

## 木薯淀粉介导肠道菌群加剧小鼠肥胖症的机制

汪媛媛, 常海波, 张增, 张家超\*

(海南大学食品科学与工程学院 海口 570228)

**摘要** 肥胖症是体内脂肪过度积累而导致超重的一种慢性代谢疾病。木薯淀粉属于可消化淀粉,目前对其研究多集中于对结构的解析和体外功能评价方面。本研究基于小鼠肥胖模型,采用高通量测序技术研究造模肥胖小鼠摄入木薯淀粉后血液中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG),免疫指标免疫球蛋白 A(IgA)、免疫球蛋白 G(IgG)、免疫球蛋白 M(IgM)水平以及对小鼠肠道菌群结构的影响。结果表明:与对照组相比,TG、IgA、IgG 和 IgM 水平均显著升高,摄入木薯淀粉促进了能高效分解代谢碳水化合物的菌属,如双歧杆菌属和多尔氏菌属相对丰度的增加,同时也促进了致病菌的增殖,如梭状芽孢杆菌属。摄入木薯淀粉促使小鼠肠道微生物组成发生改变,同时丰富的碳水化合物也给机体提供了足够的能量来源,从而增加了能量的储存,导致小鼠更容易产生肥胖症状。

**关键词** 木薯淀粉; 肥胖症; 肠道微生物; 16S rRNA

**文章编号** 1009-7848(2022)02-0160-09 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.02.018

淀粉是由葡萄糖分子聚合而成的高分子碳水化合物,是人类膳食中主要的组成部分,主要分为直链淀粉、支链淀粉和抗性淀粉三大类<sup>[1]</sup>。

木薯为世界三大薯类作物(木薯、甘薯、马铃薯)之一,是一种淀粉根作物,是热带、亚热带地区生活的人类日常膳食最主要能量来源,其嫩茎叶富含优质的蛋白质,具有很高的食用价值和工业利用价值<sup>[2-3]</sup>。木薯富含淀粉,其块根含 30% 的淀粉,木薯干则含有 70% 的淀粉,普通木薯淀粉属于可消化淀粉,支链淀粉和直链淀粉含量比为 4:1<sup>[4]</sup>。淀粉组成中支链淀粉越高,越易被人体消化吸收并引起胰岛素应答,更容易引发肥胖<sup>[5]</sup>,而高直链淀粉消化速率慢,部分不被前端小肠消化,在后端小肠和大肠中消化吸收,抗性淀粉不易被小肠消化吸收,而能够在盲肠和结肠中被缓慢吸收利用<sup>[6]</sup>。抗性淀粉能促进肠道益生菌的生长繁殖,如双歧杆菌、乳酸菌等<sup>[7]</sup>。人体摄入抗性淀粉食物可减缓餐后血糖上升,增加脂质的排泄,从而减少机体对热量的吸收利用,同时可以维持饱腹感<sup>[8]</sup>,有效控制体重。

动物肠道中存在着种类繁多、数量庞大的微生物,它们相互制约、平衡共生,共同维持肠道环

境的稳定<sup>[9]</sup>。肠道菌群在一定程度上也是人类的一个重要器官,它在维持人体健康中发挥的作用远超人们的想象<sup>[10]</sup>,为宿主提供自身不具备的反应酶和生化反应途径,使机体可以消化吸收一些不能直接吸收利用的物质并产生正常生长所必需的营养物质,与人体的营养、免疫和代谢等息息相关<sup>[11]</sup>。

相比于抗性淀粉,木薯淀粉属于可消化淀粉,支链淀粉含量高达 80%,目前的研究多集中于对结构的解析,对体外功能评价以及有益碳源的研究<sup>[12-13]</sup>,有必要对潜在的有害支链淀粉进行基于肠道菌群的营养评估。本研究基于小鼠肥胖模型,采用 16S rRNA 基因序列同源性分析技术分析小鼠血液中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)以及免疫指标免疫球蛋白 A(IgA)、免疫球蛋白 G(IgG)、免疫球蛋白 M(IgM),并分析肠道微生物菌群结构以及代谢通路的,旨在研究摄入木薯淀粉对小鼠肠道菌群结构的影响,也为以肠道菌群为靶点的人体肠道微生态平衡调控及宿主健康饮食提供理论依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 主要材料

C57BL/6 小鼠采购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,均为 4 周龄雄性,体重 18~20 g,经过一周适应期后用于实验,饲喂温度为 26 ℃,每天

收稿日期: 2021-02-03

基金项目: 国家自然科学基金项目(31701577)

作者简介: 汪媛媛(1997—),女,硕士

通信作者: 张家超 E-mail: zhjch321123@163.com

更换一次垫料。

基础饲料(玉米 41%、麸皮 26%、豆饼 29%、食盐 1%、骨粉 1%、赖氨酸 1%、其它 1%)、高脂饲料(胆固醇 1%、蛋黄粉 10%、猪油 10%、胆酸钠 0.2%、基础饲料 78.8%组成),所有的饲料均由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供。

