

# 高脂饮食对菌群人源化小鼠肠道菌群结构的影响

陈杏云<sup>1</sup>, 曾本华<sup>2</sup>, 魏泓<sup>2</sup>, 胡新中<sup>1,3,\*</sup>

(1.西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西 杨凌 712100; 2.第三军医大学基础部实验动物学教研室, 重庆 400038;

3.陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710062)

**摘要:** 采用高脂饮食建立肥胖菌群人源化(HFA)小鼠模型, 研究高脂饮食对HFA小鼠肠道微生态结构的影响, 探讨肥胖、饮食与肠道菌群之间的关系。将20只无菌小鼠接种健康人志愿者的粪便悬液构建HFA小鼠模型后分为普通组和高脂组, 分别用基础饲料和高脂饲料饲喂8周, 测定小鼠体质量、血糖血脂以及用PCR-DGGE方法检测肠道菌群的变化。结果显示: 与普通组HFA小鼠相比, 高脂组HFA小鼠体质量、肝质量、脂肪组织质量及血清中总甘油三酯水平显著增加( $P < 0.01$ ), 血糖水平也显著增加( $P < 0.05$ )。同时高脂组HFA小鼠肠道微生物多样性指数显著升高( $P < 0.05$ ), 正常优势菌群丰度降低, 零时刻的非优势菌群丰度增加, 测序结果表明高脂饮食可能会诱导HFA小鼠肠道内*Staphylococcus lentus*、*Staphylococcus vitulinus*和*Shigella flexneri*等有害菌生长繁殖。本实验采用高脂饮食成功建立起肥胖HFA小鼠模型并证实了高脂饮食明显改变HFA小鼠肠道菌群结构。肠道菌群组成和细菌丰度发生很大变化导致肠道微生态失调, 这提示人源性肠道菌群可能参与饮食结构失衡引起的肥胖的发展。

**关键词:** 无菌小鼠; 菌群人源化小鼠; 肠道菌群; 高脂饮食; 肥胖; PCR-DGGE

## Effect of High-fat Diet on the Structure of Gut Microbiota in Human Flora-associated Mice

CHEN Xing-yun<sup>1</sup>, ZENG Ben-hua<sup>2</sup>, WEI Hong<sup>2</sup>, HU Xin-zhong<sup>1,3,\*</sup>

(1. College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling 712100, China; 2. Department of Laboratory

Animal Science, College of Basic Medical Sciences, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China;

3. College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

**Abstract:** In order to explore the relationship among diet, obesity and intestinal microbiota, high-fat diet was used to establish obese human flora-associated (HFA) mouse model to investigate the effect of high fat diet on the structure of gut microbiota in HFA mice. Totally 20 pathogen-free mice were inoculated with fecal suspension derived from a healthy volunteer to obtain HFA mice. The HFA mice were fed a control or a high-fat diet for 8 weeks. Body weight, blood glucose and blood fat were determined and the change in gut microbiota was analyzed by PCR-DGGE. Results showed that body weight, liver weight, fat tissue weight and serum total triglyceride level revealed a significant increase ( $P < 0.01$ ) in the high-fat group when compared with the control group. Blood glucose level also increased significantly ( $P < 0.05$ ) in high-fat diet-fed HFA mice. The gut bacterial diversity index of the high-fat group significantly increased ( $P < 0.05$ ). The abundance of the dominant bacteria at zero time reduced, but the abundance of bacteria that were not dominant at zero time increased. DNA sequencing showed that high-fat diet may induce *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus vitulinus* and *Shigella flexneri* to bloom in the gut of HFA mice. An obese HFA mouse model was successfully established by feeding a high-fat diet and high-fat diet obviously altered the structure of gut microbiota in HFA mice. The composition and bacterial abundance of intestinal flora in high-fat diet-feed HFA mice greatly changed, leading to intestinal dysbacteriosis. It suggests that human-derived intestinal flora may be involved in the development of obesity caused by imbalanced dietary profile.

