子基础。细菌 rRNA 有 3 种类型:23S rRNA、16S rRNA 和 5S rRNA。其中,16S rRNA 的相对分子质量适中,较易于进行序列测定的分析比较。目前,16S rRNA/rDNA 作为一个科学可靠的指标广泛用于微生物遗传特征和分子差异研究^[3]。

在 GenBank 收录的 20 多万条微生物 rRNA 基因序列中,仅有 1822 条来自人体肠道,其中 1689 条属于未培养微生物。虽然并不十分准确,但 rRNA 基因序列的相似性水平已经被广泛用作微生物分类的基础。以序列相似性水平 97% 作为定义微生物“属”的初步基础,多样性估计表明人体肠道内微生物种类约为 800 多种,而菌株类型(独特序列型)约为 97000 种^[4]。

Zoetendal 等运用基于 16S rRNA 的 PCR-DGGE(denaturing gradient gel electrophoresis,变性梯度凝胶电泳)技术,分析了宿主基因型、宿主生理和环境因素对肠道微生物组成和功能的影响,发现成人肠道微生物群落结构相对比较稳定,而且具有亲缘关系、独立生活的个体具有类似的肠道微生物群落,这些结果表明宿主基因型及其相关因素是影响肠道微生物区系组成的重要因素^[3]。

成人胃肠道中的微生物可分为细菌(Bacteria)、古菌(Archaea)和真核生物(Euarya)3 种。与其他生态系统相比,人体肠道中的细菌细胞密度最高^[5]。但是,在“门”分类水平上,人体肠道微生物的多样性水平非常低^[6];截止到目前为止,在已知的 55 个细菌门中,人体肠道微生物仅有其中的 8 个门。其中最主要的门是 CFB(包括噬胞菌属(*Cytophaga*)、黄质菌属(*Flavobacterium*)和类杆菌属(*Bacteroides*))和壁厚菌门(*Firmicutes*),每个门约占人粪便和肠道上皮粘液中细菌数量的 30%。变形杆菌(*Proteobacteria*)也是人体肠道中的常见菌,但是数目相对较少^[7]。与此形成对比的是,土壤(有机物质在土壤中被降解,因此土壤常被认为是陆地生物圈的消化道)微生物区系中包括了来自 20 多个门的细菌^[8]。胃肠道中微生物在“门”分类水平上表现出较低的多样性,一方面反映出宿主对胃肠道微生物组成及其功能的选择性压力,另一方面也可能是由于与地球漫长的历史相比,人类进化史相对较短而造成的。

肠道中微生物组多样性是宿主选择性和共进化共同作用的结果。例如,在微生物分类学中,来自哺乳动物胃肠道的 CFB 细菌与来自共同祖先的细菌相距最远,表明这些微生物在进入哺乳动物胃肠道、与宿主形成互生关系后,进化速度加快。而且,对 GenBank 中相关序列进行比较,发现 CFB 中的一些亚群主要分布在不

同的哺乳动物中^[4],表明 CFB 与哺乳动物的共生现象由来已久,而且不同的亚群与宿主表现出共进化的特点。

与基于 16S rRNA 序列多样性的指纹图谱技术相比,16S rRNA 全长基因克隆文库技术由于分析序列片段长、信息量较大,得到了越来越多的运用。2005 年,Eckburg 等对 3 位美国健康个体肠道不同部位菌群结构的 13,355 条 16S rRNA 基因进行了测序分析,发现人体肠道菌群主要由未培养微生物组成,是一个远比人们预料更加复杂的生态系统,而且存在明显的个体差异。每个个体都有自己独特的肠道微生物组,肠道微生物组的组成和功能通常会随着宿主的基因、饮食及环境等因素的变化而变化。因此,人类的肠道微生物群落被认为是人类的“第二指纹”^[9]。

2 肠道微生物功能:元基因组学分析

获取了这些未培养的肠道微生物的基因序列后,研究其基因序列所对应的功能就成了肠道微生态研究的另一个重要方向,其中主要的技术是以序列分析为基础的元基因组学(metagenomics)方法。元基因组指的是自然环境中全部微生物基因组的总和。1998 年,Jo Handelsman 首次提出了元基因组学的概念^[10]。