木薯淀粉,上海枫未实业有限公司;测定血液总胆固醇(TC)试剂盒、测定血液甘油三酯(TG)试剂盒,北京索莱宝科技有限公司;测定小鼠免疫指标免疫球蛋白 M(IgM)试剂盒、测定小鼠免疫指标免疫球蛋白 A(IgA)试剂盒、测定小鼠免疫指标免疫球蛋白 G(IgG)试剂盒,上海信裕生物科技有限公司。

## 1.2 仪器和设备

PCR 扩增仪,杭州朗基科学有限公司;凝胶成像分析系统,美国 Cell Biosciences 公司;高速冷冻干燥机,Thermo Scientific 公司;DYY-12 电泳仪,北京市六一仪器厂;TGL-16G 高速离心机,上海安亭科学仪器厂。

## 1.3 方法

1.3.1 建立模型与实验样本分组 所有 40 只小鼠平均分成 4 组。4 组分别为对照组、模型组和 2 个处理组。对照组(Z): 饲喂基础饲料;高脂组(G): 饲喂高脂饲料;处理组 1(MZ): 饲喂基础饲料和木薯淀粉(含量 10%)的混合饲料;处理组 2(MG): 饲喂高脂饲料和木薯淀粉(含量 10%)的混合饲料。

### 1.3.2 观察指标

- 1) 一般情况 体质量;
- 2) 血液临床指标 总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG);
- 3) 免疫指标检测 免疫球蛋白 G(IgG)、免疫球蛋白 A(IgA)、免疫球蛋白 M(IgM)。

1.3.3 实验小鼠血液及粪便收集 每日上午 9 点对每组小鼠置换 10 g 新的饲料和饮水,每 7 d 对每组小鼠的体重进行称量并记录数据。参考相关肥胖造模方法<sup>[4]</sup>,试验周期为 4 周,第 2、4 周分别从各笼子中收集粪便,置于 2 mL 样品管中,收集约 1 g 粪便,做好标签置于-40 °C 冰箱中保存,用于 16S rRNA 测序。第 4 周饲养结束,对小鼠禁食 12 h 后,眼球取血 0.5~0.7 mL,常温放置 1 h 后进

行离心(2 500 r/min, 10 min),吸取血清并保存于-80 °C 冰箱。

## 1.4 16S rRNA 高通量测序

采用 CTAB 冻融法<sup>[15-17]</sup> 提取菌株基因组 DNA。利用 1.0% 的琼脂糖凝胶电泳,100V 电压,0.5×TBE 电泳液中电泳 15 min,用 Nanodrop 通过 OD<sub>260/280</sub> 比值检测 DNA 的纯度并用 Qubit 2.0 对 DNA 浓度进行精确定量。提取的 DNA 样品于-20 °C 保存。

扩增 16s rRNA 的 V3-V4 区,引物为 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3')和 806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')<sup>[18-19]</sup>。PCR 扩增体系(50 μL): 基因组 DNA 模板(100 ng/μL)1.5 μL、引物(10 pmol/μL)各 1.5 μL、2×Es Taq Master Mix(高纯度耐热 DNA 聚合酶)扩增预混合液 25 μL、ddH<sub>2</sub>O 20.5 μL。

反应参数:94 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 1 min,58 °C 退火 1 min,72 °C 延伸 2 min,循环 30 次;72 °C 末端延伸 10 min;4 °C 恒温保存。

PCR 扩增结束后,取 2 μL PCR 产物与 2 μL 6×上样缓冲液混合均匀于 1.0% 琼脂糖凝胶中点样电泳(100 V, 15 min),如在 468 bp 附近观察到清晰的条带,且无明显的特异性扩增,表明 PCR 成功。DNA 样品送于北京诺禾致源科技股份有限公司,采用 Illumina HiSeq 平台进行测序。下机后使用 QIIME 工具包进行分析<sup>[20]</sup>,根据 97% 的序列相似度将所有序列进行同源比对并聚类成可操作分类单元(Operational taxonomic units, OTUs)后与数据库 Greengenes 进行比对以获得物种信息,基于微生物 OTU 表进行 PICRUS 宏基因组功能预测<sup>[21]</sup>,通过与 KEGG 数据库比对得到二级和三级功能基因代谢通路的预测结果。

## 1.5 统计学分析方法

统计学分析使用 R 软件进行。使用“ggplot”包进行 PCoA 分析<sup>[22]</sup>;热图的绘制使用“pheatmap”包绘制的;箱型图的绘制使用了“ggpubr”包<sup>[23]</sup>;微生物菌属的含量以平均值±标准差表示,采用 Wilcoxon 检验和 Kruskal-Wallis 检验进行不同组别差异性比较分析,基于 Weighted Unifrac 距离的 PCoA 主坐标分析和 Heatmap 均采用 R 程序做图,R 程序计算 Spearman 相关性后,通过 Cy-

toscape 实现网络图的可视化。原始测序数据已经上传至 NCBI(项目号:PRJNA663287)。

## 2 结果分析

### 2.1 实验小鼠体重对比结果分析

将 4 周小鼠的体重进行比较,结果见图 1(\*为  $P<0.05$ )。在 0 周和 1 周,4 组小鼠体重无明显差异( $P>0.05$ );在第 2 周,与 Z 组小鼠体重进行比较,MZ 组和 MG 组小鼠体重有显著升高( $P<0.05$ )同时 MZ 组和 G 组无显著差异 ( $P>0.05$ );在第 4 周,与 Z 组小鼠进行比较,MZ 组和 MG 组小鼠体重有显著升高( $P<0.05$ ),同时 MZ 组和 G 组无显著差异。由此可见,对小鼠喂养含有木薯淀粉的饲料更容易导致体重上升。

