

DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20240593

• 海军卫生保健 •

基于 16S rRNA 高通量测序的驻岛人员肠道菌群分析

吴浩¹, 谢沛¹, 张葭¹, 黄文¹, 李兆申^{1,2}, 薛芊^{2*}, 鞠金涛^{3*}

1. 海军军医大学(第二军医大学)第一附属医院消化内科, 上海 200433

2. 海军军医大学(第二军医大学)第一附属医院临床研究中心, 上海 200433

3. 海军后勤保障部卫生局, 北京 100841

[摘要] **目的** 分析驻岛人员肠道菌群特征, 为维护驻岛人员的肠道微生态平衡及提供精准的医疗保障奠定基础。**方法** 采用随机抽样的方法纳入驻岛人员若干, 同时纳入沿海地区人员若干作为对照, 对人员粪便标本进行 16S rRNA 高通量测序。比较两组人员肠道菌群多样性及菌群组成差异。**结果** 肠道菌群 alpha 多样性分析显示驻岛人员肠道菌群丰度较沿海地区人员升高, beta 多样性分析提示驻岛人员肠道微生物群落构成与沿海地区人员相比差异有统计学意义 ($P=0.001$)。驻岛人员肠道内拟杆菌门丰度低于沿海地区人员 (30.8% vs 48.3%, $P<0.001$), 而肠道内变形菌门丰度高于沿海地区人员 (28.3% vs 10.2%, $P<0.001$)。经多重假设检验校正后发现, 驻岛人员肠道内拟杆菌属、罗斯氏菌属、另枝菌属、副拟杆菌属丰度显著下降, 普雷沃氏菌属、大肠埃希菌-志贺菌属、柠檬酸杆菌属、产粪甾醇真杆菌属丰度显著提升。**结论** 海岛特殊环境影响驻岛人员肠道菌群特征, 肠道微生态健康亟需精准保障。

[关键词] 驻岛人员; 海岛; 肠道菌群; 16S rRNA; 高通量测序

[引用本文] 吴浩, 谢沛, 张葭, 等. 基于 16S rRNA 高通量测序的驻岛人员肠道菌群分析[J]. 海军军医大学学报, 2025, 46(3): 400-405. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20240593.

Intestinal flora of personnel stationed on an island based on 16S rRNA high-throughput sequencing

WU Hao¹, XIE Pei¹, ZHANG Di¹, HUANG Wen¹, LI Zhaoshen^{1,2}, XUE Qian^{2*}, JU Jintao^{3*}

1. Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

2. Clinical Research Unit, The First Affiliated Hospital of Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

3. Health Bureau, Logistics Department of PLA Navy, Beijing 100841, China

[Abstract] **Objective** To analyze the characteristics of intestinal flora of personnel stationed on an island, so as to lay the foundation for maintaining the intestinal microecological balance of personnel stationed on island and provide accurate medical security. **Methods** Several subjects stationed on an island and several subjects from coastal areas were enrolled by random and sampling method, and their fecal samples were sequenced by 16S rRNA high-throughput sequencing. Diversity and composition of gut microbiota in 2 cohorts of personnel were compared. **Results** Alpha diversity analysis of intestinal flora showed that the abundance of intestinal flora in subjects stationed on the island was significantly higher than that of subjects from coastal areas. Beta diversity analysis indicated significant differences in the composition of intestinal microbial communities between the subjects stationed on the island and those from coastal areas ($P=0.001$). The abundance of the Bacteroidota in the intestinal tract of subjects stationed on the island was significantly lower than that of subjects from coastal areas (30.8% vs 48.3%, $P<0.001$), while the abundance of the Proteobacteria was significantly higher than that of subjects from coastal areas (28.3% vs 10.2%, $P<0.001$). After multiple hypothesis testing correction, it was found that the abundance of the *Bacteroides*, *Roseburia*, *Alistipes*, and *Parabacteroides* in the intestines of subjects stationed on the island decreased significantly, while the abundance of the *Prevotella*, *Escherichia-Shigella*, *Citrobacter*, and *Eubacterium_coprostanoligenes* increased significantly. **Conclusion** The special environment of islands affects the characteristics of intestinal flora of

[收稿日期] 2024-08-26

[接受日期] 2024-12-17

[作者简介] 吴浩, 博士, 主治医师. E-mail: 316637068@qq.com

*通信作者(Corresponding authors). Tel: 021-31161353, E-mail: 449021566@qq.com; E-mail: chhtmm@163.com

personnel, and the intestinal microecological health needs precise maintenance.

