

• 基础研究 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2025.11.007

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20250721.1501.017\(2025-07-21\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20250721.1501.017(2025-07-21))

基于 16S rDNA 基因测序技术探讨糖尿病肾病进展中肠道菌群的变化^{*}

高巧营¹,张爱民^{1△},戈立秀¹,房杰¹,陈明慧¹,贾晓东²

[1.天津市中西医结合医院(南开医院)医学检验科,天津 300100];2.天津金域医学检验实验室有限公司,天津 300000]

[摘要] **目的** 基于 16S rDNA 基因测序技术研究糖尿病肾病(DN)进展中肠道菌群的变化。**方法** 将 90 只 SD 雄性大鼠随机分为正常对照组($n=10$,不建模,常规饲养)、模型组(糖尿病模型)。糖尿病模型制备采用单剂量腹腔注射 60 mg/kg 链脲佐菌素(STZ),常规饲养,根据建模后饲养时间分为 2 w、4 w、8 w、12 w 模型组(模型建立后分别喂养 2、4、8、12 周),每组 20 只。脲酶法测定血尿素氮(BUN),苦味酸法测定血肌酐(Scr),ELISA 法检测大鼠尿液肾损伤分子-1(KIM-1)和中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)水平;HE、PAS、Masson 染色观察肾组织病理学变化;收集大鼠肠道菌群,16S rDNA 基因测序法检测肠道菌群,以了解肠道菌群的变化。**结果** 与正常对照组比较,各模型组大鼠尿中 KIM-1 和 NGAL 水平明显升高($P<0.05$)。病理染色观察结果显示,与正常对照组比较,各模型组大鼠肾小球基底膜弥漫性增厚且肾小管上皮细胞多有局部坏死、空泡样变性等病理改变。16S rDNA 测序结果显示,各模型组大鼠肠道菌群丰度和结构发生改变。与正常对照组比较,8 w、12 w 模型组拟杆菌属(Bacteroides)、阿克曼菌(Akkermansia)相对丰度降低,罗氏菌属(Roseburia)、拟普雷沃菌属(Alloprevotella)、普雷沃菌属(Prevotellaceae-Ga6A1)、瘤胃菌科 UCG-005 属丰度增加。与正常对照组比较,12 w 模型组阿克曼菌丰度减少,普雷沃菌属(Prevotellaceae-NK3B31)丰度增高。**结论** 不同饲养时间的 DN 大鼠肠道菌群微生物群落丰度及结构发生明显改变,进一步验证了“肠肾轴”学说。

[关键词] 糖尿病肾病;肠道菌群;16S rDNA 测序;菌群丰度;肠肾轴
[中图法分类号] R587 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2025)11-2515-07

Changes in gut microbiota during diabetic nephropathy progression based on 16S rDNA sequencing technology^{*}

GAO Qiaoying¹,ZHANG Aimin^{1△},GE Lixiu¹,FANG Jie¹,CHEN Minghui¹,JIA Xiaodong²

[1. Department of Laboratory Medicine, Tianjin Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital (Nankai Hospital), Tianjin 300100, China; 2. Tianjin Jinyu Medical Laboratory Co., Ltd., Tianjin 300000, China]

[Abstract] **Objective** To investigate changes in gut microbiota during diabetic nephropathy (DN) progression using 16S rDNA sequencing technology. **Methods** A total of 90 male SD rats were randomly divided into a normal control group ($n=10$, no modeling, regular feeding) and a model group (diabetes model). The diabetes model was established by a single intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) at 60 mg/kg, with regular feeding. According to the feeding time after modeling, the rats were divided into 2-week, 4-week, 8-week, and 12-week model groups (fed for 2, 4, 8, and 12 weeks after model establishment), with 20 rats in each group. Blood urea nitrogen (BUN) was measured using the urease method, serum creatinine (Scr) was determined by the picric acid method, and ELISA was used to detect urinary kidney injury molecule-1 (KIM-1) and neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) levels. HE, PAS, and Masson staining were used to observe renal tissue pathological changes. Gut microbiota was collected from the rats, and 16S rDNA gene sequencing was used to analyze the gut microbiota to understand changes in the gut microbiota. **Results** Compared with the normal control group, the levels of KIM-1 and NGAL in urine of rats in all model groups were significantly

^{*} 基金项目:天津市卫生健康委员会科技项目(KJ20130);天津市中西医结合医院防治关键技术及方案优化 2022 年度重点专项(NKYY-IIT-2022-009-3)。△ 通信作者, E-mail: zhangaimin8858@163.com。

increased ($P < 0.05$). Pathological staining results showed that, compared with the normal control group, rats in all model groups exhibited diffuse thickening of the glomerular basement membrane and pathological changes such as local necrosis and vacuolar degeneration in renal tubular epithelial cells. 16S rDNA sequencing results indicated that the abundance and structure of intestinal microbiota in rats of all model groups changed. Compared with the normal control group, in the 8-week and 12-week model groups, the relative abundance of Bacteroides and Akkermansia decreased, while the relative abundance of Roseburia, Alloprevotella, Prevotellaceae-Ga6A1, and Ruminococcaceae UCG-005 increased. Compared with the normal control group, in the 12-week model group, the abundance of Akkermansia decreased and that of Prevotellaceae-NK3B31 increased.