**Key words:** pathogen-free mice; human flora-associated mice; gut microbiota; high-fat diet; obesity; PCR-DGGE

中图分类号: TS201.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)17-0278-06

doi:10.7506/spkx1002-6630-201317059

收稿日期: 2012-10-12

基金项目: 国家燕麦荞麦产业技术体系建设项目(CARS-08-D1); 陕西省国际合作项目(2011KW-28);

国家“973”计划项目(2013CB531406); 西北农林科技大学国际平台项目

作者简介: 陈杏云(1989—), 女, 硕士研究生, 研究方向为谷物科学与营养。E-mail: beijiyou567@163.com

\*通信作者: 胡新中(1972—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为谷物科学。E-mail: hxinzhong@yahoo.com

人体胃肠道内定殖着种类繁多的微生物,主要定殖在结肠部位,其中包括至少1000多种总数高达1014个细菌<sup>[1]</sup>,被看作是人类的“第二基因组”。通过动物模型研究动物的肠道菌群对动物疾病、健康状况影响的方法已经得到广泛使用,但要研究人体肠道菌群对人类疾病、健康状况的影响却比较困难。这是因为用人体进行实验存在伦理道德风险,而且在人体研究肠道菌群很难控制饮食、环境及遗传因素导致人志愿者体内的实验结果往往具有很多不确定性。另外,实验动物的肠道菌群组成及代谢活性与人体肠道菌群的组成和代谢活性有明显差异<sup>[2]</sup>。因此,利用无菌动物接种人肠道菌群构建的菌群人源化(human flora-associated, HFA)动物可以为研究人肠道菌群生态系统及代谢提供一个更好的模型<sup>[3]</sup>。用HFA动物来研究某种特定膳食成分的改变对肠道菌群结构的影响已成为国际研究的重要手段。

肥胖与糖尿病、非酒精性脂肪肝、冠心病、动脉粥样硬化等多种代谢疾病关系密切,已成为现代社会重要健康问题之一。肥胖会使肠道内微生态环境发生改变,硬壁菌门(Firmicutes)细菌的比例增加,拟杆菌门(Bacteroidetes)细菌丰度降低<sup>[4]</sup>。肠道菌群影响着宿主的脂肪代谢和储存以及能量平衡的调控,肠道菌群可能是在饮食结构变化与遗传体质相互作用下致使肥胖及相关的代谢性疾病发生的一个重要中间环节。本研究拟用高脂饮食饲喂HFA小鼠,建立与人类肥胖最为接近的营养性肥胖模型,借助PCR-DGGE方法探索高脂饮食对HFA小鼠肠道菌群结构的影响,研究高脂饮食对肠道中哪些细菌有明显的影响作用,从微生态学角度探讨肠道菌群在高脂饮食诱导的肥胖发展中的动态变化及其原因,为以肠道菌群为靶点进行的膳食营养干预提供理论参考。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

基础饲料(热量值382.23kcal/100g)、高脂饲料(基础饲料75%,猪油15%、蔗糖5%、蛋黄粉5%,热量值463.93kcal/100g),均由第三军医大学大坪医院实验动物中心提供。

V6~V8区细菌引物、酚-氯仿-异戊醇(25:24:1, *V/V/V*)、去离子甲酰胺、尿素 生工生物工程(上海)股份有限公司; 50×Tris-乙酸-EDTA(TAE)缓冲液 上海捷瑞生物工程有限公司; Premix Taq<sup>®</sup> Version2.0 (Loading dye mix) 日本TaKaRa公司; Wilkins-Chalgren厌氧肉汤 英国Oxoid公司。

Bio-Rad Gel Doc 2000型凝胶成像系统、PTC-200型PCR仪、DCode<sup>™</sup> Universal Mutation Detection System 美国Bio-Rad公司; 高速冷冻离心机 日本

Hittachi公司; 超纯水仪 美国Millipore公司; Mini-Beadbeater<sup>™</sup>、直径为0.5mm的铅珠 美国Bio-Spec公司; NanoDrop<sup>®</sup> ND-1000 Spectrophotometer 美国Thermo Fisher公司; 无菌隔离器 苏州市冯氏实验动物设备有限公司。

### 1.2 实验动物与处理

#### 1.2.1 HFA小鼠的制备与饲养

20只无菌KM小鼠(3周龄,雌雄各半)第三军医大学基础部实验动物学教研室提供。收集1位健康志愿者(女,24岁,无消化道疾病,无代谢性疾病,3月内无服用抗生素)清晨第1次排出的新鲜粪便,在厌氧无菌条件下称质量,以质量比1:9加入Wilkins-Chalgren厌氧肉汤稀释,振荡混匀后获得粪便悬液。将20只无菌KM小鼠灌胃接种健康志愿者粪便悬液0.3mL,人肠道菌群在小鼠肠道内定殖3周后获得HFA小鼠<sup>[5]</sup>。