[**Key words**] personnel stationed on an island; islands; intestinal flora; 16S rRNA; high-throughput sequencing

[**Citation**] WU H, XIE P, ZHANG D, et al. Intestinal flora of personnel stationed on an island based on 16S rRNA high-throughput sequencing[J]. Acad J Naval Med Univ, 2025, 46(3): 400-405. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20240593.

海岛气候多雨、潮湿,气温较高且温差小,与内陆气候差异明显。远海小岛条件艰苦、淡水资源匮乏,物质供应依赖度高、生态脆弱^[1]。特殊的地理环境导致驻岛人员疾病谱与内陆地区存在差异,卫生服务需求更为迫切^[2-3]。肠道蕴含着人体内最大的微生态环境——肠道微生态,参与代谢、免疫等多种正常生理功能的运行,其中肠道微生物基因的数量是人体基因数量的100倍以上,被称为人体第二基因组^[4]。肠道菌群紊乱与消化道疾病、心血管疾病、精神心理障碍等多种疾病相关^[5-6]。同时,肠道菌群易受到地域、环境、饮食、生活习惯等多方面影响^[7]。目前尚不清楚海岛的特殊环境是否会影响人体肠道微生态的平衡。本研究旨在分析驻岛人员的肠道菌群特征,为维护驻岛人员的肠道微生态平衡及提供精准的医疗保障奠定基础。

1 资料和方法

1.1 研究对象 本研究采用随机抽样的方法选取驻岛人员若干名进行调查,同时以南部沿海地区人员若干名作为对照。以问卷调查方式采集人员的基本信息。本研究获得海军军医大学(第二军医大学)第一附属医院伦理委员会审批(CHEC2021-122)。

1.2 粪便标本收集 将带有DNA保存液的粪便采集管及粪便收集盒发放给被调查人员,被调查人员按取样要求采集完粪便后将采集管置于低温保存,标本收齐后统一运送回实验室进行清点,并保存至-80℃冰箱。

1.3 肠道菌群16S rRNA测序分析 采用MagPure Soil DNA LQ Kit试剂盒(上海迈跟生物科技有限公司)对粪便样本的基因组DNA进行提取,利用NanoDrop 2000紫外分光光度计和琼脂糖凝胶电泳检测DNA的浓度和纯度。以提取的

基因组DNA为模板,使用带Barcode的特异引物和TaKaRa *Ex Taq* 高保真酶进行肠道细菌16S rRNA基因的PCR扩增。采用通用引物343F(5'-TACGGRAGGCAGCAG-3')和798R(5'-AGG-GTATCTAATCCT-3')扩增16S rRNA基因的V3~V4区。利用QIIME 2软件进行肠道菌群alpha和beta多样性分析。通过线性判别分析效应大小(linear discriminant analysis effect size, LEfSe)分析差异显著的微生物,采用线性判别分析(linear discriminant analysis, LDA)对数据进行降维,并评估差异显著物种的影响力大小。

1.4 统计学处理 应用SPSS 22.0软件及R软件对数据进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,不符合正态分布的计量资料以中位数(下四分位数,上四分位数)表示。性别比较采用 χ^2 检验,年龄比较采用Wilcoxon秩和检验。肠道菌群alpha多样性比较采用独立样本 t 检验,beta多样性比较采用PERMANOVA检验,菌群丰度比较采用Wilcoxon秩和检验。采用Benjamini-Hochberg错误发现率(false discovery rate, FDR)方法对微生物群的差异丰度分析进行多重假设检验校正。检验水准(α)为0.05。

2 结果

2.1 一般资料 驻岛人员年龄中位数为27(24, 31)岁,沿海地区人员年龄中位数为25(23, 29)岁,两组的年龄、性别差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

2.2 肠道菌群测序质量评估 驻岛人员和沿海地区人员样本的稀释曲线末端趋向平坦,说明测序样本量及数据量合理(图1A);丰度等级曲线直观地反映出两组肠道菌群的丰度高且物种分布均匀(图1B)。结果表明本研究肠道菌群测序质量好,测序数据量充足,可以用于后续分析。