Conclusion The abundance and structure of gut microbial community in DN rats under conventional feeding at different time points change significantly, further confirming the “gut-kidney axis” theory.

[Key words] diabetic nephropathy; gut microbiota; 16S rDNA sequencing; microbial abundance; gut-kidney axis

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是慢性肾脏病 (chronic kidney disease, CKD) 的一种, 是糖尿病最常见的临床并发症之一, 亦是导致终末期肾病的第二原因^[1]。2017 年全球有 4.25 亿人被诊断为糖尿病, 预计到 2045 年还将增加 48%^[2]。1 型糖尿病 (diabetes mellitus type 1, T1DM) 和 2 型糖尿病 (diabetes mellitus type 2, T2DM) 均可能进展为 DN, 基于临床上 T2DM 患者基数多, 故由 T2DM 发展成 DN 患者数占比也较高^[3]。大多 DN 患者发展到 III 或 IV 期时才被明确诊断, 此时肾单位已严重受损, 不可逆转。然而, DN 的发生机制尚未被完全阐明。近年来学者们定义肠道和肾脏间的密切联系为“肠肾轴”, 并强调双向交互作用^[4-6]。肠道微生态作为机体最主要的、最复杂的微生态系统, 参与机体物质能量代谢、免疫系统调节等重要生命活动。肠道微生态的分型可作为不同疾病及健康状态的判断依据, 因此 DN 与肠道菌群的关系值得深入研究, 可能为防治 DN 提供新的理论基础和实验室证据。

1 材料与方法

1.1 材料

8 周无特定病原体级 SD 大鼠共 110 只, 雄性, 体重 (180 ± 20) g, 由北京华阜生物科技股份有限公司提供 [动物许可证号 SCXK (京) 2020-0004]。大鼠由天津市中西医结合医院急腹症研究所实验动物中心饲养, 饲养条件: 温度 $20 \sim 24$ °C、湿度 $40\% \sim 60\%$, 昼夜各 12 h 交替进行。本研究已通过本院伦理委员会批准 (审批号: NKYY-DWLL-2019-011)。

1.2 方法

1.2.1 分组与造模

大鼠被随机分为正常对照组 (不建模, 常规喂养, $n=10$), 2 w、4 w、8 w、12 w 模型组 ($n=20$), 共 5 组。2 w、4 w、8 w、12 w 模型组大鼠给与腹腔注射 60

mg/kg 链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ), 于第 3、7 天经大鼠尾静脉取血测血糖。糖尿病模型构建成功判断依据: 大鼠空腹血糖 > 16.7 mmol/L, 且伴随多尿、多食、体重减轻的表现。2 w、4 w、8 w、12 w 模型组大鼠于建模成功后采用普通饲料分别喂养 2、4、8、12 周。

1.2.2 标本采集

经腹腔注射麻醉后, 于腹主动脉处采集大鼠血液, $3\ 500$ r/min 离心取上清液; 采集肾脏组织, PBS 漂洗, 部分 -80 °C 冻存, 部分 4% 多聚甲醛固定, 用于检测肾功能损伤及组织病理改变。收集大鼠肠道内容物, 以检测肠道菌群。

1.2.3 肾组织病理变化

HE 染色: 将肾组织固定 24 h 以上。按常规方法梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, $4\ \mu\text{m}$ 厚度切片, 脱蜡, 苏木素染色 3 min, 洗涤, 分化, 伊红溶液染色 30 s, 再使用梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 最后用中性树胶封固, 在高倍显微镜下观察肾组织。

PAS 染色: 石蜡切片进行二甲苯脱蜡 60 min, A 液 (阿利新蓝染色液) 染色 10 min, 水洗, B 液 (席夫试剂) 染色 8 min, 水洗, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封固。

Masson 染色: 石蜡切片, 二甲苯脱蜡 60 min, Weigert 铁苏木素染色 8 min, 1% 盐酸乙醇分化 10 s, 水洗 5 min, 丽春红复红液染色 5 min, 2% 冰醋酸洗涤 1 min, 磷钼酸溶液分化 3 min, 2% 冰醋酸洗涤 1 min, 苯胺蓝溶液 1 min, 2% 冰醋酸洗涤 1 min, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封固。切片染色后, 在显微镜下观察肾组织病理改变。

1.2.4 肾损伤指标测定

采用脲酶法测定血尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN), 苦味酸法测定血清肌酐 (serum creatinine,