HFA小鼠饲养于无菌隔离器中,饲养环境为20~23℃,湿度为40%~70%,12h光照:12h黑暗。饲料和垫料均经过<sup>60</sup>Co-γ 50kGy射线辐照灭菌(第三军医大学辐照中心),饮水、鼠笼和饮水瓶等经过高温高压灭菌后传进无菌隔离器。

#### 1.2.2 HFA小鼠分组与处理

将20只HFA小鼠(6周龄,雌雄各半,体质量(30.1±1.1)g)随机分为2组:普通组和高脂组,每组10只。普通组饲喂基础饲料,高脂组饲喂高脂饲料。实验期间小鼠自由摄取饮水,饲喂8周,每周称量小鼠体质量。以逼迫法采集小鼠新鲜粪便样品,−80℃保存备用。

### 1.3 样本采集与分析测试

小鼠眼眶取血后处死,快速解剖取出肝脏组织、脂肪组织称质量。血清生化指标均由第三军医大学西南医院检验科检测。

### 1.4 粪便细菌总DNA的提取

取50mg粪便样品置于2mL螺口管中,加入700μL裂解缓冲液(500mmol/L NaCl、50mmol/L Tris-HCl、50mmol/L EDTA、4% SDS, pH8.0)、250μL 酚-氯仿-异戊醇和0.2g铅珠混匀,并将研磨管放入Mini-Beadbeater<sup>™</sup>,以最大转速研磨2min,4℃、12000r/min离心5min后,向上清液中加入250μL 10mol/L乙酸铵,离心后取上清液用酚-氯仿-异戊醇抽提2次和氯仿提取2次后,加入异丙醇−20℃放置30min后离心弃去上清,70%乙醇洗涤沉淀2次,自然风干后,加入50μL无菌ddH<sub>2</sub>O溶解DNA沉淀,加入10mg/mL 2μL RNase 37℃孵育15min。取2μL的DNA溶液于NanoDrop<sup>®</sup> ND-1000核酸定量仪中测定DNA纯度及含量。

### 1.5 PCR-DGGE

以16S rRNA的V6~V8可变区作为靶标进行PCR扩增。扩增引物序列为(上游引物:5'-CGCCC

GGGGCGCGCCCCGGGCGGGGCGGGGGCACGG  
GGGGAACGCGAAGAACCTTAC-3', 下游引物:  
5'-CGGTGTGTACAAGACCC-3'), 目的基因片段大小  
为489bp。PCR扩增反应体系(25μL): 包括1μL 100ng/μL  
DNA模板、12.5μL Premix Taq、上下游引物(10μmol/L)  
各0.5μL, 加无菌ddH<sub>2</sub>O至25μL。采用Touch-down PCR程  
序为: 94℃预变性5min; 94℃变性30s, 65℃退火30s,  
72℃延伸1min, 之后每1个循环退火温度下降0.5℃,  
共循环20次; 94℃变性30s, 56℃退火30s, 72℃延伸  
8min, 10个循环; 72℃终端延伸8min。

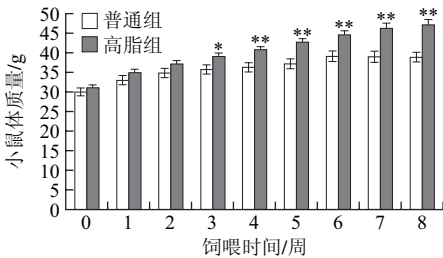
DGGE使用6%聚丙烯酰胺凝胶, 变性梯度为32%~56%  
(100%变性梯度包含40%去离子甲酰胺和7mol/L尿素)。电  
泳采用DCode™ Universal Mutation Detection System, 在  
恒温60℃ 1×TAE缓冲液中进行, 在85V的固定电压下电  
泳16h。电泳结束后, 进行硝酸银染色并拍照。将DGGE  
图谱上特殊条带割胶回收DNA后送生工生物工程(上海)  
股份有限公司测序, 将测序结果在GenBank数据库中  
BLAST, 找到亲缘关系最近的已知菌属。