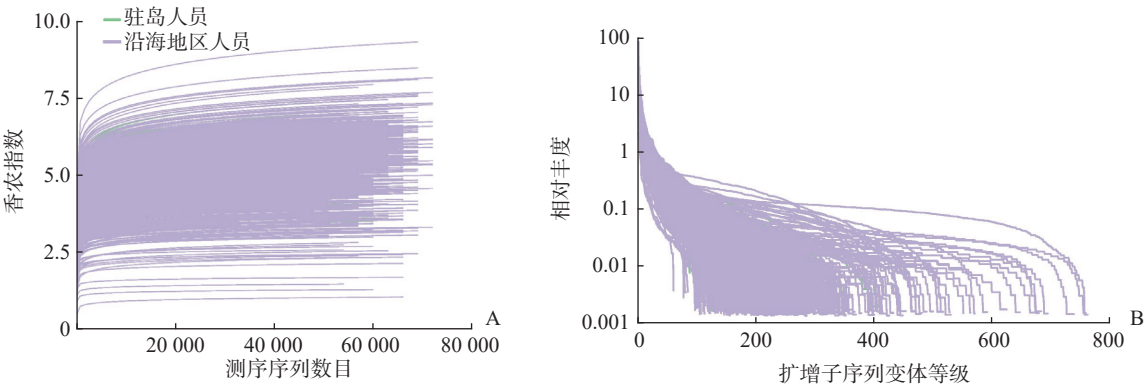


图 1 驻岛和沿海地区人员肠道菌群测序质量评估的稀释曲线 (A) 及丰度等级曲线 (B)

2.3 肠道菌群 alpha 多样性及 beta 多样性分析 驻岛人员肠道菌群 alpha 多样性分析中的 Chao1、基于丰度的覆盖估计值 (abundance-based coverage estimator, ACE)、香农指数及辛普森指数均高于沿海地区人员, 差异均有统计学意义 (均 $P<0.05$,

表 1), 提示驻岛人员肠道菌群丰度较沿海地区人员升高。肠道菌群 beta 多样性分析结果 (图 2) 显示, 驻岛人员肠道微生物群落构成与沿海地区人员相比差异有统计学意义 ($P=0.001$)。

表 1 驻岛人员和沿海地区人员肠道菌群 alpha 多样性分析

指数	驻岛人员	沿海地区人员	<i>t</i> 值	$\bar{x} \pm s$
				<i>P</i> 值
Chao1	216.46±50.50	207.49±73.70	2.44	0.015
ACE	215.15±49.81	206.46±73.39	2.40	0.017
香农指数	5.40±0.64	5.22±0.81	4.19	<0.001
辛普森指数	0.94±0.04	0.92±0.07	4.36	<0.001

ACE: 基于丰度的覆盖估计值。

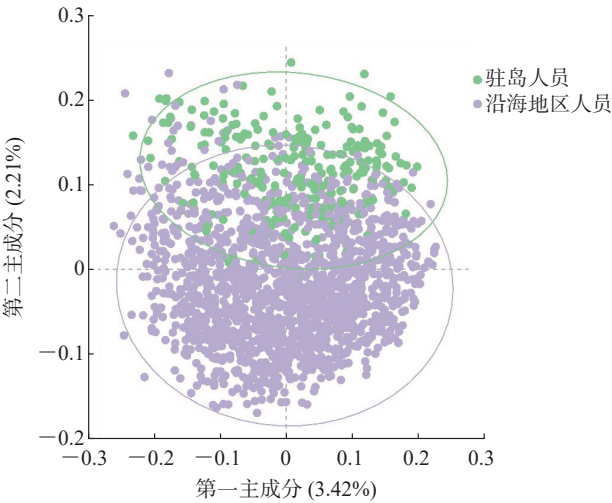


图 2 驻岛和沿海地区人员肠道菌群 beta 多样性分析

2.4 驻岛及沿海地区人员肠道菌群组成结构对比 在门水平上, 16S rRNA 高通量测序数据显示绝大部分的菌门分属以下 5 种: 拟杆菌门 (Bacteroidota)、厚壁菌门 (Firmicutes)、变形菌门 (Proteobacteria)、放线菌门 (Actinobacteriota) 及梭杆菌门 (Fusobacteriota), 其中厚壁菌门在驻