Scr)。ELISA 法检测尿液肾损伤分子-1(kidney injury molecule-1,KIM-1)和中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase associated lipocalin,NGAL)水平,主要步骤:将 100 μL 样品或不同浓度标准品分别加入反应孔;盖上封板膜后 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h;每孔直接加入 100 μL 生物素化抗体工作液,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h;弃去液体,重复洗涤 3 次;每孔加入 100 μL 酶结合物工作液,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min;重复洗涤 5 次;每孔加入 90 μL 底物,37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 15 min;每孔加入 50 μL 终止液,测定各孔 450 nm 波长处吸光度 $[A_{(450)}]$ 值。

1.2.5 16S rDNA 基因测序

参照试剂盒说明书提取大鼠肠道内容物细菌 DNA,将 DNA 提取物应用 16S rDNA V3、V4(338~806 bp)引物序列(5'-ACT CCT ACG GGA GGC AGC AG-3',5'-GGA CTA CHV GGG TWT CTA AT-3')进行 PCR 扩增。PCR 扩增条件:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,50 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min,30 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 7 min。1%琼脂糖凝胶电泳分离扩增的目的条带,并纯化 PCR 产物。北京奥维森科技有限公司 MiSeq 平台通过文库构建、上机测序、数据整合来分析各组模型大鼠肠道菌群的变化。

1.3 统计学处理

基因测序得到的数据利用重叠关系进行序列拼接后,经序列分析后将相似性 $\geq 97\%$ 的序列归为相同的操作分类单元(operational taxonomic units,OTU)。 α 多

样性分析(Chao1 指数、Shannon 指数)用于分析样本物种丰富度和菌群多样性,其中 Chao1 指数越大说明菌群丰度越高,Shannon 指数越大说明菌群多样性越高; β 多样性分析(PCoA、PCA)用于分析生物学重复的组内相似性及组间差异。PCoA、PCA 分析可直观看出生物学重复的组内相似性及组间差异。采用 SPSS20.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 大鼠肾脏损伤程度

糖尿病造模成功的大鼠均经尾静脉采血检测大鼠血糖,大鼠空腹血糖均 $>16.7\text{ mmol/L}$ (处于高血糖水平),除 2 w 模型组,其他模型组大鼠伴随多尿、多食、体重不同程度减轻的表现。与正常对照组比较,各模型组大鼠 BUN、Scr 及尿液 KIM-1、NGAL 水平升高,除 2 w 模型组的 Scr 及尿液 KIM-1、NGAL,其余各组差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

2.2 大鼠肾脏病理改变

HE、PAS、Masson 染色显示,正常对照组大鼠肾小球及肾小管无明显病理改变;随着饲养时间延长,各模型组大鼠肾小球呈分叶状改变,肾小球基底膜弥漫性增厚,肾小管上皮细胞多有局部坏死、空泡样变性等病理改变,肾小球间质纤维增生明显,多集中于动脉周围,见图 1。