1.6 统计处理

实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用SPSS 16.0进行统计学分  
析。DGGE凝胶用Quantity One (Bio-Rad)进行相似性分析  
和非加权平均距离(UPGMA)聚类分析。

2 结果与分析

2.1 高脂饮食对HFA小鼠体质量及脂肪沉积的影响



※. 差异显著( $P < 0.05$ ); ※※. 差异极显著( $P < 0.01$ )。下同。

图1 普通组和高脂组HFA小鼠体质量变化

Fig.1 Change in body weight of HFA mice from the control and high-fat-diet groups

由图1可知, 与普通组相比, 高脂组HFA小鼠体质量  
增长显著, 在整个实验期间一直保持体质量增长趋  
势, 而普通组HFA小鼠从第6周开始体质量趋于平稳。  
高脂组与普通组小鼠体质量在第3周已经有显著性差异  
( $P < 0.05$ ), 第4周有极显著性差异( $P < 0.01$ ), 经计算第8  
周高脂组HFA小鼠平均肥胖度达20.03%, 表明高脂饮食  
能显著增加HFA小鼠的体质量。

由表1可知, 高脂组HFA小鼠肝脏质量、附睾脂肪  
垫、腹部脂肪及双肾周脂肪质量均极显著高于普通组  
( $P < 0.01$ ), 表明高脂饮食能极显著增加HFA小鼠肝脏的  
质量, 同时显著影响HFA小鼠脂肪的沉积。

表1 普通组和高脂组HFA小鼠肝质量及脂肪组织质量

Table 1 Liver weight and adipose tissue of HFA mice from the control and high-fat-diet groups

组别	肝质量/g	附睾脂肪垫(雄鼠)质量/g	腹部脂肪(雌鼠)质量/g	双肾周脂肪质量/g
普通组	1.36±0.05	0.68±0.11	1.72±0.20	1.21±0.11
高脂组	1.66±0.02**	2.22±0.28**	3.40±0.10**	1.68±0.04**

注: ※. 与普通组相比, 差异显著( $P < 0.05$ ); ※※. 与普通组相比, 差异极  
显著( $P < 0.01$ )。下同。

2.2 高脂饮食对HFA小鼠血清生化指标的影响

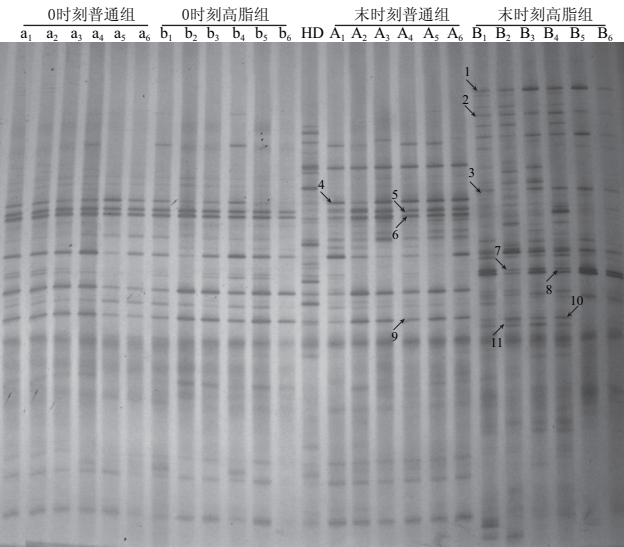
表2 普通组和高脂组HFA小鼠血清GLU、TG、TC、L-DLC及  
H-DLC的含量

Table 2 The contents of GLU, TG, TC, L-DLC and H-DLC in serum of HFA mice from the control and high-fat-diet groups

组别	GLU浓度/(mmol/L)	TG浓度/(mmol/L)	TC浓度/(mmol/L)	L-DLC浓度/(mmol/L)	H-DLC浓度/(mmol/L)
普通组	5.41±0.33	1.21±0.11	2.29±0.24	0.39±0.03	1.64±0.17
高脂组	6.71±0.28*	1.68±0.04**	3.10±0.38	0.49±0.06	2.45±0.31*