长期以来,微生物学工作者们主要依赖于分离培养方法来研究微生物。但是,根据早期的研究结果推断,超过 99% 的环境微生物在目前可提供的培养条件下不能人工培养,随机克隆 16S rRNA 基因序列分析所得到的系统发育数据也支持这个推断^[10]。元基因组学的出现改变了微生物学家研究问题的方法。元基因组学研究的基本研究策略包括:环境基因组大片段 DNA 的提取和纯化、文库构建、目的基因筛选和/或大规模测序分析(图 1)。元基因组文库中既包含了可培养的、又包含了不可培养的微生物基因和基因组,将某个自然环境中的总 DNA 克隆到可培养的宿主细胞中,从而避开了微生物分离培养的难题。在元基因组学研究中,借助于大规模序列分析,在基因序列分析的基础上,结合生物信息学工具,能够发现大量过去无法得到的未知微生物新基因或新基因簇,这对了解微生物区系组成、进化历程和代谢特点,挖掘具有应用潜力的新基因等都具有重要意义^[11]。近 4 年来,随着基因组测序成本的降低和基因组学、生物信息学工具的发展,元基因组学呈现出迅速的发展势头,在微生物分子生态学和微生物资源利用等领域取得了瞩目的成就,被称为“生物学研究中的革命”^[12]。

元基因组学方法在人体肠道微生物群落中的应用,大大拓展了研究范围,积累了大量基因序列信息,为了了解肠道微生物的多样性和生物功能提供了直接的证据。2006 年,Gill 等以一名 28 岁健康女性和一名 37 岁健康男性粪样为样品,构建了 2 个元基因组文库,通过大规模鸟枪法测序,共得到 33 753 108bp 长度序列信息,含有 50 164 个开放阅读框。利用京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, version 37, KEGG)和同源基因信息库 COG(clusters of orthologous groups)对这些开放阅读框进行功能分析,发现肠道微生物基因组中富含参与碳水化合物、氨基酸、甲烷、维生素和类异戊二烯代谢的基因。以碳水化合物代谢中的糖苷水解酶为例,肠道微生物基因组中至少含有 81 个不同的糖苷水解酶亚家族,其中大部分都是人体自身所不具备的。在肠道中,碳水化合物常常被发酵生成乙酸、丙酸和丁酸等短链脂肪酸,然后被人体吸收。从这个途径被吸收的能量占到人体从膳食中摄取总能量的 10%。与 COG 中其他微生物相比,肠道微生物富集了参与短链脂肪酸生成相关的基因。必需氨基酸和维生素等物质的代谢途径也存在类似的特点。这些结果表明人体不仅是微生物与人体共生的一个超生物体,而且微生物还是人体代谢的重要参与者,代表了肠道微生物功能研究领域中的一个重大突破^[13]。

随后,Kurokawa 等对 13 个来自美国和日本的未断奶婴幼儿和成年健康个体的肠道微生物群落进行了大规模的元基因组测序和比较分析,结果表明未断奶婴幼儿的肠道微生物群落结构简单,而且个体之间的种属和基因组成呈明显变异。与婴幼儿相比,成人肠道微生物组的功能相对一致,与宿主年龄或性别无关,表明成人肠道微生物的多样性有利于保持其功能的一致性。与其他已完成基因组测序的微生物相比,成年人和婴幼儿的肠道微生物中分别富集了 237 和 136 个基因家族。与 Gill 等^[13]研究一致的是,在成年人肠道微生物富集的 237 个基因家族中,有 25% (53 个)的功能与碳水化合物代谢有关,其中至少有 14 个糖苷水解酶家族参

与植物来源的膳食多糖类物质代谢。此外,研究还鉴定 647 个仅存在于人肠道微生物组中的新基因家族。这些为肠道微生物组与人体的共进化提供了确切证据,为了解肠道微生物在人体健康和疾病控制中的作用提供了重要基础^[14]。

3 肠道微生物功能:代谢组学分析

通过全基因组测序和元基因组方法获得肠道微生物基因组信息后,基因组功能的解析成为了相关研究的热点。由于基因功能的复杂性和生物系统的完整性,研究者越来越意识到要从“整体”层面上来理解构成生物体系各个模块的功能。随着生物学研究的深入和生物信息的大量积累,使得在系统水平上研究生命体系成为可能^[15]。

