

# 动物模型移植人源肠道菌群在中医药防治 糖脂代谢病中的关键技术和挑战

吴佳铭<sup>1,2,3</sup> 高翔<sup>1,2,3</sup> 谢抗<sup>1,2,3</sup> 荣向路<sup>1,2,3</sup> 叶得伟<sup>1,2,3</sup> 郭姣<sup>1,2,3</sup>

(1 教育部糖脂代谢病粤港澳联合实验室,广州,510006; 2 广东省代谢病中西医结合研究中心,广州,510006;  
3 广东药科大学中医药研究院,广州,510006)

**摘要** 糖脂代谢病是影响和危害全球公共健康的一类重大疾病。近年来,越来越多的证据指向糖脂代谢病和肠道菌群结构和功能改变密切相关。但是,临床研究很难在人群进行干预试验揭示肠道菌群改变与疾病核心机理的因果关系。因此,动物模型移植人源肠道菌群成为揭示中医药等干预策略或临床特征与肠道菌群改变因果关系的关键研究策略之一。动物模型移植人源肠道菌群研究方法主要包括4个主要步骤:1)采集观察组和对照人群的粪便,进行移植菌液制备;2)广谱抗生素诱导的条件性无菌小鼠诱导;3)运用整体菌群或经宏基因组学分析鉴定出的特异性菌属,移植到条件性无菌小鼠后,进行代谢性疾病动物模型诱导;4)比较分别接受干预组和对照组人源肠道菌群移植小鼠的糖脂代谢表型。作为肠道菌群研究领域的前沿方法之一,动物模型移植人源肠道菌群为中医药防治糖脂代谢病提供了新思路 and 线索。

**关键词** 粪便菌群移植;糖脂代谢病;肠道菌群;中医药药效学;无菌小鼠

## Key Technology and Challenges in The Transplantation of Human Fecal Microflora into Animal Models for the Investigation of Therapeutic Effect of Chinese Medicine on Glucolipid Metabolic Disorders

Wu Jiaming<sup>1,2,3</sup>, Gao Xiang<sup>1,2,3</sup>, Xie Kang<sup>1,2,3</sup>, Rong Xianglu<sup>1,2,3</sup>, Ye Dewei<sup>1,2,3</sup>, Guo Jiao<sup>1,2,3</sup>

(1 *Joint Laboratory between Guangdong and Hong Kong on Metabolic Diseases, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China*; 2 *Guangdong Metabolic Disease Research Center of Integrated Chinese and Western Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China*; 3 *Institute of Traditional Chinese medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China*)

**Abstract** Glucolipid metabolic Disease (GLMD) is one of leading chronic diseases results in serious problems in public health worldwide. A growing body of evidence strongly indicate the close association between the pathogenesis of GLMD and the altered composition and function of intestinal microbiota. However, it is difficult to dissect the causative relationship between GLMD and intestinal microbiota in humans via clinical study. Therefore, the transplantation of human donor feces microbiota to animal models has been recognized as one of key approaches to reveal the cause-effect relationship between intervention therapies of Chinese Medicine or clinical characteristics and altered intestinal microbiota. This approach includes four major steps. Firstly, the intestinal microbiota should be isolated from human feces samples to prepare feces microbiota solution. Secondly, conditional germ-free mice will be induced by oral gavage of broad-spectrum antibiotic. Thirdly, conditional sterile mice was transplanted into specific bacterial species identified by whole flora or by metagenomic analysis, then was induced by animal models of metabolic diseases. Fourthly, the glucose and lipid metabolism phenotypes of the transplanted human intestinal flora were compared between the intervention group and the control group. As one of the frontier methods in the research of intestinal flora, the transplantation of human fecal microflora to animal models is of significant importance to the exploration of the mechanism underlying the therapeutic effect of Chinese medicine on GLMD.