岛人员中丰度最高, 拟杆菌门在沿海地区人员中丰度最高 (图 3)。驻岛人员肠道内拟杆菌门丰度低于沿海地区人员 (30.8% vs 48.3%, $P<0.001$), 而肠道内变形菌门丰度高于沿海地区人员 (28.3% vs 10.2%, $P<0.001$)。

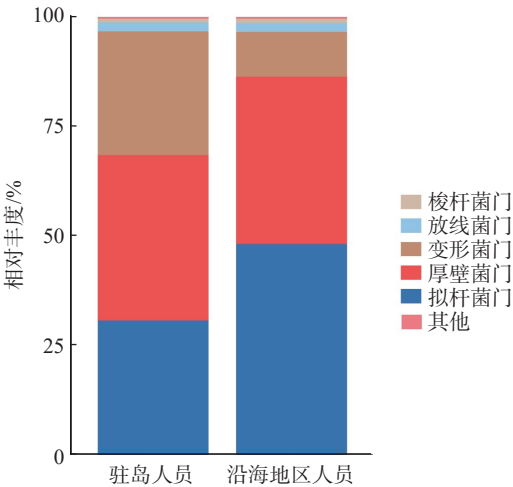


图 3 驻岛和沿海地区人员肠道菌群丰度门水平上排名前 5 位的菌群

在属水平上,驻岛和沿海地区人员肠道菌群丰度排名前10位的差异菌为拟杆菌属(*Bacteroides*)、普雷沃氏菌属(*Prevotella*)、栖粪杆菌属(*Faecalibacterium*)、大肠埃希菌-志贺菌(*Escherichia-Shigella*)、柠檬酸杆菌属(*Citrobacter*)、罗斯氏菌属(*Roseburia*)、产粪甾醇真杆菌(*Eubacterium_coprostanoligenes*)、经黏液真杆菌属(*Blautia*)、另枝菌属(*Alistipes*)

及副拟杆菌属(*Parabacteroides*)。除栖粪杆菌属和经黏液真杆菌属外,其余差异菌经多重假设检验校正后差异仍有统计学意义($FDR < 0.05$),其中驻岛人员肠道内拟杆菌属、罗斯氏菌属、另枝菌属、副拟杆菌属丰度显著下降,普雷沃氏菌属、大肠埃希菌-志贺菌、柠檬酸杆菌属、产粪甾醇真杆菌丰度显著提升。见图4。

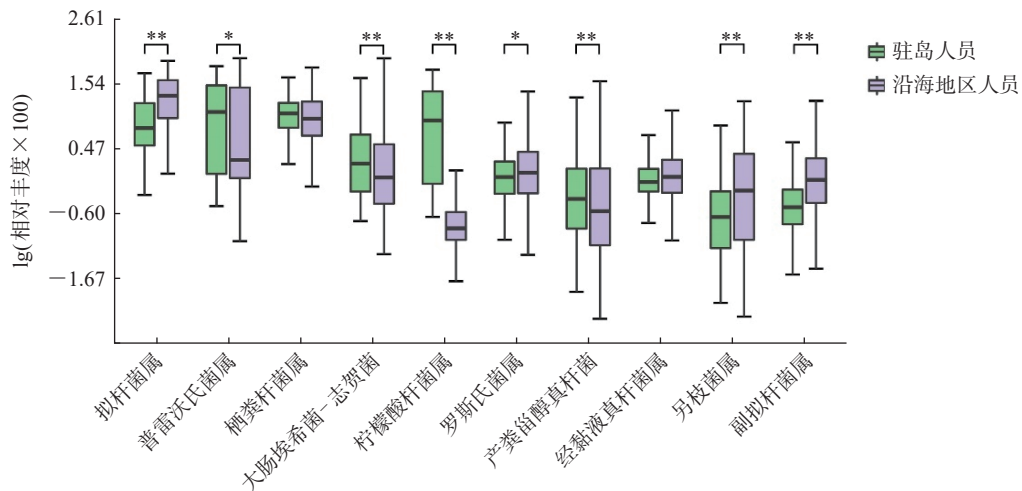


图4 驻岛人员和沿海地区人员肠道菌群丰度属水平上排名前10位的差异菌
**FDR<0.01, *FDR<0.05. FDR: 错误发现率.