由表2可知, 高脂组HFA小鼠血清空腹血糖(GLU)、高密  
度脂蛋白胆固醇(H-DLC)含量均显著高于普通组( $P < 0.05$ ),  
总甘油三酯(TG)含量极显著高于普通组( $P < 0.01$ ), 总胆固醇  
(TC)含量、低密度脂蛋白胆固醇(L-DLC)含量也均高于  
普通组, 但差异不显著。高脂饮食能显著提高HFA小鼠  
血清中GLU、TG和H-DLC的水平, 但是对血清中TC和  
L-DLC水平的提高没有显著影响。

2.3 高脂饮食对HFA小鼠肠道菌群的影响



HD. 人志愿者; 每组实验取6只小鼠, 分别  
标记为a<sub>1</sub>~a<sub>6</sub>、b<sub>1</sub>~b<sub>6</sub>、A<sub>1</sub>~A<sub>6</sub>、B<sub>1</sub>~B<sub>6</sub>。

图2 普通组和高脂组HFA小鼠肠道菌群DGGE图谱

Fig.2 DGGE profile of gut microbiota for HFA mice from the control and high-fat-diet groups

由图2可知, 4、5、6、9号条带在末时刻高脂组中  
信号变弱甚至消失, 说明高脂饮食导致这几种正常优势  
细菌数量减少, 测序结果表明4、5、6、9号条带可能均  
为*Escherichia fergusonii*、*Escherichia coli*、*Escherichia*



*albertii*、*Escherichia coli*，相似性分别为98%、98%、99%和99%(表3)，提示*Escherichia* sp.是正常HFA小鼠肠道内正常优势菌群；7、8号条带在末时刻普通组变的很浅，但在高脂组信号变强，测序结果表明7、8号条带可能是*Shigella flexneri*和*Citrobacter youngae*，相似性分别为98%和99%，提示高脂饮食能强烈促进这两种细菌在肠道内的繁殖；1、2、3、10、11号条带仅在高脂组中出现，提示高脂饮食能诱导促进这几种细菌的生长与增殖。测序结果表明1、2、3、10、11号条带可能是*Staphylococcus lentus*、*Staphylococcus vitulinus*、*Enterobacter cloacae*、*Clostridium populeti*、*Ruminococcus torques*，相似性分别为100%、99%、98%、90%、92%。

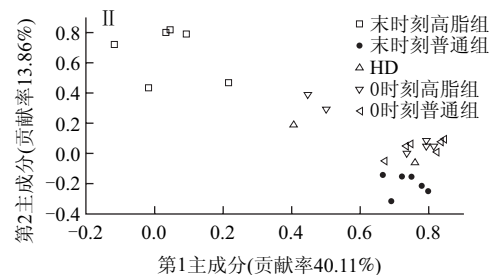
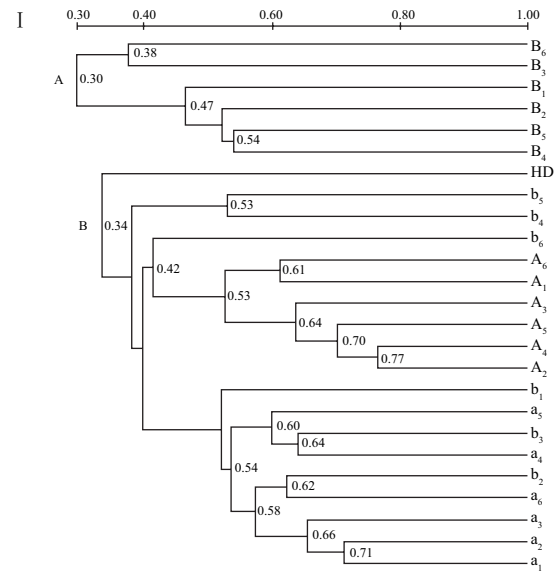
表3 DGGE图谱中特异条带的测序比对结果

Table 3 Comparison and sequences of specific bands in DGGE profile

条带编号	比对结果	GenBank序列提交号	相似性/%
1	<i>Staphylococcus lentus</i>	KC148572	100
2	<i>Staphylococcus vitulinus</i>	KC148573	99
3	<i>Enterobacter cloacae</i>	KC148574	98
4	<i>Escherichia fergusonii</i>	KC148575	98
5	<i>Escherichia coli</i>	KC148576	99
6	<i>Escherichia albertii</i>	KC148577	96
7	<i>Shigella flexneri</i>	KC148578	98
8	<i>Citrobacter youngae</i>	KC148579	99
9	<i>Escherichia coli</i>	KC148580	99
10	<i>Clostridium populeti</i>	KC148581	90
11	<i>Ruminococcus torques</i>	KC148582	92