**Key Words** Fecal microflora transplantation; Metabolic diseases; Intestinal flora; Pharmacodynamics of traditional Chinese medicine; Germ-free mice

中图分类号:R2-031;R825.8 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2019.01.007

人类肠道中含有数万亿的细菌,统称为肠道菌群。肠道中的微生物被认为是宿主生理中起关键作

用的重要器官。人类肠道中微生物群的多样性和物种的丰富性在出生2到4年后迅速增加,成年后则

基金项目:国家自然科学基金重点项目(81530102,81830113);广东省省级科技计划项目(2017B050504005);广东省科技厅实验室建设项目(2017B030314064);广东省科技厅国际合作基地建设项目(2016B050501003)

作者简介:吴佳铭(1993.12—),男,硕士研究生在读,研究方向:中西医结合防治糖脂代谢病,E-mail:178897942@qq.com

通信作者:郭姣(1961.11—),女,博士,教授,主任医师,研究方向:中西医结合防治糖脂代谢病,E-mail:guoj@gdpu.edu.cn

保持相对稳定<sup>[1]</sup>。一个稳定的肠道群落可以抵抗病原菌的定植,当肠道菌群受到干扰时,细菌多样性减少以及耐定植性降低,可使数量较少的致病菌增多并引起疾病,例如使用抗生素后艰难梭菌的感染(CDI)。

脂质代谢病是影响和危害全球公共健康的一类重大疾病。近年来,越来越多的证据指向脂质代谢病和肠道菌群结构和功能改变密切相关。但是,临床研究很难在人群进行干预试验揭示肠道菌群改变与疾病核心机理的因果关系。因此,动物模型移植人源肠道菌群成为揭示中医药等干预策略或临床特征与肠道菌群改变因果关系的关键研究策略之一。

## 1 肠道菌群移植(FMT)的发展历史

为了恢复肠道菌群的平衡,医生将健康人群粪便中的功能菌群转移到患者的肠道内,即粪便菌群移植技术(Fecal Microbiota Transplantation, FMT),也被称为粪便细菌疗法、粪便输液、粪便移植或粪便灌肠等。FMT在治疗多种疾病方面有着悠久的历史。公元300~400年间,东晋时期医家葛洪在《肘后备急方》中记载运用FMT治疗食物中毒、发热、腹泻并濒临死亡的患者,述“绞粪汁,饮数合至一二升,谓之黄龙汤,陈久者佳”,还记载了“驴矢,绞取汁五六合,及热顿服,立定”,可见有奇效<sup>[2]</sup>。《肘后备急方》是中国第一本急症医学书籍,也是世界上最早记录青蒿治疗疟疾的文献。采用人的粪便进行多种消化道急重症的治疗,在明朝更是几乎达到极致。16世纪,李时珍所著的《本草纲目》记载用人粪治病的疗方多达20种,记载了将各种粪便衍生产品,用于胃肠道和全身症状疾病,如严重腹泻、发热、呕吐和便秘等<sup>[2]</sup>。中医学一直是现代医学的宝库,中国古代用粪便治病的方法,看似离谱,但在今天终于找到了对应的科学解释。尽管中医对FMT治疗疾病的应用历史悠久,但是FMT与病证关系的机理需要更深入的探究。

## 2 FMT的应用现状

近年来,越来越多的研究发现肠道菌群与多种疾病相关,例如:梭状芽胞杆菌感染(CDI)、炎症性肠病(IBD)和代谢性疾病(如肥胖、2型糖尿病和非酒精性脂肪性肝炎)等。目前,已经证明FMT在CDI治疗中的效果优于抗生素<sup>[3]</sup>。此外,FMT在治疗多种代谢性疾病中也具有巨大的潜力。

2.1 FMT和肥胖 无菌(Germ-free)小鼠的出现和测序方法的技术进步,促使微生物在体重管理和葡萄糖、脂质代谢的因果关系研究中取得重大进展。

Backhed等人<sup>[4]</sup>将肥胖和糖尿病模型小鼠的粪便秘植到Germ-free健康小鼠后,发现即使减少了进食量,Germ-free(C56BL/6J)小鼠的体重和胰岛素抵抗仍然成升高趋势。另外,将ob/ob肥胖小鼠的菌群移植到Germ-free小鼠后,发现普通饲料喂养的Germ-free小鼠也会出现肥胖表型<sup>[5]</sup>。2013年,Ridaura等人<sup>[6]</sup>首次将人类粪便秘植到Germ-free的C57BL/6J小鼠体内,发现移植了肥胖人群粪便材料后的小鼠体重出现升高。

2.2 FMT和糖尿病 到目前为止,只有一个随机对照临床试验研究了FMT对胰岛素抵抗的影响<sup>[7]</sup>。研究人员发现9例胰岛素抵抗的糖尿病患者经过6周的FMT治疗,肠道微生物多样性增加、短链脂肪酸含量增加并且胰岛素敏感性改善。虽然FMT对胰岛素敏感性的影响是显著的,但因为它是一个侵入性的过程,所以不太可能应用于未来的治疗。此外,受试者即使有大量肠道菌群是由移植而来,但肠道菌群的组成分析结果证明受试者的肠道菌群还可以恢复到最初状态<sup>[8]</sup>。虽然目前只有一个RCT试验,但是FMT对未来糖尿病的治疗仍然提供了新的思路和线索<sup>[9]</sup>。