代谢组学的研究内容是生物体系在受到外界因素干预后所产生的各种代谢物的质和量及其变化规律;由于代谢(物)处于生物系统生化活动调控的末端,包含着反映生理表型的直接、全面的生物标记物(biomarker)信息,因此,代谢组学日益成为整体性研究生命体系功能变化的有力手段^[16, 17]。

一般而言,代谢组(实际为代谢物组)分析流程可分为生物分析和数据分析两大部分:生物分析的目的是产生数据,主要步骤包括生物样品收集、生物反应灭活、预处理,以及运用先进技术对代谢物进行整体性化学分析(如代谢谱或代谢指纹分析)等;数据分析的目的是鉴定出反映样品内在机理和整体性差异的关键生物标

记物,主要步骤包括数据采集、原始数据前处理,以及通过现代化学信息学和生物统计学领域的新方法对获得的多维复杂数据进行降维和信息挖掘。当前,代谢组学的发展目标还包括生物标记物的功能分析和确认,最终将代谢组学方法转化为整体认知和系统解析生化反应机理和生命现象的新的的重要手段^[18, 19]。

代谢组学为研究肠道微生物对宿主代谢的影响提供了关键的试验数据。通过比较缺乏肠道微生物的小鼠(GF 组)与正常小鼠(CONV-R 组)之间的差异,研究人员证实肠道微生物对宿主的代谢具有重要影响(表 1)。2004 年,Bäckhed 等以 GF 组和 CONV-R 组小鼠为试验对象,饲喂富含碳水化合物的食物,结果发现与 GF 组小鼠相比,CONV-R 组小鼠虽然平均每日采食量较低,但是总体脂比 GF 组高 40%^[23]。这个结果表明肠道微生物能够提高抗消化碳水化合物的利用率,从而提高食物能量利用率^[26]。而且,将来自 CONV-R 组小鼠的盲肠内容物的微生物区系定植到 GF 组小鼠时,能够将 GF 组小鼠体脂提高到与 CONV-R 组小鼠相当的水平^[23]。随后的研究发现肥胖主要与肠道中拟杆菌门(*Bacteroidetes*)和壁厚菌门(*Firmicutes*)微生物的丰度变化有关,元基因组学证据表明肥胖小鼠肠道微生物能够从膳食中摄取更多能量^[32]。这些研究都表明肠道微生物区系对宿主代谢具有重要影响,一方面微生物区系可以影响宿主整体代谢特性,另一方面改变菌群结构可以相应改变宿主生理代谢特性,宿主的代谢特性受到自身基因和体内菌群基因的双重控制和影响。对小鼠尿液利用核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)进行代谢(物)组学分析,发现这两种小鼠间存在显著差异,为肠道微生物对宿主代谢组的影响提供了直接证据^[33]。

4 展望

宿主和菌群之间进行着活跃的代谢交换以及“共代谢”过程。尽管肠道微生物多样性与人体代谢表型的

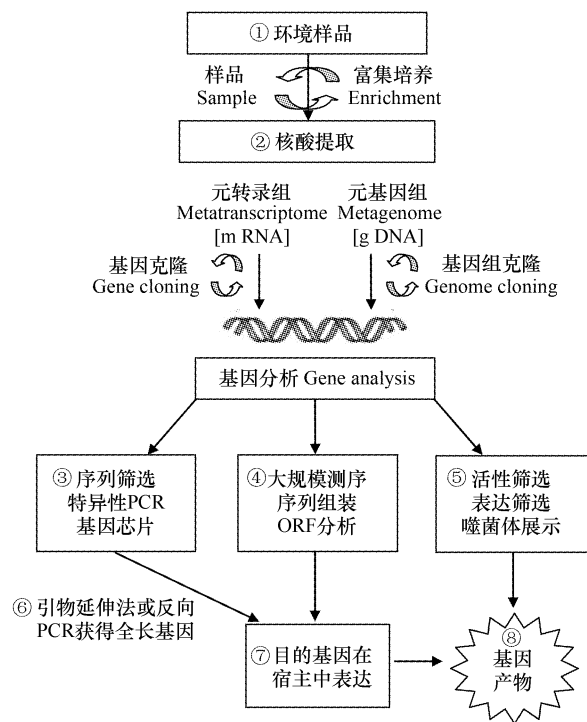


图 1 元基因组学研究策略

Fig. 1 Flowchart of metagenomics research

① Environmental sample, ② Nucleic acid isolation, ③ Sequence screening specific PCR gene microarray, ④ Large scale sequencing assembly ORF analysis, ⑤ Function screening expression screening phage display, ⑥ PCR for full gene, ⑦ Heterologous expression, ⑧ Gene product