### 2.2 实验小鼠血液临床与免疫指标分析

采用试剂盒对小鼠血液进行血液临床指标 TG、TC 和免疫指标 IgG、IgA、IgM 测定,结果如表 1 所示。G 组、MZ 组和 MG 组与 Z 组免疫指标 IgG、IgA、IgM 的含量相比显著升高 ( $P<0.05$ );G 组、MZ 组与 Z 组相比 TG 的含量显著升高 ( $P<0.001$ ),MG 组与 Z 组相比无显著差异( $P>0.05$ );

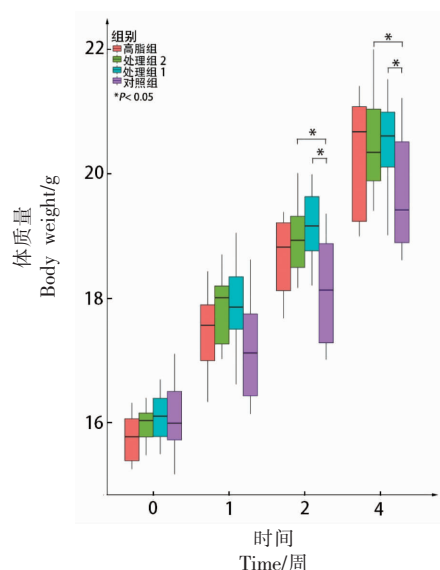


图 1 不同时间点各组小鼠的体质量

Fig.1 The weight of each group at different times

G 组、MZ 组和 MG 组与 Z 组 TC 的含量相比无显著差异( $P>0.05$ )。由此可见,高脂饮食和含有木薯淀粉的饲料能提高小鼠的血脂水平和免疫球蛋白 IgA、IgG、IgM 的含量。

表 1 小鼠血清观察指标分析

Table 1 Analysis of serum observed indexes of mice

	Z	G	MZ	MG	$P(Z \text{ vs } G)$	$P(Z \text{ vs } MZ)$	$P(Z \text{ vs } MG)$
TC	$0.65 \pm 0.32$	$0.77 \pm 0.05$	$0.81 \pm 0.29$	$0.92 \pm 0.25$	0.2914	0.2813	0.1609
TG	$0.53 \pm 0.27$	$3.11 \pm 0.56$	$2.31 \pm 0.31$	$2.22 \pm 1.61$	0.0010	0.0008	0.0735
IgG	$0.46 \pm 0.12$	$0.77 \pm 0.05$	$1.03 \pm 0.17$	$0.84 \pm 0.10$	0.0079	0.0046	0.0068
IgA	$0.91 \pm 0.03$	$1.17 \pm 0.04$	$1.11 \pm 0.11$	$1.06 \pm 0.10$	0.0006	0.0180	0.0328
IgM	$0.26 \pm 0.01$	$0.28 \pm 0.01$	$0.34 \pm 0.01$	$0.34 \pm 0.01$	0.0047	0.0006	0.0001

### 2.3 肠道微生物菌群多样性分析

为了对样品中微生物多样性和物种丰富度进行比较,计算了样品中 ACE 指数、Chao1 指数、香农指数(Shannon)和辛普森指数(Simpson)。如图 2 所示,ACE 指数和 Chao1 指数在各样品组间无显著性差异( $P>0.05$ ),表示各组样品微生物丰富度无显著差异;对于香农指数(Shannon),MZ 组与 Z 组和 MZ 组与 G 组的 2 周和 4 周的样品均有显著性差异 ( $P<0.05$ ),MG 组与 G 组 4 周的样品也有显著性差异( $P<0.05$ );对于辛普森指数(Simpson),MZ 组与 Z 组 2 周的样品有显著性差异,MZ 组与

G 组 2 周和 4 周的样品均有显著性差异 ( $P<0.05$ ),MG 组与 G 组 4 周的样品也有显著性差异 ( $P<0.05$ ),同时 MG 组和 MZ 组的样品在不同的时间点(2 周和 4 周)也有显著性差异,均能说明木薯淀粉摄入后肠道微生物多样性降低。

### 2.4 肠道微生物群落结构与差异性菌属分析

基于非加权(Unweighted unifracc)距离的主坐标分析(Principal coordinate analysis, PCoA)对样品进行分析,结果如图 3a 和 3b 所示。G 组、MZ 组和 MG 组与 Z 组相比较,小鼠肠道菌群构成在主坐标上的位置存在明显聚类,MZ 组与 G 组,4 周