2.5 肠道菌群 LEfSe 分析 当 LDA>4 时,驻岛人员肠道内丰度有显著差异的物种为柠檬酸杆菌属、

肠杆菌科、变形菌门等,而沿海地区人员有显著差异的肠道菌为拟杆菌属等(图5)。

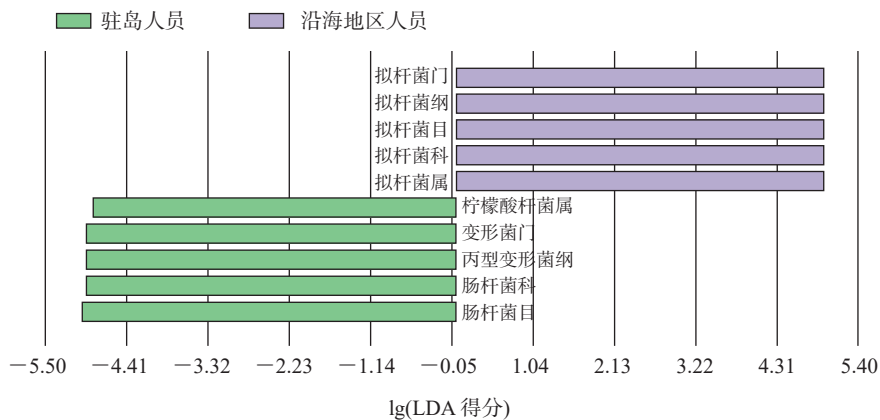


图5 驻岛和沿海地区人员肠道菌群 LEfSe 分析
LEfSe:线性判别分析效应大小;LDA:线性判别分析.

2.6 不同驻岛时长对肠道菌群的影响 将驻岛人员分为3组:驻岛时长<3个月、驻岛时长3~12个月、驻岛时长>12个月,分析不同驻岛时长对肠道菌群的影响。结果(图6)显示,3组间肠道菌群alpha多样性和beta多样性差异无统计学意义(均

$P > 0.05$)。经多重假设检验校正后组间门水平及属水平上菌群差异无统计学意义($FDR > 0.05$)。结果提示驻岛时间长短对人员肠道菌群无显著影响。

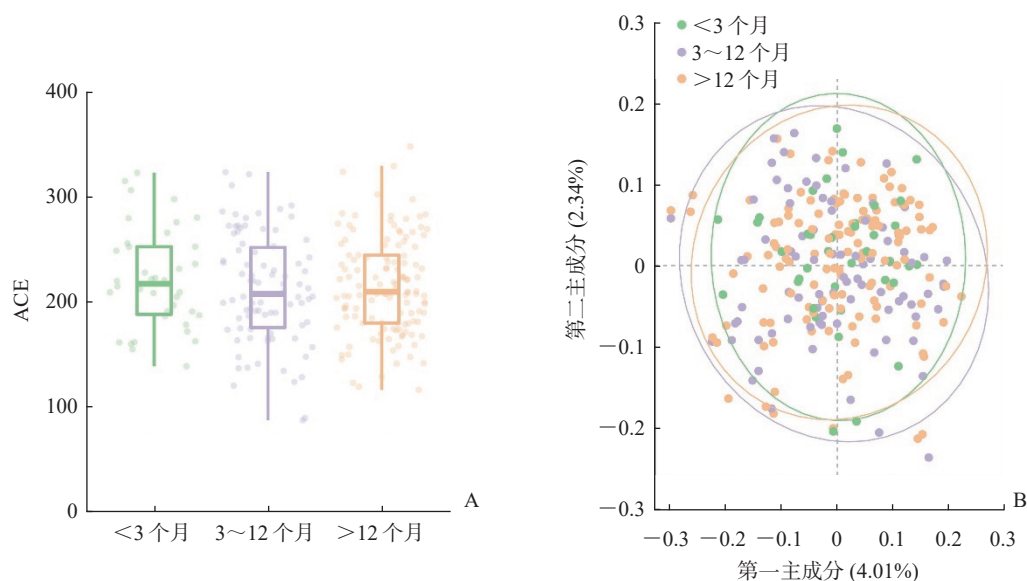


图6 不同驻岛时长的人员肠道菌群 **alpha** 多样性 (A) 及 **beta** 多样性 (B) 分析

ACE:基于丰度的覆盖估计值。

3 讨论

海岛建设有利于海上搜救、防灾减灾、气象观测、生态环境保护、航行安全等重要活动。远海小岛环境与内陆差异较大,生活补给相对受限,驻岛人员的健康维护面临挑战。肠道菌群具有维持人体正常生理功能的作用,肠道菌群紊乱与消化、循环、皮肤、精神心理等多方面的疾病相关^[8]。肠道菌群易受饮食、环境等多种因素影响,海岛特殊环境可能影响岛上人员肠道微生态健康^[9]。本研究通过对比驻岛人员与沿海地区人员肠道菌群特征,探究了海岛特殊环境对人员肠道菌群的影响,以期为主岛人员肠道微生态健康的精准保障奠定基础。