表 1 肠道微生物对宿主生理的影响

Table 1 The influence of gut microbiota on host physiology

功能 Function	表型 Phenotype	参考文献 Reference
肠道结构与功能 Gut structure and function	GF 组小鼠盲肠肥大、肠茸毛变小,上皮细胞更新减缓,肠道蠕动速率减缓	[20, 21]
心脏功能 Cordis function	GF 组小鼠心脏重量和泵出量减小	[20, 22]
内分泌系统 Incretion system	GF 组小鼠对胰岛素敏感度增加,瘦素和 apiponectin 水平降低	[23]
营养与代谢 Nutrition and metabolism	GF 组小鼠易出现维生素缺乏,无法正常从膳食中吸收能量,胆固醇吸收增强,代谢水平降低	[24, 25, 26]
免疫系统发育 Development of immune system	GF 组小鼠免疫球蛋白含量下降	[27]
免疫与疾病调控 Immune and disease control	GF 组小鼠不易患肠道炎症或关节炎	[28, 29]
外来物质代谢 Exogenous metabolism	GF 组小鼠对草酸盐代谢能力下降,50% 有肾结石	[30]
常规健康与疾病 General health and disease	GF 组小鼠寿命较长	[31]

GF 组小鼠,缺乏肠道微生物组小鼠 GF mice, adult germ-free mice

相关性研究积累了大量研究数据、取得了飞速进展,但是,肠道微生物群落中影响宿主代谢谱的关键功能菌鉴定及其作用模式问题仍然悬而未决。要解决这个问题,不仅需要综合利用元基因组学、代谢组学和微生物生态学方法,而且必须充分利用多维数据分析方法,以此来研究肠道微生物群落与人体的交互作用,可能成为揭示肠道微生态与人类健康和疾病关系的新突破口。

References:

- [1] Savage D C. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annual Review of Microbiology*, 1977, 31: 107 — 133.
- [2] Brune A, Friedrich M. Micro-ecology of the termite gut: structure and function on a microscale. *Current Opinion in Microbiology*, 2000, 3: 263 — 269.
- [3] Zoetendal E G, Akkermans A D L. Akkermans van-Vliet W M, *et al.* The host genotype affects the bacterial community in the human gastrointestinal tract. *Microbial Ecology of Health and Disease*, 2001, 13:129 — 134.
- [4] B ckhed F, Ley R E, Sonnenburg J L, *et al.* Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*, 2005, 307: 1915 — 1920.
- [5] Whitman W B, Coleman D C, Wiebe W J. Prokaryotes: the unseen majority. *Proceedings of the National Academy of Sciences U. S. A.* , 1998, 94: 6578 — 6583.
- [6] Hugenholtz P, Goebel B M, Pace N R. Impact of cultureindependent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *Journal of Bacteriology*, 1998, 180: 4765 — 4774.
- [7] Seksik P, Rigottier-Gois L, Gramet G, *et al.* Alterations of the dominant faecal bacterial groups in patients with Crohn's disease of the colon. *Gut*, 2003, 52: 237 — 242.
- [8] Dunbar J, Barns S M, Ticknor L O, *et al.* Empirical and theoretical bacterial diversity in four Arizona soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68, 3035 — 3045.
- [9] Eckburg P B, Bik E M, Bernstein C N, *et al.* Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*, 2005, 308:1635 — 1638.
- [10] Rondon M R, August P R, Bettermann A D, *et al.* Cloning the soil metagenome; a strategy for accessing the genetic and functional diversity of uncultured microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66:2541 — 2547.
- [11] Handelsman Jo. Metagenomics; application of genomics to uncultured microorganisms. *Microbiology and Molecular Biology Review*, 2004, 68: 669 — 685.
- [12] National Research Council Committee on Metagenomics. *The New Science of Metagenomics: Revealing the Secrets of our Microbial Planet*. Washington, DC: National Academies Press, 2007.
- [13] Gill S R, Pop M, Deboy R T, *et al.* Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*, 2006, 312:1355 — 1359.
- [14] Kurokawa K, Itoh T, Kuwahara T, *et al.* Comparative Metagenomics Revealed Commonly Enriched Gene Sets in Human Gut Microbiomes. *DNA Research*, 2007, 14:169 — 181.
- [15] Hood L. Systems biology: integrating technology, biology, and computation. *Mechanism of Ageing Development*, 2003, 124 (1): 9 — 161.
- [16] Nicholson J K, Wilson I D. Understanding global systems biology: metabonomics and the continuum ofmetabolism. *Nature Review Drug Discovery*, 2003, 2 (8): 668 — 6761.