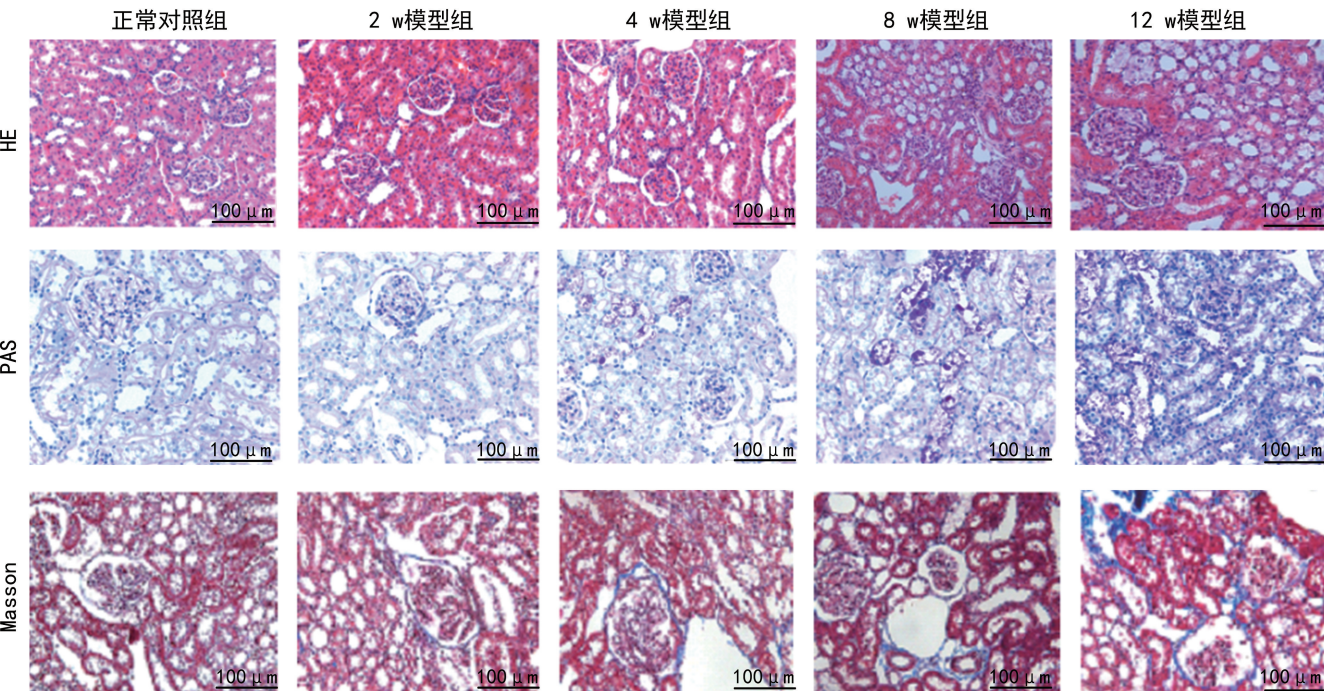


图 1 各组大鼠肾脏病理改变

2.3 菌群多样性分析

2.3.1 质控分析

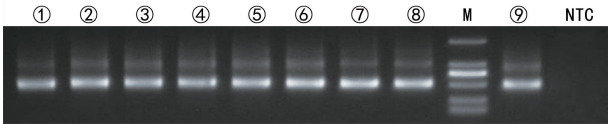
对各组大鼠肠道菌群进行 DNA 提取,扩增条件

位置正确且清晰明亮,样品的质量全部符合后续建库和测序的要求,见图 2。

表 1 各组大鼠 BUN、Scr 及尿液 KIM-1、NGAL 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	BUN(mmol/L)	Scr(μ mol/L)	尿液 KIM-1(pg/mL)	尿液 NGAL(pg/mL)
正常对照组	10	6.34 $\pm$ 0.40	65.17 $\pm$ 5.41	26.14 $\pm$ 4.27	165.32 $\pm$ 13.77
2 w 模型组	20	19.91 $\pm$ 3.23 ^a	75.74 $\pm$ 8.93	30.01 $\pm$ 4.44	175.70 $\pm$ 21.81
4 w 模型组	20	34.71 $\pm$ 3.13 ^a	95.23 $\pm$ 11.83 ^a	44.77 $\pm$ 3.25 ^a	195.05 $\pm$ 24.32 ^a
8 w 模型组	20	47.10 $\pm$ 4.06 ^a	109.05 $\pm$ 25.65 ^a	67.11 $\pm$ 7.87 ^a	289.13 $\pm$ 25.94 ^a
12 w 模型组	20	60.15 $\pm$ 6.72 ^a	112.43 $\pm$ 20.64 ^a	73.14 $\pm$ 6.11 ^a	312.66 $\pm$ 27.10 ^a

^a: $P<0.05$,与正常对照组比较。



①②:正常对照组;③④:2 w 模型组;⑤⑥:4 w 模型组;⑦⑧:8 w 模型组;M:Marker 条带;⑨:12 w 模型组;NTC:无模板对照组。

图 2 琼脂糖凝胶电泳结果

2.3.2 肠道菌群 OTU 及 Venn 图分析

采用 Venn 图分析各组间菌群 OTU 数量及其种类交叉情况。正常对照组、2 w 模型组、4 w 模型组、8 w 模型组、12 w 模型组 OTU 数量分别有 2 300、1 600、1 756、1 759、2 343 个;上述各组特异性 OTU 分别为 285、41、114、56、341 个;共有 OTU 为 647 个(Venn 图中间位置为 5 组共有 OTU),见图 3。与正常对照组比较,除 12 w 模型组,其他模型组大鼠肠道菌群 OTU 数量降低。