图3 I 为普通组和高脂组HFA小鼠肠道菌群DGGE图谱的UPGMA相似性聚类分析图，从聚类分析图上可看出主要聚为A和B两大簇，其中A簇为末时刻高脂组，B簇为HD、0时刻普通组、0时刻高脂组及末时刻普通组。从A簇中可看出饲喂8周后，高脂组内小鼠肠道菌群相似度为30%~54%。从B簇中可看出，HFA小鼠与人志愿者肠道菌群的总相似度为34%，HFA小鼠之间相似度为42%~77%；饲喂8周后普通组HFA小鼠肠道菌群相似度为53%~77%，明显高于高脂组。PCA分析图(图3 II)也很好说明了这一点，从PCA分析图可看出0时刻普通组和末时刻普通组以及0时刻高脂组数据大部分密集地聚集在一起，表明组内及组间相似性较高，而末时刻高脂组数据和其他组数据明显分开，且组内数据分布较松散，表明末时刻高脂组个体相似性变低，组内个体之间肠道菌群差异性变大。

对V6~V8区DGGE图谱进行多样性分析(表4)，结果表明：在0时刻时，普通组和高脂组HFA小鼠肠道菌群DGGE图谱中条带数量、Shannon指数、均匀度以及丰富度均没有显著差异，即0时刻时两组小鼠之间肠道菌群多样性没有显著差异；当饲喂8周后，高脂组HFA小鼠肠道菌群DGGE图谱中条带数量、Shannon指数、均匀度以及丰富度均显著高于普通组( $P<0.05$ )，即高脂组HFA小鼠肠道微生态多样性明显高于普通组。



I. UPGMA相似性聚类分析；II. 主成分分析(PCA)。

图3 普通组和高脂组HFA小鼠肠道菌群DGGE图谱分析

Fig.3 DGGE profile analysis of gut microbiota for HFA mice from the control and high-fat-diet groups

表4 普通组和高脂组HFA小鼠总菌DGGE图谱多样性指数分析

Table 4 Diversity index based on DGGE profile of HFA mice from the control and high-fat-diet groups

组别	饲喂时间	条带数n	Shannon指数	均匀度	丰富度
普通组	0周	20.7±1.4	2.68±0.10	0.65±0.02	4.49±0.33
高脂组	0周	22.0±1.1	2.74±0.05	0.66±0.01	5.05±0.27
普通组	8周	23.8±0.3	2.74±0.05	0.66±0.01	5.49±0.07
高脂组	8周	31.5±2.6*	3.01±0.06*	0.72±0.01*	7.33±0.64*

### 3 讨论与结论

许多因素例如遗传、体力活动、环境以及饮食的选择都在肥胖的发生发展中发挥了重要的作用<sup>[6]</sup>，而高脂饮食诱导是肥胖产生的重要原因。越来越多的研究表明，肠道菌群在肥胖的发展中扮演了重要的角色<sup>[6-9]</sup>，因此本实验利用高脂饮食诱导构建营养性肥胖模型研究肠道菌群与营养性肥胖之间的联系。利用动物模型模拟人类疾病是研究人类疾病病因及发病机制的重要方法之一，但动物与人的肠道菌群和代谢活性有明显差异，因此本实

验将无菌小鼠接种健康人志愿者粪便构建菌群人源化动物模型,总相似性为34%,说明HFA动物能部分模拟人的肠道菌群,可成为比普通动物更具优势的肠道微生态方面的研究对象。