- [17] Fernie A R, Trethewey R N, Krotzky A J, *et al.* Metabolite profiling: from diagnostics to systems biology. *Nature Review Molecular Cell Biology*, 2004, 5 (9): 763 — 769.
- [18] Goodacre R, Vaidyanathan S, Dunn W B, *et al.* Metabolomics by numbers: acquiring and understanding global metabolite data. *Trends in Biotechnology*, 2004, 22 (5): 245 — 252.
- [19] Guo B, Dai R K. Current trends in analytical methodologies and experimental strategies for metabolomics. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2007, 17(3): 554 — 563.
- [20] Gordon H A, Bruckner-Kardoss E, Staley T E, *et al.* Characteristics of the germ-free rat. *Acta Anatomica*, 1966, 64, 367 — 387.
- [21] Banasaz M, Norin E, Holma R, *et al.* Increased enterocyte production in gnotobiotic rats mono-associated with *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68, 3031 — 3034.
- [22] Gordon H A, Wostmann B S, Bruckner-Kardoss E. Effects of microbial flora on cardiac output and other elements of blood circulation. *Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine*, 1963, 114: 301 — 304.
- [23] Backhed F, Ding H, Wang T, *et al.* The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences U. S. A.*, 2004, 101 (44): 15718 — 15723.
- [24] Gustafsson B E, Daft F S, Mc D E, *et al.* Effects of vitamin K-active compounds and intestinal microorganisms in vitamin K-deficient germfree rats. *Journal of Nutrition*, 1962, 78: 461 — 468.
- [25] Levenson S M, Doff F, Lev M, *et al.* Influence of microorganisms on oxygen consumption, carbon dioxide production and colonic temperature of rats. *Journal of Nutrition*, 1969, 97, 542 — 552.
- [26] Yamanaka M, Nomura T, Kametaka M. Influence of intestinal microbes on heat production in germ-free, gnotobiotic and conventional mice. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 1977, 23, 221 — 226.
- [27] Horsfall D J, Cooper J M, Rowley D. Changes in the immunoglobulin levels of the mouse gut and serum during conventionalisation and following administration of *Salmonella typhimurium*. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*, 1978, 56(6): 727 — 735.
- [28] Sadlack B, Merz H, Schorle H, *et al.* Ulcerative colitis-like disease in mice with a disrupted interleukin-2 gene. *Cell*, 1993, 75(2): 253 — 261.
- [29] Rath H C, Herfarth H H, Ikeda J S, *et al.* Normal luminal bacteria, especially *Bacteroides* species, mediate chronic colitis, gastritis, and arthritis in HLA-B27/human beta2 microglobulin transgenic rats. *Journal of Clinical Investigation*, 1996, 98: 945 — 953.
- [30] Allison M J, Dawson K A, Mayberry W R, *et al.* *Oxalobacter formigenes* gen. nov., sp. nov.: oxalate-degrading anaerobes that inhabit the gastrointestinal tract. *Archives of Microbiology*, 1985, 141(1): 1 — 7.
- [31] Pollard M, Wostmann B S. Increased life span among germfree rats. *Progress in Clinical Biology Research*, 1985, 181: 75 — 76.
- [32] Turnbaugh P J, Ley R E, Mahowald M A, Magrini V, Mardis E R, Gordon J I. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 2006, 444: 1027 — 1031.
- [33] Nicholls A W, Mortishire-Smith R J, Nicholson J K. NMR spectroscopic-based metabolomic studies of urinary metabolite variation in acclimatizing germ-free rats. *Chemical Research in Toxicology*, 2003, 16: 1395 — 404.

参考文献:

- [19] 郭宾, 戴仁科. 代谢组学及其研究策略和分析方法进展. *中国卫生检验杂志*, 2007, 17 (3): 554 ~ 563.