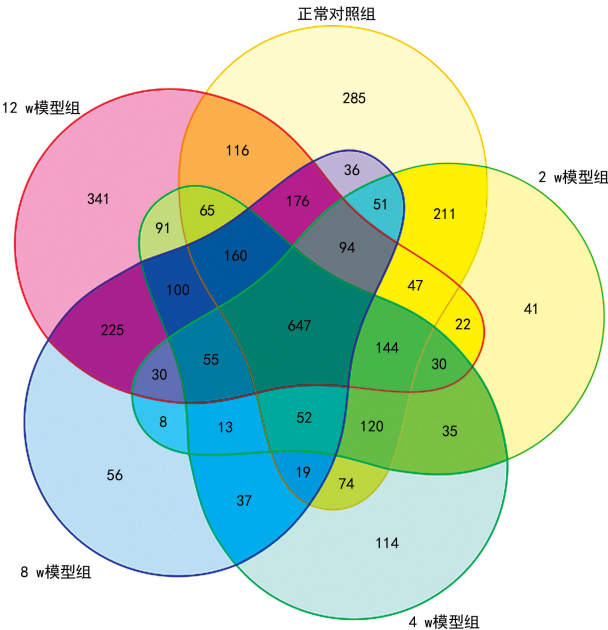


图 3 大鼠肠道菌群分类的 Venn 分析

2.3.3 肠道菌群多样性分析

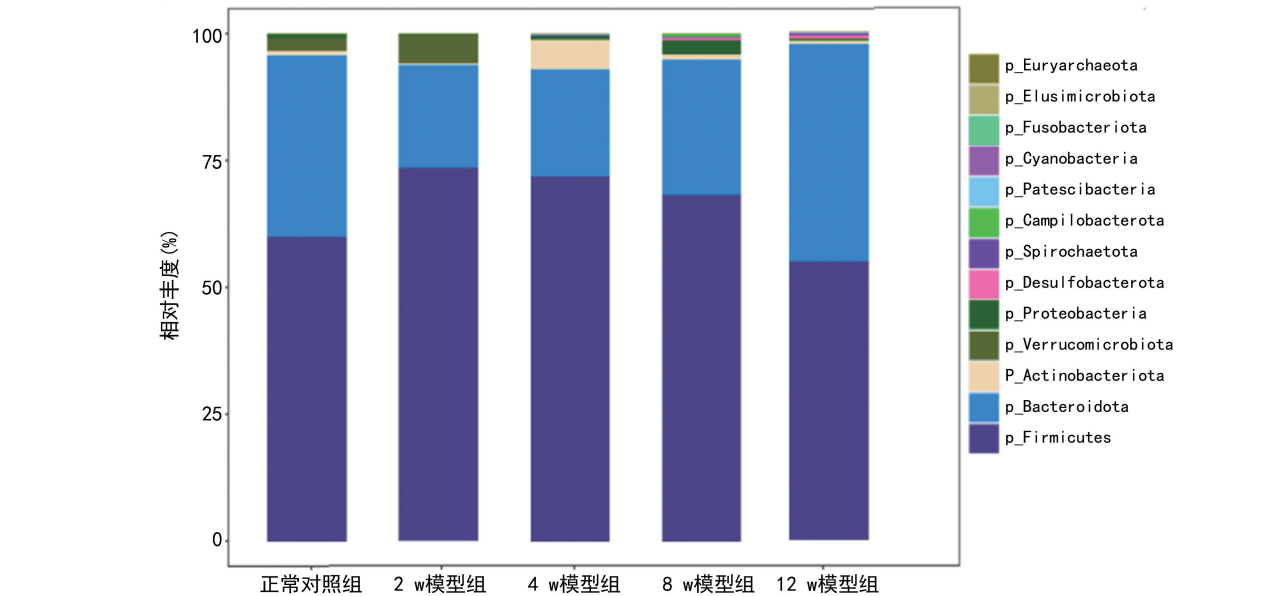
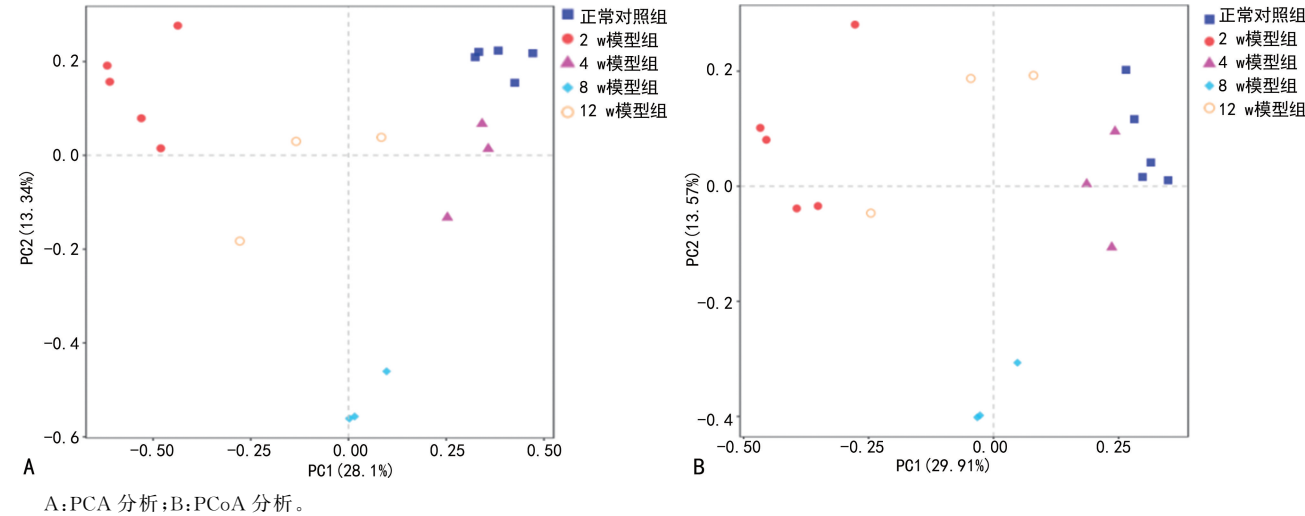
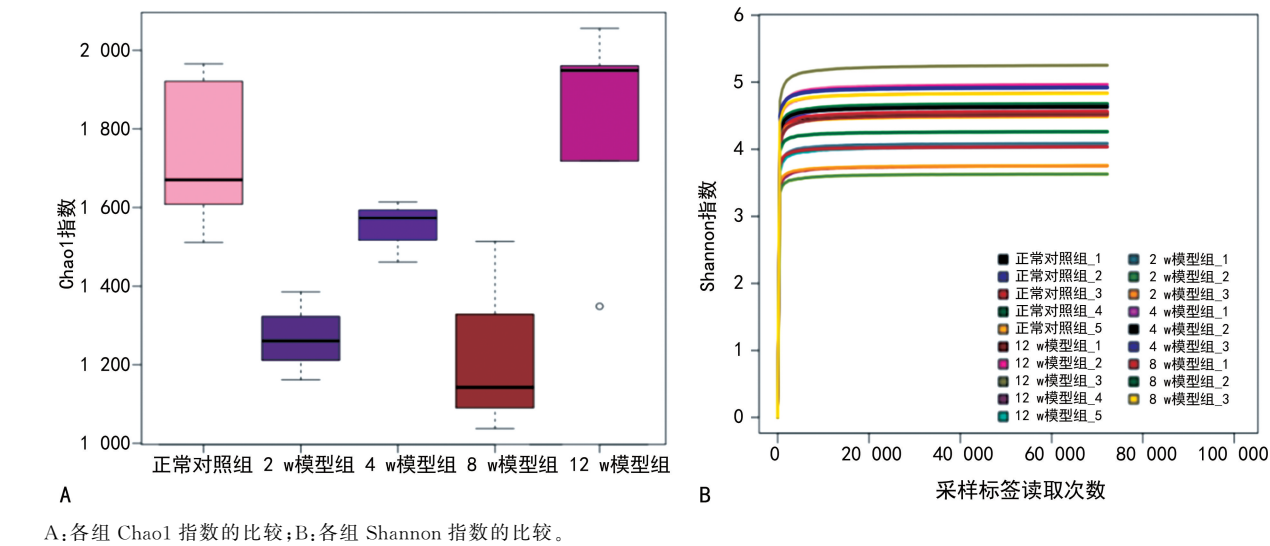
α 多样性分析结果显示,与正常对照组比较,2 w、4 w、8 w 模型组大鼠肠道菌群丰度和多样性明显降低。而相较于正常对照组和其他模型组,12 w 模型组大鼠 Chao1 指数和 Shannon 指数升高,提示该组大鼠肠道菌群丰度和多样性增高,见图 4。 β 多样性分析结果显示,正常对照组与 4 w、8 w、12 w 模型组明显分开,表明各组菌群结构差异明显,尤其 12 w 模型与正常对照组距离最远。组内差异:正常对照组中样本间距离较近,表明样本间的微生物组成结构相似度较高,差异性小;2 w、8 w 模型组组内样本间距离较远,表明样本之间的微生物组成结构相似度较低,4 w、12 w 模型组组内样本间距离相对较近,见图 5。