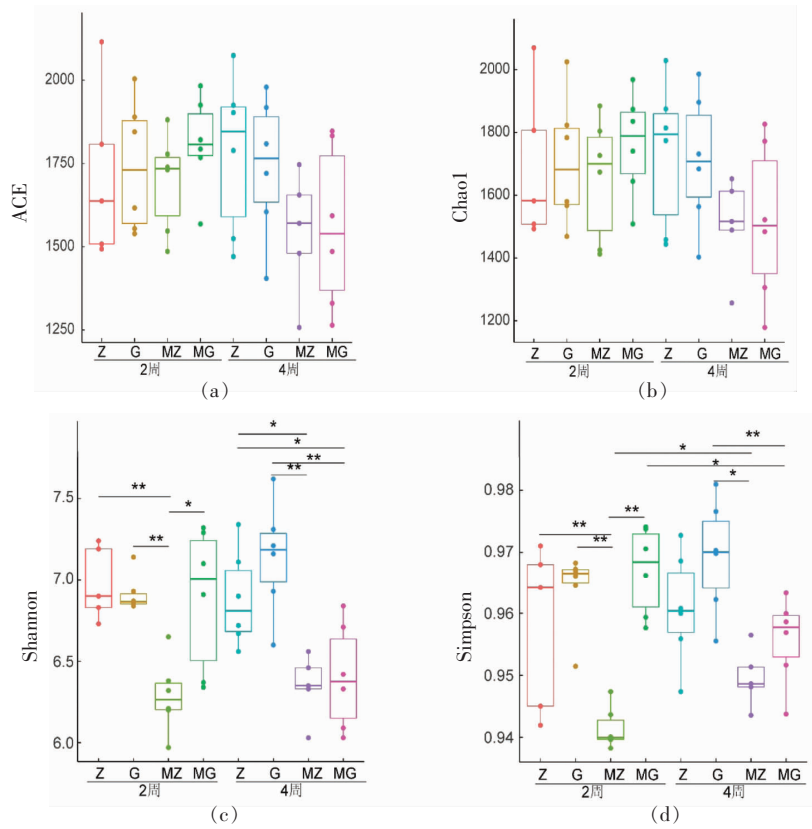
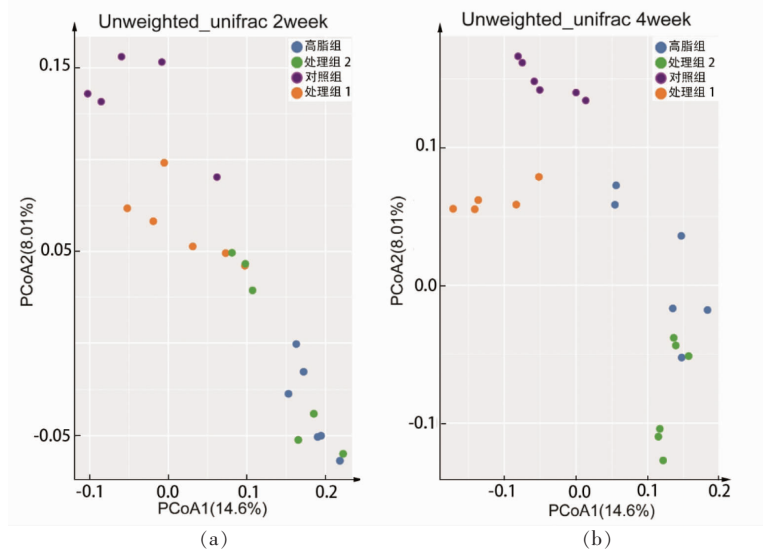


图 2 小鼠肠道微生物  $\alpha$  多样性比较

Fig.2 The  $\alpha$  diversity of gut microbiota in mice

较 2 周菌群结构逐渐靠近的趋势, 说明高脂饮食和木薯淀粉的摄入会改变小鼠肠道菌群结构。进一步细化差异性菌属, G 组、MZ 组和 MG 组与 Z 组相比较, 差异性菌属中苏黎世杆菌属和多尔氏

菌属显著减少, 双歧杆菌属显著增加; MZ 组、G 组与 Z 组相比较, 差异性菌属艾克曼菌属显著减少。



(a)

(b)