2.3 FMT和非酒精性脂肪肝/非酒精性脂肪肝炎 非酒精性脂肪肝病(Nonalcoholic Fatty Liver Disease, NAFLD)和非酒精性脂肪肝炎(Non-alcoholic Steatohepatitis, NASH)易发生在过量脂肪堆积在肝脏时,其中大部分患者都伴随有肥胖和胰岛素抵抗。全球的肥胖症流行引发了NAFLD和NASH危机,但是缺乏有效的治疗策略<sup>[10]</sup>。有研究发现同样采用高脂饮食诱导NAFLD小鼠模型和未成模小鼠,将模型小鼠的肠道菌群移植到Germ-free小鼠体内,可以对Germ-free小鼠产生类似HFD的影响,这提示肠道菌群可能在NAFLD的发病机制中发挥重要作用<sup>[11]</sup>。有研究结果表明NAFLD/NASH与肠道微生物群的变化,包括肠道通透性增加,乙醇产量改变,胆碱代谢障碍,以及胆汁酸信号障碍等相关<sup>[12]</sup>。

2.4 FMT治疗有关的临床试验 最近,Clinical Trials.gov公布了几项正在进行的用于代谢性疾病治疗的FMT临床测试试验。1)马萨诸塞州综合医院招募健康的偏瘦人群作为供体,将其粪便以胶囊的给药方式对肥胖人群进行FMT,以研究对体重和胰岛素敏感性的影响(Clinical Trials.gov ID NCT02530385)。2)来自中国南京医科大学的研究人员正在评估一项处于第3阶段试验的结果,旨在通过粪便菌群移植重建2型糖尿病患者的肠道菌群

的功能(Clinical Trials. gov ID NCT01790711)。3)加拿大一项随机对照试验研究将来自健康志愿者的粪便细菌移植到患有代谢综合征和 NAFLD 的患者中,以验证 FMT 是否可以改变胰岛素抗性并减少肝内脂肪堆积(Clinical Trials. gov ID NCT02496390)。这些临床试验表明 FMT 已经成为治疗代谢性疾病的重点和热点技术之一。

### 3 动物模型移植人源肠道菌群的应用

3.1 研究策略 在临床试验中,研究微生物群在各种疾病状态下的作用机制是非常困难的,所以多以小鼠为主要研究对象建立人类微生物相关(HMA)动物模型,用于研究人类不同疾病状态和微生物宿主之间的关系<sup>[13]</sup>。目前,解析与疾病表型相关的肠道菌群改变与疾病核心病理机制因果关系的关键研究策略,分整体菌群移植和经宏基因组学分析鉴定出的特异性菌属(Strain)移植2种方式。第1种方式直接将粪便样品制备成菌液或胶囊,然后通过灌胃或灌肠的给药方式,将供体的整体菌群移植到 Germ-free 小鼠体内。第2种方式是将人源粪便样品进行宏基因组学测序,鉴定出疾病或证候相关的特异性菌属,然后将纯化的特异性菌属通过灌胃的给药方式注入 Germ-free 小鼠体内,最后通过表型鉴定建立肠道菌群和疾病证候的因果关系。

3.2 相关实验设计 依据上述2种研究策略,FMT是揭示与特定药物药效学与肠道菌群改变相关性因果关联的必需实验设计。见图1。首先,通过临床招募志愿者的方式收集粪便样品并制备,然后采用宏基因组测序的方式鉴定出与疾病或证候相关的特异性菌属。在测序的同时,对入组人群依据证候或疾病诊断标准进行分组,并收集相关基本信息、生化指标和检查结果。对样品进行菌液或胶囊制备后,挑选不同背景的 SPF 级小鼠,进行无菌化处理得到 Germ-free 小鼠,随后建立疾病或中医证候模型。根据测序结果对 Germ-free 模型小鼠经口给予菌液或特异性菌属,监测 Germ-free 小鼠不同组别的代谢表型。最后整合临床信息、FMT 动物表型及宏基因组测序结果,进一步阐释肠道菌群与代谢性疾病的因果关系。