2.3.4 肠道菌群的结构分析

正常对照组和各模型组均检测到 13 个门,主要为厚壁菌门(Firmicutes)和拟杆菌门(Bacteroidota),见图 6。与正常对照组比较,各模型组的肠道菌群差异较大,其中 2 w、4 w、8 w 模型组厚壁菌门/拟杆菌门(Firmicutes/Bacteroidota,F/B)比值升高,而 12 w 模型组 F/B 比值降低,同时 12 w 模型组疣微菌门(Verrucomicrobiota)相对丰度降低,而脱硫杆菌门(Desulfobacterota)相对丰度升高。从属水平分析中,各种大鼠肠道核心菌群以厌氧菌为主,如:乳杆菌属(Lactobacillus)、毛螺菌属(Lachnospiraceae)、普雷沃菌属(Prevotellaceae)、拟杆菌属(Bacteroides)、瘤胃球菌属(Ruminococcus)、罗氏菌属(Roseburia)等。与正常对照组比较,8 w、12 w 模型组拟杆菌属(Bacteroides)、阿克曼菌属(Akkermansia)相对丰度降低,8 w、12 w 模型组罗氏菌属(Roseburia)、拟普雷沃菌属(Alloprevotella)、普雷沃菌属(Prevotellaceae-Ga6A1)、瘤胃菌科 UCG-005 属相对丰度升高。与正常对照组比较,12 w 模型组普雷沃菌属(Prevotel-