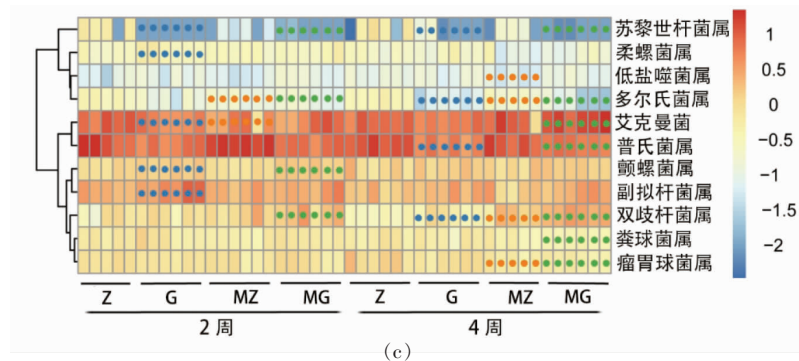


图3 β多样性与差异性菌属分析

Fig.3 Analysis of beta diversity and differential genus

2.5 肠道微生物差异性功能单元分析

选取贡献率大于1%且经Kruskal-Wallis检验P值小于0.05的差异微生物代谢通路绘制成气泡图,结果如图4所示。三级代谢通路主要差异主要和碳水化合物代谢、氨基酸代谢和糖代谢有关,MZ组与其它组相比,氨基酸代谢和碳水化合

物代谢呈现增高的趋势。对于代谢通路分子伴侣催化蛋白质折叠,与Z组相比,G组明显降低,而MG组明显升高。对于与细菌运动蛋白相关的代谢通路,与Z组相比,G组明显上升而MG组明显降低。



注:A:糖酵解/糖异生反应;B:精氨酸和脯氨酸代谢;C:淀粉和蔗糖代谢;D:DNA复制蛋白;E:分泌系统;F:丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢;G:甲烷代谢;H:功能未知;I:核糖体合成代谢;J:转运蛋白;K:核糖体代谢;L:肽酶代谢;M:转录因子;N:双组分系统;O:嘧啶代谢;P:氧化磷酸化;Q:染色体代谢;R:ABC转运蛋白;S:分子伴侣催化蛋白质折叠;T:细菌运动蛋白;U:嘌呤代谢;V:氨基酸相关酶;W:DNA修复和重组蛋白;X:氨基糖和核苷酸糖代谢;Y:氨酰生物合成。