本实验用高脂饲料饲喂HFA小鼠8周后,HFA小鼠体质量、肝质量、附睾脂肪垫质量、腹部脂肪质量及双肾周脂肪质量增加极为显著( $P<0.01$ ),血清总甘油三酯水平也显著升高( $P<0.01$ ),高脂组HFA小鼠呈现出明显的肥胖状态。人类肥胖判定标准为肥胖度 $>20\%$ ,本研究中高脂组HFA小鼠肥胖度达20.03%,达到该判定标准,表明本研究成功建立营养性肥胖HFA小鼠模型。但是本实验中高脂组HFA小鼠血清高密度脂蛋白胆固醇水平较普通组有显著升高( $P<0.05$ ),这与其他相关的动物实验结果报道不一致,可能是因为本实验中无菌动物经菌群人源化后,其高密度脂蛋白胆固醇代谢活性与普通动物具有一定差异。此外,高脂组HFA小鼠空腹血糖水平显著升高( $P<0.05$ ),提示高脂饮食诱导肥胖的同时,有并发糖尿病的趋势。

本研究中普通组HFA小鼠在饲喂8周后,肠道菌群多样性没有显著性变化,且组内相似性仍较高,表明正常饮食可以使HFA小鼠模型的肠道菌群在较长时间内保存相对稳定。而高脂组HFA小鼠在饲喂8周后,肠道菌群结构发生了明显变化,主要表现为0时刻时的优势菌群细菌丰度减少,而0时刻非优势菌群细菌丰度反而增加,组内个体差异性变大,相似性降低。高脂组总条带数目显著增加( $P<0.05$ ),肠道微生物多样性显著增加( $P<0.05$ ),提示高脂组HFA小鼠肠道微生物种类可能多于普通HFA小鼠,这可能与肥胖个体肠道内细菌过度生长可能性较高有关<sup>[10]</sup>。Tumbaugh等<sup>[11]</sup>比较一对肥胖人类双胞胎和一对消瘦人类双胞胎的肠道菌群多样性,发现肥胖人类双胞胎的肠道菌群多样性低于消瘦人类双胞胎,但本实验中高脂组HFA小鼠肠道菌群多样性反而增加,这可能是由于人体实验和动物实验的差异性所致,也可能跟菌群来源不一致有关。从聚类分析图上可看出末时刻的高脂组数据单独成簇,这与Neyrinck等<sup>[12]</sup>用高脂饮食诱导C57b16/J小鼠的DGGE结果一致,说明经高脂饮食诱导后HFA小鼠肠道菌群发生偏移。对DGGE图谱上特异条带进行割胶回收测序,结果表明高脂组HFA小鼠肠道内*Staphylococcus lentus*、*Staphylococcus vitulinus*和*Shigella flexneri*丰度增加,提示这几种肠道菌在高脂饮食环境下更具有竞争力。*Staphylococcus lentus*和*Staphylococcus vitulinus*均是葡萄球菌中的一种,属于硬壁菌门,葡萄球菌是最常见的化脓性球菌。有研究发现*Staphylococcus lentus*具有致病性,致病性实验表明,该分离菌株可引起实验小鼠的慢性死亡<sup>[13]</sup>;*Shigella flexneri*是革兰氏阴性

菌,是人类细菌性痢疾最为常见的病原菌<sup>[14]</sup>,提示高脂饮食使肠道中有害菌数量增多。这些结果说明高脂饮食诱导显著改变HFA小鼠肠道菌群结构,这与国外科学家所做的HFA小鼠模型相关研究结果一致<sup>[15]</sup>,也与普通动物模型的相关研究结果相一致<sup>[16-18]</sup>。

Canli等<sup>[19]</sup>提出肠道菌群结构的变化即生态失调参与了肥胖的发展。肥胖是一种以低度慢性炎症为特征的代谢性疾病。肠道细菌中革兰氏阴性菌产生的细菌脂多糖(LPS,又称细菌内毒素)是代谢失调的触发因子。革兰氏阴性菌细胞壁成分——LPS在细菌死亡后被释放到肠腔内,并通过破损的肠道黏膜进入血液,与机体免疫巨噬细胞的表面蛋白受体CD14结合,激活免疫细胞表达出更多的炎症因子,从而加重机体慢性炎症<sup>[20]</sup>。也有研究者认为肠道菌群结构失调后通过NF- $\kappa$ B/IKK $\beta$ 和JNK等途径促进炎症细胞因子的分泌,引发慢性炎症,从而诱导肥胖的产生<sup>[21]</sup>。