laceae-NK3B31) 相对丰度升高, 阿克曼菌 (Akker-

mansia) 相对丰度降低, 见图 7。



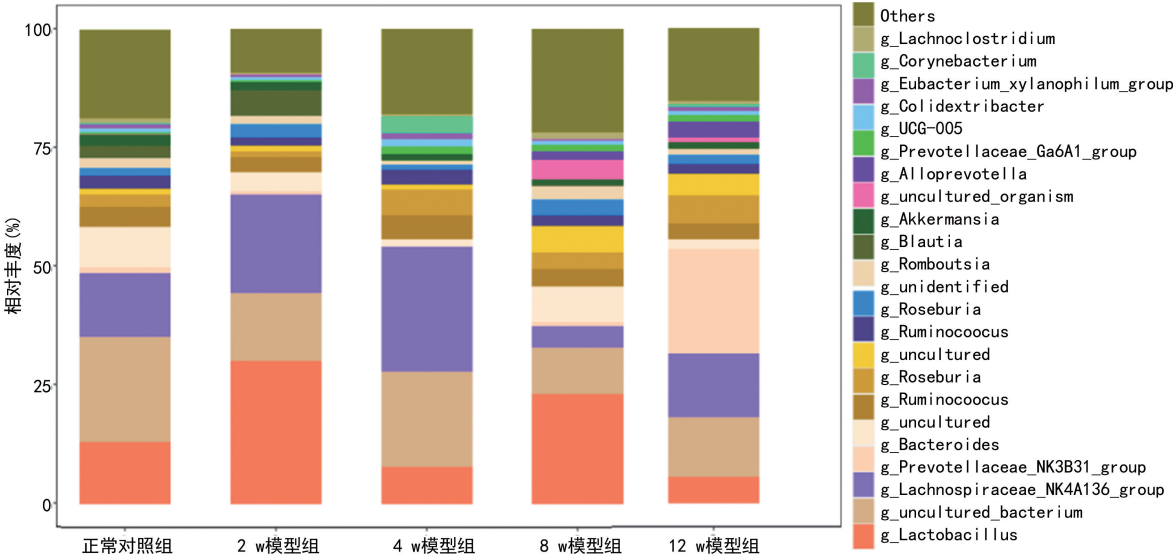


图 7 大鼠肠道菌群属水平结构变化

3 讨 论

人体肠道微生物群是由不同的微生物群落组成的生态系统,主要由约 1 000 个不同种类的细菌组成。它们能够调节营养物质的消化和吸收^[7],与宿主通过双向交流相互合作进化和适应,逐渐建立起互利关系^[8-10]。当菌群失调和肠道屏障功能受损时微生物群的内毒素和代谢产物可诱发全身炎症,导致肾功能损伤^[6,11]。随之,“肠肾轴”,即肠道菌群与肾脏疾病关系密切,被提出来了^[4-6]。但关于肠道微生物群的研究一直因技术的局限性止步不前。近年来,随着高通量测序技术的广泛应用,实现了针对微生物的单一基因或全基因组的分析。本研究针对 16S rDNA 的 V3、V4 区设计引物并进行了肠道微生物群的高通量测序,结果显示 DN 进展过程中,肠道菌群发生了明显改变,提示肠道菌群丰度和结构变化在 DN 发生、发展过程中扮演着重要角色。

本研究与大多 DN 动物模型不同,通过构建不同时间节点的 DN 大鼠模型,更能模拟人类 DN 发展过程。本研究中,各组模型动物均有糖尿病的症状表现,同时从建模成功后第 4 周开始模型大鼠肾功能指标显示肾脏已有损伤表现。重要的是,2 w、4 w、8 w 模型组大鼠肠道菌群丰度、多样性较正常对照组明显降低且菌群结构发生明显改变。这与部分研究结果相似^[12-13]。然而,12 w 模型组大鼠肠道菌群丰度、多样性较早期模型组反而有所增加,推测此时肠道菌群失调较前更严重,一些非高丰度菌群生长,反而增加了它们的检出率。这种明显差异在 PCoA 和 PCA 分析中也有体现,12 w 模型组与正常对照组距离最远。组内差异比较中,2 w、8 w 模型组组内样品的微生物组成结构相似度较低,需要增加研究标本量来消减这种组内差异,使组间比较更加准确。

目前认为 F/B 比值增加表明健康状况较差^[14],健康哺乳动物的 F/B 比值相对稳定,F/B 比值的改变

可能代表疾病状态。LI 等^[15]研究表明 DN 小鼠 F/B 比值下降,这与本研究 12 w 模型组的检测结果相同,而与 2 w、4 w、8 w 模型结果不同。可见疾病状态不能单根据 F/B 比值来判断。阿克曼菌是 2004 年由荷兰 Wageningen 从健康成人粪便中分离出来的。有研究发现阿克曼菌可明显降低高血糖小鼠的血糖水平^[16],在改善机体代谢状态方面潜力巨大^[17]。乙酸盐的循环水平与瘤胃菌科 UCG-005 属特异相关,而乙酸盐是结肠中最常见的由细菌形成的短链脂肪酸。LU 等^[18]发现,与健康对照组大鼠比较,DN 组大鼠肠道菌群异常,血浆乙酸盐水平升高。本研究发现 8 w、12 w 模型组阿克曼菌属相对丰度降低,瘤胃菌科 UCG-005 属相对丰度升高,这些与上述研究结果有所契合。