图4 肠道微生物差异性功能单元分析

Fig.4 Analysis of differential functional units of gut microbiota

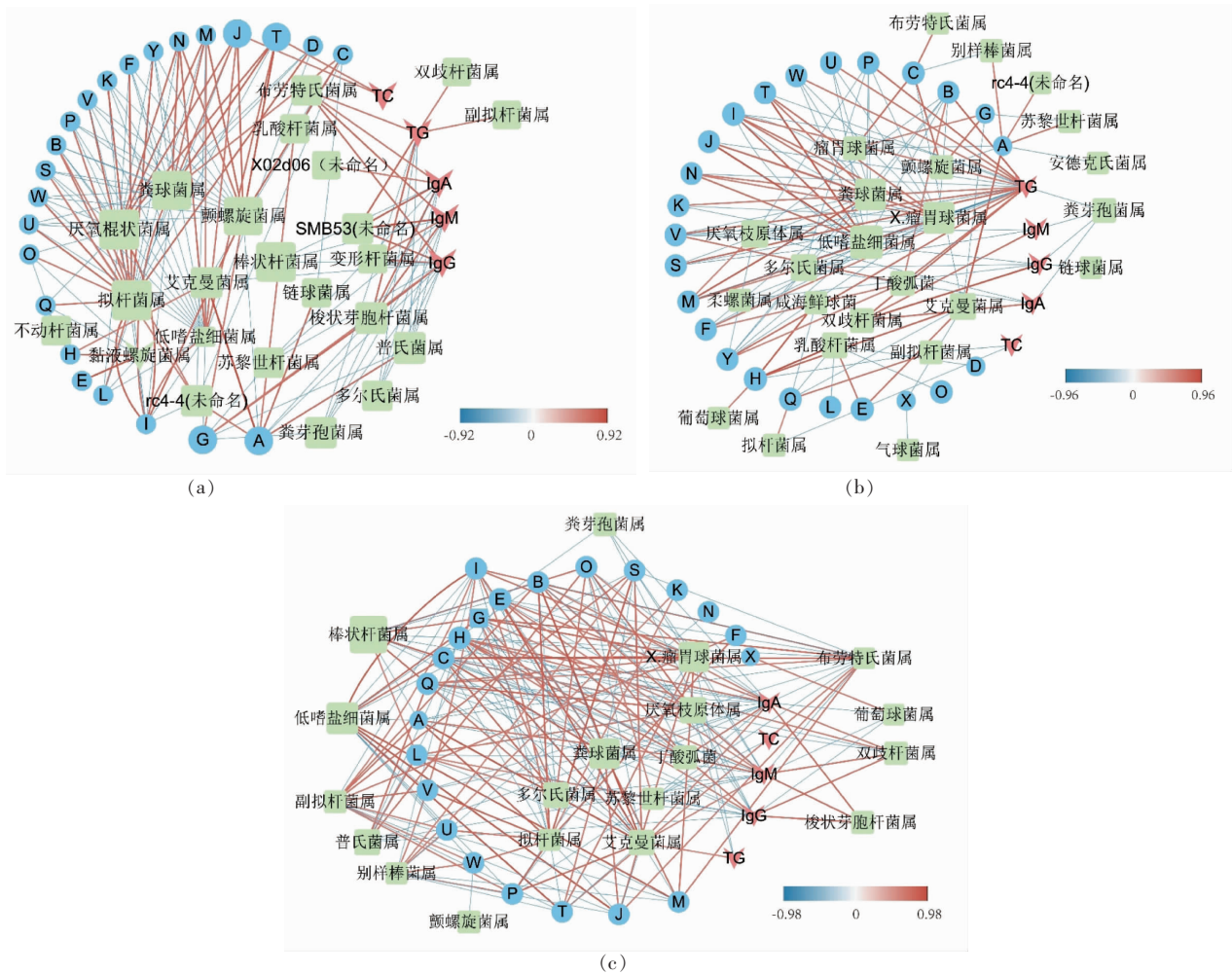
2.6 肠道微生物差异性菌属、三级代谢通路以及生化指标的相关性分析

目标选取平均含量大于1%、代谢通路贡献率大于1%的差异性菌属,通过Spearman相关性计

算r值,选择相关性大于0.6的菌属、三级代谢通路以及生化指标构建关系网络图。图5中,红色代表正相关,蓝色代表负相关,用于表示相关性强弱的线条颜色连续变化。G组和Z组相较(图5a),三

级代谢通路主要与碳水化合物和糖代谢有关,其中糖代谢与阿克曼菌属有极强的正相关关系,核糖体合成和氨基酸代谢与拟杆菌属存在正相关,碳水化合物代谢和甲烷代谢与阿克曼菌属极强负相关。副拟杆菌属只与 TG 呈正相关。木薯高脂组和对照组相较(图 5b),三级代谢通路主要与碳水化合物和氨基酸代谢有关,其中糖代谢和氨基酸代谢与阿克曼菌属有极强的正相关关系,甲烷代

谢和碳水化合物代谢与阿克曼菌属有极强的负相关关系,免疫指标 IgA 和 IgM 与厌氧枝原体属有极强的负相关关系。木薯正常组和对照组相较(图 5c),三级代谢通路主要与氨基酸代谢有关,其中氨基酸代谢主要和低嗜盐细菌属有极强的正相关关系,糖代谢和甲烷代谢与阿克曼菌属有极强的负相关关系,TG 指标与多尔氏菌属、瘤胃球菌属和低嗜盐细菌属有极强的负相关关系。



注:代谢通路格式符号与图 4 一致,绿色的方块代表菌属,蓝色的圆形代表代谢通路,红色的箭头代表生理生化指标。

图 5 肠道微生物差异性菌属、三级代谢通路以及生化指标的相关性分析

Fig.5 Correlation analysis of different genera of gut microbiota, tertiary metabolic pathways and biochemical indicators

### 3 讨论

本研究采用小鼠动物模型,通过建立肥胖模型以及喂养含木薯淀粉的饲料,采用 16S rRNA 扩增子高通量测序技术分析小鼠摄入木薯淀粉后生理生化指标以及肠道微生物菌群和代谢通路

的变化。

木薯淀粉属于极易被肠道消化吸收的支链淀粉,容易引起胰岛素应答<sup>[24]</sup>,因此更容易引发肥胖。本研究的试验组和对照组小鼠体内总胆固醇的含量差异不显著,可能由于肠道中具有改善脂

质代谢紊乱功能的双歧杆菌相对丰度的增加。摄入木薯淀粉有效改变了小鼠的肠道微生物组,与对照组相比,苏黎世杆菌属和多尔氏菌属显著减少,双歧杆菌属显著增加。苏黎世杆菌属参与发酵代谢,乳酸是其主要代谢产物,具有调节肌肉和抗疲劳的作用<sup>[25]</sup>。由于摄入极易被肠道消化吸收的木薯淀粉,双歧杆菌可以高效分解利用碳水化合物,代谢产生乙酸和乳酸,且可以降低血清胆固醇和甘油三酯,改善脂质代谢紊乱<sup>[26-27]</sup>。试验组和对对照组小鼠体内总胆固醇的含量差异不显著,可能是由于双歧杆菌相对丰度的增加以及其具有改善脂质代谢紊乱的功能所致。

小鼠肠道内能代谢产生短链脂肪酸的益生菌的显著减少可能是小鼠更容易患上肥胖症的原因之一。短链脂肪酸可以作用于 $\beta$ 细胞促进胰岛素的分泌从而缓解肥胖以及有关研究发现肠道内益生菌代谢产生的丁酸可以抑制非酒精性脂肪肝小鼠的系统性肥胖<sup>[28]</sup>。木薯高脂组肠道微生物苏黎世杆菌属、多尔氏菌属、普氏菌属、粪球菌属以及瘤胃球菌属的相对丰度都显著降低。粪球菌属 *Coprococcus* 能发酵碳水化合物,代谢产生丁酸<sup>[29]</sup>。瘤胃球菌属主要靠吸收单糖和降解黏蛋白来获取能量,其主要发酵代谢产物为乙酸和丁酸<sup>[30]</sup>。肠道内能代谢产生乙酸、丁酸等短链脂肪酸的有益菌显著减少,可能是小鼠更容易患上肥胖症的原因之一。