### 3.3 关键技术

3.3.1 粪便样品供体的筛选 FMT 的研究之所以具有挑战性,部分原因在于粪便的生物学复杂性<sup>[14]</sup>以及它在人与人之间的广泛差异<sup>[15]</sup>。为了更好地完成 FMT,我们提出了3项建议:1)研究人员应该利用适应性试验来克服供体粪便异质性的挑战,寻找

差异性最大的粪便,尽可能的给观察组提供最佳治疗。2)尽可能齐全的收集供体人群的临床信息,使研究人员能够更好地评估粪便的异质性。例如,供体的年龄、性别、种族、饮食、病史等信息。3)研究人员应当尽量使用当地或全国的粪便样品库,标准化的供体筛选、粪便收集和处理流程有助于提高研究结果的可比性和可重复性。

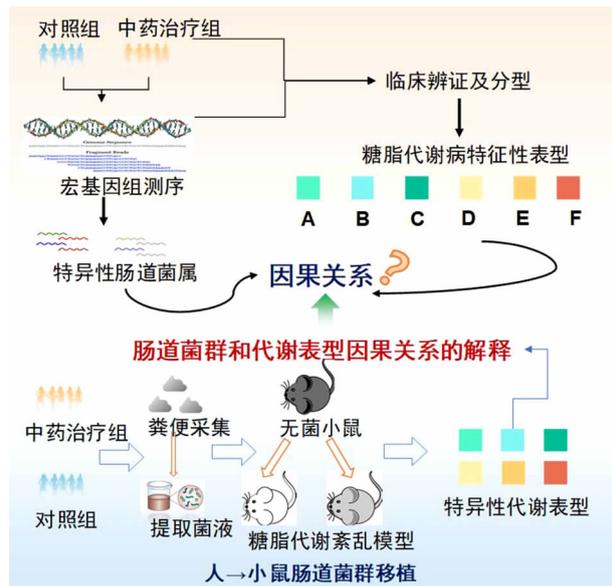


图1 动物模型移植人源肠道菌群研究策略在疾病机理和药物作用机制研究中的基本原理

3.3.2 菌液的处理 传统的 FMT 疗法使用的是经过医学筛选的健康个体的新鲜粪便,但新鲜的粪便不会增加疗效,还有感染受体的风险。另外,有研究表明新鲜、冷冻或冻干的 FMT 产品在治疗反复发作的 CDI 时疗效是相当的<sup>[16-18]</sup>。因此,使用冷冻和冻干产品不仅可以储存样本,还能增加使用的灵活性。Nathaniel D 等人<sup>[19]</sup>发现,相对于循环冻融和供体排便与移植制剂之间的延迟时间影响,氧气暴露对粪便细菌群落减少的风险来说会更高。因此,我们建议最好是在厌氧舱中进行样品处理,以保护厌氧细菌。新鲜粪便通常应在排便后 6 h 内处理完<sup>[20]</sup>,在粪便未处理之前尽可能保存在无氧环境中,新鲜粪便保存在 4 °C 下 8 h 就会减少微生物 10% 的多样性<sup>[21]</sup>。

粪便样品处理过程分为混悬、离心、过滤。在临床应用中多使用无菌盐水(0.9%)来稀释粪便材料,溶剂体积为 3~5 倍<sup>[22-23]</sup>。然后,使用手工或专用搅拌机进行均质化,过滤和离心处理,以去除较大的颗粒,如未消化的食物。悬浮液倒入无菌容器中,密封保存,以待使用。此外,甘油可保护微生物细胞免受冻害,因此当制备冷冻样品时,冷冻前应加入甘油至

终浓度为 10%, 也有研究使用乙醇, 但对乙醇的使用仍有争议。有研究报道乙醇除了能杀死病原体外, 还能严重改变共生菌群的组成, 可能会消除噬菌体、真菌和非孢子细菌等关键元素<sup>[24]</sup>。最后, 冷冻混悬液建议存储在  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  环境中<sup>[18]</sup>。

此外我们还可以使用自动机械化处理, 比如南京医科大学附属第二医院采用基于 GenFMTer 的净化系统作为处理粪便<sup>[25-26]</sup> 的自动方法, 实验室流程的标准化可以缩短处理时间, 并避免技术人员接触粪便物质。基于冷冻粪便的 FMT 方法对于粪便库的开发是必不可少的, 并且是 FMT 过程标准化并允许按需获得粪便的最佳方式。统一、标准化的粪便处理过程, 对肠道菌群研究和 FMT 的使用至关重要, 可以提高 FMT 的治疗效果和实验的可重复性。