本研究发现驻岛人员肠道内拟杆菌门丰度较沿海地区人员减少。拟杆菌属可代谢多糖和低聚糖,为宿主和其他肠道微生物提供营养和维生素,在肠道内充当有益菌,而在身体其他部位作为机会致病菌^[10]。拟杆菌属在人体免疫系统的调节中起关键作用,其荚膜多糖 A 可帮助维持免疫系统的稳态及预防细菌和病毒感染^[11-12]。同时,拟杆菌分泌的代谢物亦有助于免疫系统的稳定,对维持肠道内稳态具有重要意义。其分泌的乙酸和丙酸都是有效的抗炎介质,可抑制中性粒细胞和巨噬细胞释放促炎细胞因子^[13]。此外拟杆菌属是维生素 K 的主要合成菌之一,它可以通过增加骨密度来预防或治疗骨质疏松症^[14]。

本研究发现驻岛人员肠道副拟杆菌属丰度下

降。副拟杆菌与宿主健康密切相关,可调节宿主黏膜免疫系统、减轻炎症,同时副拟杆菌具有较多的多糖利用位点,赋予副拟杆菌属广泛的碳水化合物利用能力,副拟杆菌还可分泌乙酸、丙酸等短链脂肪酸^[15]。副拟杆菌属与多种疾病相关,研究发现在肥胖、炎症性肠病、非酒精性脂肪性肝炎及代谢综合征患者的肠道内副拟杆菌属丰度显著下降^[16-18]。

柠檬酸杆菌属包含 11 个种,其中弗氏柠檬酸杆菌常被认为是一种条件致病菌,可引起免疫力低下人群患病^[19]。本研究结果显示驻岛人员肠道菌群中柠檬酸杆菌属丰度显著高于沿海地区人员,下一步需要通过宏基因组等检测方法明确柠檬酸杆菌属的哪一菌种存在显著差异。

生态环境对人体肠道菌群的影响复杂多样,是气候地理环境、饮食、生活工作方式、基因等多因素共同作用的结果^[20]。海岛气候地理环境特殊,高热、高湿、高盐、强紫外线等特点影响肠道菌群的构成。此外,饮食习惯在不同地域间存在差异,如我国北方地区人群较南方地区更喜面食,米饭、鱼类进食相对减少,可能导致了其肠道双歧杆菌丰度增高,而经黏液真杆菌丰度降低^[7]。海岛特殊环境下交通相对不便,饮食供应保障与沿海地区相比存在一定困难,进而造成两者饮食结构的差异,影响肠道菌群稳态。下一步应深入探究海岛饮食对肠道菌群的影响,进一步优化饮食供应保障模式。

综上所述,本研究采用 16S rRNA 高通量测序

方法探究了驻岛人员肠道菌群特征,提示海岛特殊环境塑造了驻岛人员独特的肠道菌群特点,为进一步通过益生菌和后生元等方式维护驻岛人员肠道微生态稳态、保障其身心健康提供了理论依据。

[参考文献]