小鼠饲喂高脂饮食同时摄入木薯淀粉,会使肠道微生物中一些代谢产生短链脂肪酸的有益微生物的相对丰度显著降低,同时比对高脂组与木薯高脂组肠道微生物丰富度及均匀度发现两者相似。在摄入高脂饲料与木薯淀粉后,小鼠的碳水化合物代谢和甲烷代谢升高,与相对丰度降低的艾克曼菌属呈极强的负相关关系;木薯高脂组与对照组相比肠道微生物中艾克曼菌属相对丰度显著增加。有关研究表明,艾克曼菌属有助于降低肥胖、糖尿病、炎症等疾病的风险<sup>[31]</sup>,然而当艾克曼菌属相对丰度太高的时候反而会有相反的作用,加剧肥胖程度<sup>[32]</sup>,可见木薯淀粉与高脂饮食有类似加剧肥胖程度的作用。

基于肠道微生物及其代谢通路的网路互作分析可以看出,摄入木薯淀粉提供了丰富的碳水化

合物,促进了能分解代谢碳水化合物的微生物如双歧杆菌属和多尔氏菌属相对丰度的增加,也增加了如梭状芽胞杆菌属<sup>[33-34]</sup>等致病菌的增殖。木薯淀粉介导的肠道菌群结构的改变使小鼠肠道代谢产物的改变,同时丰富的碳水化合物也给机体提供了足够的能量来源,从而增加了能量的储存,生理生化指标如总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)以及免疫指标免疫球蛋白 A (IgA)、免疫球蛋白 G (IgG)、免疫球蛋白 M (IgM) 以及肠道环境的改变表明摄入木薯淀粉更容易导致小鼠产生肥胖症状。

### 参 考 文 献

- [1] FLORES S, FAMÁ L, ROJAS A M, et al. Physical properties of tapioca-starch edible films: Influence of filmmaking and potassium sorbate[J]. Food Research International, 2007, 40(2): 257-265.
- [2] PARRA D, TADINI C, PONCE P, et al. Mechanical properties and water vapor transmission in some blends of cassava starch edible films[J]. Carbohydrate Polymers, 2004, 58(4): 475-481.
- [3] FONSECA L M, GONÇALVES J R, EL HALAL S L M, et al. Oxidation of potato starch with different sodium hypochlorite concentrations and its effect on biodegradable films [J]. LWT - Food Science and Technology, 2015, 60(2): 714-720.
- [4] MONTAGNAC J A, DAVIS C R, TANUMIHARDJO S A. Nutritional value of cassava for use as a staple food and recent advances for improvement[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2009, 8(3): 181-194.
- [5] HE H J. Curcumin attenuates Nrf2 signaling defect, oxidative stress in muscle and glucose intolerance in high fat diet-fed mice[J]. World Journal of Diabetes, 2012, 3(5): 94-104.
- [6] TOPPING D L, CLIFTON P M. Short-chain fatty acids and human colonic function: Roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides[J]. Physiological Reviews, 2001, 81(3): 1031-1064.
- [7] KIEFFER D A, PICCOLO B D, VAZIRI N D, et al. Resistant starch alters gut microbiome and metabolomic profiles concurrent with amelioration of chronic kidney disease in rats[J]. American Journal