**3.3.3 FMT 的过程及小鼠管理** 在小鼠实验中, 对小鼠进行 FMT 都采用灌胃的方式, 然而每个研究灌胃的周期和频率并不相同, 需根据具体实验进行确认。微生物群的组成、多样性和代谢活动受到多种环境因素的严重影响, 包括饮食、水、光照、温度、湿度、铺垫材料、笼养条件、笼具更换频率等, 应将这些实验参数进行详细的记录并且应当严格控制这些环境因素, 以确保所有实验小鼠在实验前和实验期间都处于相同的条件下。

**3.4 移植成功的评价及标准** FMT 被认为是确认和证明肠道微生物研究中因果关系的黄金标准<sup>[27-31]</sup>。然而, 这些人源化模型中的宿主和微生物关系不一定可以反映人类中的真实关系, 因为肠道菌群被移植到不同物种的宿主中。FMT 是否移植成功, 尚无明确的评价标准和体系。总的来说, 目前的评价标准是: 通过对 FMT 后小鼠和人源供体的肠道菌群进行基因测序分析, 查看菌属的丰度和物种是否具有相似性, 鉴定 FMT 受体小鼠是否出现了与人源供体相似的特异性表型。为使 FMT 能更广泛地应用于中医药防治糖脂代谢病, 可能需要一个更加精准且合理的评价标准。

### 3.5 FMT 后代代谢型数据解释中的常见问题

**3.5.1 移植后未出现表型转移** 很多研究人员发现 FMT 实验在移植后未出现表型。例如, Kristine H. Allin 等人<sup>[32]</sup> 在实验中发现无法将糖尿病前期表型通过 FMT 转移给小鼠, 这可能有多种解释。1) 有些疾病的肠道微生物群的变化太过微妙, 例如肥胖手术和二甲双胍引起的改变<sup>[33-34]</sup>; 2) 关键菌群的移植程度可能太弱<sup>[23, 35]</sup>; 3) 由于小鼠和人类饮食差异、免疫应答的宿主特异性和本地微生物群的竞争

等方面存在着相当大的差异, 导致表型相关的特异性菌群无法定植<sup>[36]</sup>。

**3.5.2 影响 FMT 代谢表型因素较多** FMT 的结果容易被各种因素影响和干扰。1) 环境因素。小鼠肠道基因图谱显示环境因素对肠道菌群的影响比小鼠品系、饲料或性别更为明显。<sup>[37]</sup> 此外, 小鼠的粪食性会使同笼小鼠肠道菌群出现逐渐均匀化<sup>[38-39]</sup>。来自母体阴道、粪便和皮肤微生物群的微生物也会影响后代肠道菌群的组成<sup>[40]</sup>。2) 饮食因素。MARIE 等人通过饮食管理改变小鼠或人体内的肠道菌群, 进而改变代谢表型<sup>[13]</sup>, 这说明饮食是决定肠道菌群组成的重要因素。Chenhong Zhang 等人<sup>[41]</sup> 发现, 肠道菌群的组成与宿主的长期饮食模式和健康表型密切相关, 这提示我们在评价肠道菌群组成时需要控制饮食变化。3) 抗生素的影响。抗生素诱导 Germ-free 小鼠时, 会导致 Germ-free 小鼠出现耐药菌的感染, 如艰难梭菌<sup>[42-43]</sup>, 还会导致免疫力持久下降等不良后果<sup>[44-45]</sup>。一些研究表明, 广谱抗生素预处理不能促进外源微生物群的建立, 甚至可能对外源的微生物群落产生有害影响<sup>[46]</sup>。研究报道采用包括两性霉素 B、万古霉素, 新霉素, 甲硝唑, 氨苄西林<sup>[47]</sup> 在内的更广泛的抗生素方案可明显改善移植效果。