有研究表明,采用内源转录间隔区测序(internally transcribed spacer,ITS)肠道真菌代谢在宿主糖代谢稳态调控中具有重要作用,肠道真菌的复杂性随着糖代谢恶化程度加剧而明显增加,其中镰刀菌属(Fusarium)真菌可能通过影响血浆磷脂、氨基酸和有机酸类代谢物水平来调节胰岛素信号受体通路,从而加剧胰岛素抵抗^[19]。目前对于 DN 肠道菌群的报道大多局限于肠道细菌层面,但肠道真菌也是肠道菌群的重要组成部分,但其与 DN 的关系研究更少。

综上所述,不同饲养时间的 DN 模型大鼠肠道菌群相比健康大鼠出现了丰度结构的改变,表现为菌群多样性的降低和某些菌群的丰度变化,尤其是 8 w、12 w 模型组,如产生乙酸的瘤胃菌科 UCG-005 属丰度升高。DN 发生初期肠道菌群的变异性比后期更大,此时干预(如粪菌移植)是否有助于防御 DN 的发生、发展需要进一步探究。肠道菌群改变的探究有助于 DN 的发病机制研究,期望为 DN 的防治提供一些理论基础。

参考文献

- [1] BOUGHTON C K, TRIPYLA A, HARTNELL S, et al. Fully automated closed-loop glucose control compared with standard insulin therapy in adults with type 2 diabetes requiring dialysis; an open-label, randomized crossover trial[J]. *Nat Med*, 2021, 27(8):1471-1476.
- [2] SUN H, SAEEDI P, KARURANGA S, et al. IDF diabetes atlas: global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2022, 183:109119.
- [3] PAPADOPOULOU-MARKETOU N, PASCHOU S A, MARKETOS N, et al. Diabetic nephropathy in type 1 diabetes[J]. *Minerva Med*, 2018, 109(3):218-228.
- [4] HUANG W, ZHOU L, GUO H, et al. The role of short-chain fatty acids in kidney injury induced by gut-derived inflammatory response[J]. *Metabolism*, 2017, 68:20-30.
- [5] FERNANDEZ-PRADO R, ESTERAS R, PEREZ-GOMEZ M V, et al. Nutrients turned into toxins; microbiota modulation of nutrient properties in chronic kidney disease[J]. *Nutrients*, 2017, 9(5):489.
- [6] MAO Z, GAO Z, LIU D, et al. Gut microbiota and its metabolites: molecular mechanisms and management strategies in diabetic kidney disease[J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1124704.
- [7] HONDA K, LITTMAN D R. The microbiota in adaptive immune homeostasis and disease[J]. *Nature*, 2016, 535(7610):75-84.
- [8] BROWN E M, KENNY D J, XAVIER R J. Gut Microbiota regulation of T cells during inflammation and autoimmunity[J]. *Annu Rev Immunol*, 2019, 37:599-624.
- [9] ZHENG D, LIWINSKI T, ELINAV E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease[J]. *Cell Res*, 2020, 30(6):492-506.
- [10] ADAK A, KHAN M R. An insight into gut microbiota and its functionalities [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(3):473-493.
- [11] RAMEZANI A, MASSY Z A, MEIJERS B, et al. Role of the gut microbiome in uremia; a potential therapeutic target[J]. *Am J Kidney Dis*, 2016, 67(3):483-498.
- [12] STANFORD J, CHARLTON K, STEFOSKA-NEEDHAM A, et al. The gut microbiota profile of adults with kidney disease and kidney stones: a systematic review of the literature [J]. *BMC Nephrol*, 2020, 21(1):215.
- [13] TAO S, LI L, LI L, et al. Understanding the gut-kidney axis among biopsy-proven diabetic nephropathy, type 2 diabetes mellitus and healthy controls: an analysis of the gut microbiota composition[J]. *Acta Diabetol*, 2019, 56(5):581-592.
- [14] SPYCHALA M S, VENNA V R, JANDZINSKI M, et al. Age-related changes in the gut microbiota influence systemic inflammation and stroke outcome[J]. *Ann Neurol*, 2018, 84(1):23-36.
- [15] LI Y, SU X, GAO Y, et al. The potential role of the gut microbiota in modulating renal function in experimental diabetic nephropathy murine models established in same environment[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020, 1866(6):165764.
- [16] ZHANG Q, LINKE V, OVERMYER K A, et al. Genetic mapping of microbial and host traits reveals production of immunomodulatory lipids by *Akkermansia muciniphila* in the murine gut [J]. *Nat Microbiol*, 2023, 8(3):424-440.
- [17] DEPOMMIER C, EVERARD A, DRUART C, et al. Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers; a proof-of-concept exploratory study[J]. *Nat Med*, 2019, 25(7):1096-1103.
- [18] LU C, HU Z, WANG R, et al. Gut microbiota dysbiosis-induced activation of the intrarenal renin-angiotensin system is involved in kidney injuries in rat diabetic nephropathy [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41(8):1111-1118.
- [19] HE J, ZHAO Y, YANG J, et al. Enhanced interactions among gut mycobiomes with the deterioration of glycemic control[J]. *Med*, 2024, 5(8):909-925.