- of Physiology –Renal Physiology, 2016, 310(9): F857–F871.
- [8] VENKATARAMAN A, SIEBER J R, SCHMIDT A W, et al. Variable responses of human microbiomes to dietary supplementation with resistant starch[J]. *Microbiome*, 2016, 4(1): 33.
- [9] FLINT H J, DUNCAN S H, SCOTT K P, et al. Links between diet, gut microbiota composition and gut metabolism[J]. *Proc Nutr Soc*, 2015, 74(1): 13–22.
- [10] TREMAROLI V, BACKHED F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism[J]. *Nature*, 2012, 489(7415): 242–249.
- [11] ARUMUGAM M, RAES J, PELLETIER E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome[J]. *Nature*, 2011, 473(7346): 174–180.
- [12] HOOPER L V, LITTMAN D R, MACPHERSON A J. Interactions between the microbiota and the immune system[J]. *Science*, 2012, 336(6086): 1268–1273.
- [13] 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.
- [14] KIM K A, GU W, LEE I A, et al. High fat diet-induced gut microbiota exacerbates inflammation and obesity in mice via the TLR4 signaling pathway[J]. *Plos One*, 2012, 7(10): e47713.
- [15] QIN N, YANG F L, LI A, et al. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis[J]. *Nature*, 2014, 513(7516): 59–64.
- [16] XU R, WANG Q Q, LI L. A genome-wide systems analysis reveals strong link between colorectal cancer and trimethylamine N-oxide (TMAO), a gut microbial metabolite of dietary meat and fat[J]. *BMC Genomics*, 2015, 16(S7): S4.
- [17] GUO Z, ZHANG J C, WANG Z L, et al. Intestinal microbiota distinguish gout patients from healthy humans[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 20602.
- [18] MA C C, PENG Q N, JIANG S M, et al. Probiotic *Bifidobacterium lactis* V9 regulates the intestinal microbiome in patients with polycystic ovary syndrome[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2018, 64(3): 360–368.
- [19] 马臣臣, 姜帅铭, 彭倩楠, 等. 海南黎族发酵海产品中微生物多样性分析[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(8): 270–277.
- MA C C, JIANG S M, PENG Q N, et al. Analysis of microbial diversity of traditional fermented seafood from Li Nationality in Hainan[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20(8): 270–277.
- [20] CAPORASO J G, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, et al. QIIME allows analysis of highthroughput community sequencing data[J]. *Correspondence*, 2010, 7: 335–336.
- [21] LANGILLE M G I, ZANEVELD J, CAPORASO J G, et al. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences[J]. *Nature Biotechnology*, 2013, 31(9): 814–821.
- [22] THIOULOUSE J, CHESSEL D, DOLÉDEC S, et al. ADE-4: A multivariate analysis and graphical display software[J]. *Statistics & Computing*, 1997, 7(1): 75–83.
- [23] ITO K, MURPHY D. Application of ggplot2 to pharmacometric graphics[J]. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*, 2013, 2(10): e79.
- [24] KAUR B, ARIFFIN F, BHAT R, et al. Progress in starch modification in the last decade[J]. *Food Hydrocolloids*, 2012, 26(2): 398–404.
- [25] BOSSHARD P P, ZBINDEN R, ALTWEGG M. *Turicibacter sanguinis* gen. nov., sp. nov., a novel anaerobic, Gram-positive bacterium[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2002, 52(Pt 4): 1263–1266.
- [26] BACKHED F, DING H, WANG T, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(44): 15718–15723.
- [27] MILLION M, MARANINCHI M, HENRY M, et al. Obesity-associated gut microbiota is enriched in *Lactobacillus reuteri* and depleted in *Bifidobacterium animalis* and *Methanobrevibacter smithii*[J]. *International Journal of Obesity*, 2012, 36(6): 817–825.
- [28] SEKIROV I, RUSSELL S L, ANTUNES L C M, et al. Gut microbiota in health and disease[J]. *Physiological Reviews*, 2010, 90(3): 859–904.
- [29] VALLES-COLOMER M, FALONY G, DARZI Y, et al. The neuroactive potential of the human gut microbiota in quality of life and depression[J]. *Nature Microbiology*, 2019, 4(4): 623–632.



- [30] ZE X L, DUNCAN S H, LOUIS P, et al. *Ruminococcus bromii* is a keystone species for the degradation of resistant starch in the human colon[J]. *Isme Journal*, 2012, 6(8): 1535–1543.
- [31] EVERARD A, BELZER C, GEURTS L, et al. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(22): 9066–9071.
- [32] QIN J J, LI Y R, CAI Z M, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes[J]. *Nature*, 2012, 490(7418): 55–60.
- [33] DAHL C, STIGUM H, VALEUR J, et al. Preterm infants have distinct microbiomes not explained by mode of delivery, breastfeeding duration or antibiotic exposure[J]. *International Journal of Epidemiology*, 2018, 47(5): 1658–1669.
- [34] GASPARRINI A J, WANG B, SUN X, et al. Persistent metagenomic signatures of early-life hospitalization and antibiotic treatment in the infant gut microbiota and resistome[J]. *Nature Microbiology*, 2019, 4(12): 2285–2297.

### Mechanism of Cassava Starch Mediating Gut Microbiota Exacerbating Obesity in Mice

Wang Yuanyuan, Chang Haibo, Zhang Zeng, Zhang Jiachao\*  
(College of Food Science and Engineering, Hainan University, Haikou 570228)

**Abstract** Obesity is a chronic metabolic disease in which excessive accumulation of body fat leads to overweight. Cassava starch is a digestible starch, and the current research on it mostly focused on structural analysis and *in vitro* function evaluation. This study was based on a mouse obesity model, using high-throughput sequencing technology to study the total cholesterol (TC), triglycerides (TG) and immune index immunoglobulin A (IgA), immunoglobulin G (IgG), immunoglobulin M (IgM) in the blood of modeled obese mice after ingesting cassava starch. Studies have shown that compared with the control group, the levels of TG, IgA, IgG, and IgM were significantly higher than those in the control group. Cassava starch intake it promoted the increase of the relative abundance of bacteria that could efficiently catabolize carbohydrates such as *Bifidobacterium* and *Dorea*, but also promotes the proliferation of pathogenic bacteria such as *Clostridium*. Ingestion of cassava starch promoted changes in the microbial composition of the gut tract of mice. At the same time, abundant carbohydrates also provided sufficient energy sources for the body, thereby increasing energy storage and making mice more prone to obesity.

**Keywords** cassava starch; obesity; gut microbiota; 16S rRNA