## 4 FMT 在中医药研究中的应用现状及展望

口服属于中药经典的给药方式之一, 需要通过消化道对人体产生作用。现代研究发现不少中药单药和复方通过调节肠道菌群对一些疾病产生疗效。在中药单药与肠道菌群的研究中, 有研究报道黄连素灌胃可以显著抑制非酒精性脂肪肝 Babl/c 模型小鼠中的乳酸菌和双歧杆菌, 并且可以改善肝内脂肪性炎症反应<sup>[48]</sup>。邓志梅等人应用黄连素联合二甲双胍对比单纯胰岛素治疗 100 例 2 型糖尿病患者时, 发现联合用药组的双歧杆菌、拟杆菌和乳杆菌水平出现显著降低<sup>[49]</sup>。在复方应用方面, 有研究人员针对 450 名患有 2 型糖尿病和高脂血症的患者, 采用专门设计的缓解高脂血症和 2 型糖尿病的复方 (AMC) 作为观察组并以二甲双胍作为对照组进行治疗, 结果显示 AMC 和二甲双胍均显著改变了肠道菌群结构并且改善了高血糖和高脂血症的指标, 但是 AMC 改善胰岛素抵抗 (HOMA-IR) 和血浆三酰甘油的程度较对照组而言更为明显<sup>[50]</sup>。另外, 有研究结果显示四君子汤、理中汤和补中益气汤灌胃可以调节脾气虚证大鼠模型的肠道菌群, 并且改善脾气虚的症状<sup>[51]</sup>。尽管很多研究发现中医药单体和复方改善症状与调节肠道菌群之间的相关性, 但是对

中药通过肠道菌群影响脏腑和治疗疾病的功能性研究仍然需要进一步的探索和阐释。

## 5 讨论

FMT在临床应用上历史悠久。近年来,研究者通过动物模型移植人源肠道菌群发现肠道菌群与多种疾病具有紧密联系。运用FMT不仅可以帮助确认糖脂代谢病的表型与肠道菌群的因果关系,还能用于糖脂代谢病的治疗。此外,通过FMT还可以挖掘中医药治疗糖脂代谢病的新机制和新靶点,为研制新型药物提供新的线索和思路。因此,动物模型移植人源肠道菌群对于系统、深入揭示中医药防治糖脂代谢病的疗效和分子机制具有重要科学意义。