综上所述,本研究结果显示高脂饮食可成功建立营养性肥胖HFA小鼠模型,同时证实高脂饮食明显改变了HFA小鼠肠道菌群结构,肠道菌群组成和细菌丰度发生很大变化,导致肠道微生态失调,提示人源性肠道菌群可能参与饮食结构失衡引起的肥胖的发展。

#### 参考文献:

- [1] VENTURA M, TURRONI F, CANCHAYA C, et al. Microbial diversity in the human intestine and novel insights from metagenomics[J]. *Frontiers in Bioscience*, 2009, 14(1): 3214-3221.
- [2] HIRAYAMA K, ITOH K, TAKAHASHI E, et al. Comparison of composition of faecal microbiota and metabolism of faecal bacteria among "human-flora-associated" mice inoculated with faeces from six different human donors[J]. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 1995, 8(5): 199-211.
- [3] HIRAYAMA K, ITOH K. Human flora-associated(HFA) animals as a model for studying the role of intestinal flora in human health and disease[J]. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 2005, 6(2): 69-75.
- [4] LEY R E, BACKHED F, TURNBAUGH P, et al. Obesity alters gut microbial ecology[C]// *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America*, 2005, 102(31): 11071-11075.
- [5] HIRAYAMA K. Ex-germfree mice harboring intestinal microbiota derived from other animal species as an experimental model for ecology and metabolism of intestinal bacteria[J]. *Experimental Animals*, 1999, 48(4): 219-227.
- [6] DELZENNE N M, CANI P D. Interaction between obesity and the gut microbiota: relevance in nutrition[J]. *Annual Review of Nutrition*, 2010, 31(21): 15-31.
- [7] TILG H, MOSCHEN A R, KASER A. Obesity and the microbiota[J]. *Gastroenterology*, 2009, 136(5): 1476-1483.
- [8] BACKHED F, HAO Ding, GORDON J I, et al. The gut microta as an environmental factor that regulates fat storage[C]// *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America*, 2004, 101(44): 15718-15723.

- [9] CANI P D, BIBILONI R, KNAUF C, et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice[J]. *Diabetes*, 2008, 57(6): 1470-1481.
- [10] 张晨虹, 赵立平. 肠道菌群在肥胖及相关的代谢性疾病发生发展中的地位 and 作用[J]. *生命科学*, 2007(3): 75-80.
- [11] TURNBAUGH P J, HAMADY M, YATSUNENKO T, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins[J]. *Nature*, 2009, 457(22): 480-485.
- [12] NEYRINCK A M, POSSEMIERS S, VERSTRAETE W, et al. Dietary modulation of clostridial cluster XIVa gut bacteria (*Roseburia* spp.) by chitin-glucan fiber improves host metabolic alterations induced by high-fat diet in mice[J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2012, 23(1): 51-59.
- [13] 刘富来, 冯翠兰. 猪源缓慢葡萄球菌的分离鉴定及致病性研究[J]. *中国动物检疫*, 2011, 28(4): 56-58.
- [14] 刘志恒. 现代微生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2008: 150-151.
- [15] TURNBAUGH P J, RIDAURA V K, FAITH J J, et al. The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice[J]. *Science Translational Medicine*, 2009, 1(6): 6ra14.
- [16] 曹宏芳, 张家超, 王芳, 等. 高脂饮食对雄性SD大鼠肠道菌群的影响[J]. *中国微生态学杂志*, 2012, 24(2): 102-108.
- [17] 刘雪姬, 陈庆森, 闫亚丽. 高脂饮食对小鼠肠道菌群的影响[J]. *食品科学*, 2011, 32(23): 306-311.
- [18] de la SERRE C B, ELLIS C L, LEE J, et al. Propensity to high-fat diet-induced obesity in rats is associated with changes in the gut microbiota and gut inflammation[J]. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2010, 299(2): G440-G448.
- [19] CANI P D, DELZENNE N M. Interplay between obesity and associated metabolic disorders: new insights into the gut microbiota[J]. *Current Opinion in Pharmacology*, 2009, 9(6): 737-743.
- [20] WELLEN K E, HOTAMISLIGIL G S. Inflammation, stress, and diabetes[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2005, 115(5): 1111-1119.
- [21] SANZ Y, SANTACRUZ A, de PALMA G. Insights into the roles of gut microbes in obesity[J]. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2008, 2008: 1-9. doi: 10.1155/2008/829101.