- [1] 陈韶阳,肖利,刘娜,等.可持续发展视角下的南海岛礁评估分类[J].热带地理,2022,42(7):1039-1049. DOI: 10.13284/j.cnki.rddl.003511.
- [2] 李晓芸,刘平,杨颖,等.某岛礁驻岛官兵疾病谱调查分析[J].海军医学杂志,2019,40(3):218-220. DOI: 10.3969/j.issn.100970754.2019.03.008.
- [3] 刘威,薛晨,吕奕鹏,等.南海方向部分岛礁官兵卫生服务需求调查分析[J].第二军医大学学报,2016,37(11):1415-1417. DOI: 10.16781/j.0258-879x.2016.11.1415.
- LIU W, XUE C, LÜ Y P, et al. Investigation of healthcare demands of PLA soldiers in the islands of the South China Sea[J]. Acad J Sec Mil Med Univ, 2016, 37(11): 1415-1417. DOI: 10.16781/j.0258-879x.2016.11.1415.
- [4] ADAK A, KHAN M R. An insight into gut microbiota and its functionalities[J]. Cell Mol Life Sci, 2019, 76(3): 473-493. DOI: 10.1007/s00018-018-2943-4.
- [5] GÓRALCZYK-BIŃKOWSKA A, SZMAJDA-KRYGIER D, KOZŁOWSKA E. The microbiota-gut-brain axis in psychiatric disorders[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(19): 11245. DOI: 10.3390/ijms231911245.
- [6] ILLIANO P, BRAMBILLA R, PAROLINI C. The mutual interplay of gut microbiota, diet and human disease[J]. FEBS J, 2020, 287(5): 833-855. DOI: 10.1111/febs.15217.
- [7] ZHANG J, QI H, LI M, et al. Diet mediate the impact of host habitat on gut microbiome and influence clinical indexes by modulating gut microbes and serum metabolites[J]. Adv Sci, 2024, 11(19): e2310068. DOI: 10.1002/advs.202310068.
- [8] KUZIEL G A, RAKOFF-NAHOUM S. The gut microbiome[J]. Curr Biol, 2022, 32(6): R257-R264. DOI: 10.1016/j.cub.2022.02.023.
- [9] WOLTER M, GRANT E T, BOUDAUD M, et al. Leveraging diet to engineer the gut microbiome[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2021, 18(12): 885-902. DOI: 10.1038/s41575-021-00512-7.
- [10] ZAFAR H, JR SAIER M H. Gut *Bacteroides* species in health and disease[J]. Gut Microbes, 2021, 13(1): 1-20. DOI: 10.1080/19490976.2020.1848158.
- [11] TROY E B, KASPER D L. Beneficial effects of *Bacteroides fragilis* polysaccharides on the immune system[J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2010, 15(1): 25-34. DOI: 10.2741/3603.
- [12] RAMAKRISHNA C, KUJAWSKI M, CHU H, et al. *Bacteroides fragilis* polysaccharide A induces IL-10 secreting B and T cells that prevent viral encephalitis[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 2153. DOI: 10.1038/s41467-019-09884-6.
- [13] VINOLO M A R, RODRIGUES H G, NACHBAR R T, et al. Regulation of inflammation by short chain fatty acids[J]. Nutrients, 2011, 3(10): 858-876. DOI: 10.3390/nu3100858.
- [14] OZAKI D, KUBOTA R, MAENO T, et al. Association between gut microbiota, bone metabolism, and fracture risk in postmenopausal Japanese women[J]. Osteoporos Int, 2021, 32(1): 145-156. DOI: 10.1007/s00198-020-05728-y.
- [15] CUI Y, ZHANG L, WANG X, et al. Roles of intestinal *Parabacteroides* in human health and diseases[J]. FEMS Microbiol Lett, 2022, 369(1): fnac072. DOI: 10.1093/femsle/fnac072.
- [16] GALLARDO-BECERRA L, CORNEJO-GRANADOS F, GARCÍA-LÓPEZ R, et al. Metatranscriptomic analysis to define the Secrebiome, and 16S rRNA profiling of the gut microbiome in obesity and metabolic syndrome of Mexican children[J]. Microb Cell Fact, 2020, 19(1): 61. DOI: 10.1186/s12934-020-01319-y.
- [17] ZITOMERSKY N L, ATKINSON B J, FRANKLIN S W, et al. Characterization of adherent bacteroidales from intestinal biopsies of children and young adults with inflammatory bowel disease[J]. PLoS One, 2013, 8(6): e63686. DOI: 10.1371/journal.pone.0063686.
- [18] HARO C, GARCIA-CARPINTERO S, ALCALA-DIAZ J F, et al. The gut microbial community in metabolic syndrome patients is modified by diet[J]. J Nutr Biochem, 2016, 27: 27-31. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2015.08.011.
- [19] 刘亚暖,姜肇旭,颜世敢.弗氏柠檬酸杆菌的致病性及分型研究进展[J].工业微生物,2023,53(4):53-56.
- [20] GUPTA V K, PAUL S, DUTTA C. Geography, ethnicity or subsistence-specific variations in human microbiome composition and diversity[J]. Front Microbiol, 2017, 8: 1162. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01162.

[本文编辑] 商素芳