## 参考文献

- [1] Faith JJ, Guruge JL, Charbonneau M, et al. The long-term stability of the human gut microbiota[J]. *Science*, 2013, 341(6141):1237439.
- [2] Zhang FM, Luo WS, Shi Y, et al. Should we standardize the 1,700-year-old fecal microbiota transplantation? [J]. *Am J Gastroenterol*, 2012, 107(11):1755-1755.
- [3] Britton RA, Young VB. Role of the intestinal microbiota in resistance to colonization by *clostridium difficile*[J]. *Gastroenterology*, 2014, 146(6):1547-1553.
- [4] Backhed F, Ding H, Wang T, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage[J]. *P Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(44):15718-15723.
- [5] Backhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, et al. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice[J]. *P Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(3):979-984.
- [6] Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice[J]. *Science*, 2013, 341(6150):1079-U1049.
- [7] Vrieze A, Out C, Fuentes S, et al. Impact of oral vancomycin on gut microbiota, bile acid metabolism, and insulin sensitivity[J]. *J Hepatol*, 2014, 60(4):824-831.
- [8] Li SS, Zhu A, Benes V, et al. Durable coexistence of donor and recipient strains after fecal microbiota transplantation[J]. *Science*, 2016, 352(6285):586-589.
- [9] Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, et al. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome[J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(4):913-916 e917.
- [10] Rinella ME. Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review [J]. *JAMA*, 2015, 313(22):2263-2273.
- [11] Le Roy T, Llopis M, Lepage P, et al. Intestinal microbiota determines development of non-alcoholic fatty liver disease in mice[J]. *Gut*, 2013, 62(12):1787-1794.
- [12] Zhou D, Pan Q, Shen F, et al. Total fecal microbiota transplantation alleviates high-fat diet-induced steatohepatitis in mice via beneficial regulation of gut microbiota[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):1529.
- [13] Hildebrandt MA, Hoffmann C, Sherrill-Mix SA, et al. High-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity[J]. *Gastroenterology*, 2009, 137(5):1716-1724 e1711-1712.
- [14] Ott SJ, Waetzig GH, Rehman A, et al. Efficacy of sterile fecal filtrate transfer for treating patients with *clostridium difficile* infection[J]. *Gastroenterology*, 2017, 152(4):799-811 e797.
- [15] Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, et al. The human microbiome project[J]. *Nature*, 2007, 449(7164):804-810.
- [16] Jiang ZD, Ajami NJ, Petrosino JF, et al. Randomised clinical trial: faecal microbiota transplantation for recurrent *clostridium difficile* infection--fresh, or frozen, or lyophilised microbiota from a small pool of healthy donors delivered by colonoscopy[J]. *Aliment Pharm Ther*, 2017, 45(7):899-908.
- [17] Satokari R, Mattila E, Kainulainen V, et al. Simple faecal preparation and efficacy of frozen inoculum in faecal microbiota transplantation for recurrent *clostridium difficile* infection--an observational cohort study[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2015, 41(1):46-53.
- [18] Lee CH, Steiner T, Petrof EO, et al. Frozen vs fresh fecal microbiota transplantation and clinical resolution of diarrhea in patients with recurrent *clostridium difficile* infection; a randomized clinical trial[J]. *JAMA*, 2016, 315(2):142-149.
- [19] Chu ND, Smith MB, Perrotta AR, et al. Profiling living bacteria informs preparation of fecal microbiota transplantations[J]. *PLoS One*, 2017, 12(1):e0170922.
- [20] Cammarota G, Ianiro G, Tilg H, et al. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice[J]. *Gut*, 2017, 66(4):569-580.
- [21] Ott SJ, Musfeldt M, Timmis KN, et al. In vitro alterations of intestinal bacterial microbiota in fecal samples during storage[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2004, 50(4):237-245.
- [22] Rossen NG, Fuentes S, van der Spek MJ, et al. Findings from a randomized controlled trial of fecal transplantation for patients with ulcerative colitis[J]. *Gastroenterology*, 2015, 149(1):110-118.
- [23] Zhang L, Bahl MI, Roager HM, et al. Environmental spread of microbes impacts the development of metabolic phenotypes in mice transplanted with microbial communities from humans[J]. *ISME J*, 2017, 11(3):676-690.
- [24] Khanna S, Pardi DS, Kelly CR, et al. A novel microbiome therapeutic increases gut microbial diversity and prevents recurrent *clostridium difficile* infection[J]. *J Infect Dis*, 2016, 214(2):173-181.
- [25] He Z, Cui BT, Zhang T, et al. Fecal microbiota transplantation cured epilepsy in a case with Crohn's disease: The first report[J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(19):3565-3568.
- [26] He Z, Li P, Zhu J, et al. Multiple fresh fecal microbiota transplants induces and maintains clinical remission in Crohn's disease complicated with inflammatory mass[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):4753.
- [27] Turnbaugh PJ, Ridaura VK, Faith JJ, et al. The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice[J]. *Sci Transl Med*, 2009, 1(6):6ra14.
- [28] Smith MI, Yatsunenko T, Manary MJ, et al. Gut microbiomes of Malawian twin pairs discordant for kwashiorkor[J]. *Science*, 2013, 339(6119):548-554.
- [29] McNulty NP, Yatsunenko T, Hsiao A, et al. The impact of a consorti-

- um of fermented milk strains on the gut microbiome of gnotobiotic mice and monozygotic twins [J]. *Sci Transl Med*, 2011, 3 (106): 106ra106.
- [30] Goodman AL, Kallstrom G, Faith JJ, et al. Extensive personal human gut microbiota culture collections characterized and manipulated in gnotobiotic mice [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108 (15): 6252-6257.
- [31] Faith JJ, McNulty NP, Rey FE, et al. Predicting a human gut microbiota's response to diet in gnotobiotic mice [J]. *Science*, 2011, 333 (6038): 101-104.
- [32] Allin KH, Tremaroli V, Caesar R, et al. Aberrant intestinal microbiota in individuals with prediabetes [J]. *Diabetologia*, 2018, 61 (4): 810-820.
- [33] Wu H, Esteve E, Tremaroli V, et al. Metformin alters the gut microbiome of individuals with treatment-naive type 2 diabetes, contributing to the therapeutic effects of the drug [J]. *Nat Med*, 2017, 23 (7): 850-858.
- [34] Tremaroli V, Karlsson F, Werling M, et al. Roux-en-y gastric bypass and vertical banded gastroplasty induce long-term changes on the human gut microbiome contributing to fat mass regulation [J]. *Cell Metab*, 2015, 22 (2): 228-238.
- [35] Wahlstrom A, Kovatcheva-Datchary P, Stahlman M, et al. Induction of farnesoid X receptor signaling in germ-free mice colonized with a human microbiota [J]. *J Lipid Res*, 2017, 58 (2): 412-419.
- [36] Chung H, Pamp SJ, Hill JA, et al. Gut immune maturation depends on colonization with a host-specific microbiota [J]. *Cell*, 2012, 149 (7): 1578-1593.
- [37] Xiao L, Feng Q, Liang S, et al. A catalog of the mouse gut metagenome [J]. *Nat Biotechnol*, 2015, 33 (10): 1103-1108.
- [38] Elinav E, Strowig T, Kau AL, et al. NLRP6 inflammasome regulates colonic microbial ecology and risk for colitis [J]. *Cell*, 2011, 145 (5): 745-757.
- [39] Zenewicz LA, Yin X, Wang G, et al. IL-22 deficiency alters colonic microbiota to be transmissible and colitogenic [J]. *J Immunol*, 2013, 190 (10): 5306-5312.
- [40] Benson AK, Kelly SA, Legge R, et al. Individuality in gut microbiota composition is a complex polygenic trait shaped by multiple environmental and host genetic factors [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107 (44): 18933-18938.
- [41] Zhang C, Zhang M, Wang S, et al. Interactions between gut microbiota, host genetics and diet relevant to development of metabolic syndromes in mice [J]. *ISME J*, 2010, 4 (2): 232-241.
- [42] Abt MC, Pamer EG. Commensal bacteria mediated defenses against pathogens [J]. *Curr Opin Immunol*, 2014, 29 (8): 16-22.
- [43] Khoruts A, Sadowsky MJ. Understanding the mechanisms of faecal microbiota transplantation [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2016, 13 (9): 508-516.
- [44] Olszak T, An D, Zeissig S, et al. Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function [J]. *Science*, 2012, 336 (6080): 489-493.
- [45] Cox LM, Yamanishi S, Sohn J, et al. Altering the intestinal microbiota during a critical developmental window has lasting metabolic consequences [J]. *Cell*, 2014, 158 (4): 705-721.
- [46] Manichanh C, Reeder J, Gibert P, et al. Reshaping the gut microbiome with bacterial transplantation and antibiotic intake [J]. *Genome Res*, 2010, 20 (10): 1411-1419.
- [47] Hintze KJ, Cox JE, Rompato G, et al. Broad scope method for creating humanized animal models for animal health and disease research through antibiotic treatment and human fecal transfer [J]. *Gut Microbes*, 2014, 5 (2): 183-191.
- [48] 曹毅, 徐雷鸣, 潘勤, 等. 黄连素灌胃对非酒精性脂肪性肝炎小鼠肠道菌群的影响 [J]. *实用肝脏病杂志*, 2013, 16 (2): 137-140.
- [49] 邓志梅, 王丽冰, 关冰, 等. 2 型糖尿病治疗中黄连素益生菌调节肠道菌群联合二甲双胍治疗优于胰岛素的临床研究 [J]. *糖尿病新世界*, 2017, 20 (6): 72-73.
- [50] Tong X, Xu J, Lian F, et al. Structural alteration of gut microbiota during the amelioration of human type 2 diabetes with hyperlipidemia by metformin and a traditional chinese herbal formula: a multicenter, randomized, open label clinical trial [J]. *mBio*, 2018, 9 (3): e02392-17.
- [51] 彭颖, 金晶, 杨静玉, 等. 3 种健脾补气方药对脾气虚证大鼠肠道菌群的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2008, 33 (21): 2530-2534.

(2018-12-10 收稿 责任编辑:徐颖)

(上接第 32 页)

- [16] AMATO M C, GIORDANO C. Clinical indications and proper use of Visceral Adiposity Index [J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2013, 23 (8): e31-e32.
- [17] STEPTO N K, CASSAR S, JOHAM A E, et al. Women with polycystic ovary syndrome have intrinsic insulin resistance on euglycaemic-hyperinsulaemic clamp [J]. *Hum Reprod*, 2013, 28 (3): 777-784.
- [18] BI X, LOO Y T, HENRY C J. Android fat as a determinant of metabolic syndrome: Sex differences [J]. *Nutrition*, 2018, 57: 127-132.
- [19] AMATO M C, GIORDANO C, PITTRONE M, et al. Cut-off points of the visceral adiposity index (VAI) identifying a visceral adipose dysfunction associated with cardiometabolic risk in a Caucasian Sicilian population [J]. *Lipids Health Dis*, 2011, 10: 183.

(2018-12-10 收稿 责任编辑:徐颖)