

• 消化系统疾病精准诊疗专题 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2025. 21. 003

基于肠道菌群、SCFAs、GPR43 研究甘草酸二铵改善小鼠代谢相关脂肪酸肝病的机制^{*}

刘晓丹¹, 曹海龙², 刘俊¹, 刘天宇², 路程¹, 董骏铭¹, 杜平¹, 韩旭鹤¹, 王立新¹, 李云^{3△}

1. 天津市第二人民医院药剂科, 天津 300192; 2. 天津医科大学总医院消化科, 天津 300052;
3. 天津医科大学总医院药剂科, 天津 300052

摘要:目的 探讨甘草酸二铵(DG)通过调节肠道菌群、调控短链脂肪酸(SCFAs)及其受体 G 蛋白偶联受体 43(GPR43)来改善小鼠代谢相关脂肪性肝病(MAFLD)的机制。方法 选取 30 只 C57BL/6J 雄性小鼠随机分为对照组(NCD)、高脂饮食与生理盐水组(HFD)和高脂饮食加 DG 组(HFD-DG), 每组 10 只。NCD 饲喂普通饲料; HFD 饲喂高脂饲料, 并且每隔 1 d 静脉推注生理盐水; HFD-DG 饲喂高脂饲料, 每隔 1 d 静脉推注 DG。在处死小鼠前 1 d 收集所有小鼠新鲜粪便样本, 饲喂 12 周后采集所有小鼠眶下静脉血、肝脏组织、结肠组织和盲肠内容物用于后续检测。统计小鼠体重质量增长率, 采用全自动生化分析仪检测小鼠眶下静脉血清肝功能指标[天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)]及血脂指标[甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)]。16S 核糖体 RNA 测序分析小鼠新鲜粪便样本中肠道菌群的丰度和结构。采用气相色谱法检测盲肠内容物中 SCFAs(乙酸、丙酸、丁酸)水平。采用蛋白质印迹法检测结肠组织 NOD 样受体热蛋白结构域蛋白 3(NLRP3)、GPR43 蛋白表达水平。**结果** HFD 体质量增长率及血清 TG、TC、LDL-C、HDL-C 水平高于 NCD, HFD-DG 体质量增长率及血清 TG、TC、LDL-C 水平低于 HFD, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。HFD 血清 ALT、AST 水平高于 NCD 和 HFD-DG, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。HFD 新鲜粪便样本 Chao1、Observed species、Shannon、Simpson 指数低于 NCD, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。HFD-DG 新鲜粪便样本 Shannon 指数高于 HFD($P<0.05$)。HFD-DG 新鲜粪便样本 Chao1、Observed species 及 Shannon 指数低于 NCD($P<0.05$)。HFD 肠道厚壁菌门相对丰度高于 NCD, 拟杆菌门和变形菌门相对丰度低于 NCD, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。HFD-DG 肠道变形菌门相对丰度高于 HFD($P<0.05$)。HFD 肠道异杆菌属和脱硫弧菌属相对丰度高于 NCD, 乳杆菌属和阿德勒克罗伊茨菌属相对丰度低于 NCD, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。HFD-DG 异杆菌属和脱硫弧菌属相对丰度低于 HFD, 乳杆菌属和阿德勒克罗伊茨菌属相对丰度高于 HFD, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。HFD 盲肠内容物丁酸水平低于 NCD($P<0.05$)。HFD-DG 盲肠内容物丁酸水平高于 HFD($P<0.05$)。HFD 结肠组织 GPR43 蛋白和 NLRP3 蛋白表达水平高于 NCD, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。HFD-DG 结肠组织 GPR43 蛋白和 NLRP3 蛋白表达水平低于 HFD, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** DG 可能通过重塑肠道菌群结构、调节 SCFAs-GPR43 信号通路减轻肝脏脂质沉积及炎症反应, 为治疗 MAFLD 提供了潜在干预靶点及理论依据。

关键词:代谢相关脂肪性肝病; 肠道菌群; 甘草酸二铵; 短链脂肪酸; 受体 G 蛋白偶联受体 43

中图法分类号: R575; R446.1 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2025)21-2892-11

The mechanism by which diammonium glycyrrhizinate improves metabolic-related fatty acid liver disease in mice was studied based on intestinal flora, SCFAs and GPR43^{*}

LIU Xiaodan¹, CAO Hailong², LIU Jun¹, LIU Tianyu², LU Cheng¹, DONG Junming¹,
DU Ping¹, HAN Xuhe¹, WANG Lixin¹, LI Yun^{3△}

1. Department of Pharmacy, Tianjin Second People's Hospital, Tianjin 300192, China;
2. Department of Gastroenterology, General Hospital, Tianjin Medical University,
Tianjin 300052, China; 3. Department of Pharmacy, General Hospital, Tianjin
Medical University, Tianjin 300052, China

Abstract: Objective To explore the mechanism by which diammonium glycyrrhizate (DG) ameliorates

^{*} 基金项目: 天津市卫生健康科技项目(TJWJ2022MS039、TJWJ2022QN010)。
作者简介: 刘晓丹, 女, 主管药师, 主要从事消化系统药理学方向的研究。△ 通信作者, E-mail: 15210690439@163.com。
引用格式: 刘晓丹, 曹海龙, 刘俊, 等. 基于肠道菌群、SCFAs、GPR43 研究甘草酸二铵改善小鼠代谢相关脂肪酸肝病的机制[J]. 检验医学与临床, 2025, 22(21): 2892-2901.

metabolic associated fatty liver disease (MAFLD) in mice by regulating gut microbiota, short chain fatty acids (SCFAs), and G protein-coupled receptor 43 (GPR43). **Methods** A total of thirty male C57BL/6J mice were randomly divided into three groups, the control group (NCD), high-fat diet with normal saline group (HFD), and high-fat diet with DG group (HFD-DG), with 10 rats in each group. The NCD group was fed regular diet, while the HFD group received a high-fat diet supplemented with daily intravenous saline. The HFD-DG group was also given a high-fat diet but received daily intravenous DG. Fresh fecal samples were collected 1 d before the sacrificing the mice. After 12 weeks of feeding, blood samples from the suborbital vein, liver tissue, colon tissue and cecal contents were collected for subsequent analyses. Body mass growth rates were calculated using automated biochemical analyzers. Serum liver function indicators [aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT)] and blood lipid levels [triglycerides (TG), total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C)] were measured. 16S ribosomal RNA sequencing was performed to analyze gut microbiota abundance and composition in fresh fecal samples. Gas chromatography was used to detect SCFAs (acetic acid, propionic acid, butyric acid) in cecal contents, while Western blotting assessed the expression levels of Nod-like receptor thermal protein domain protein 3 (NLRP3) and GPR43 proteins in colon tissues. **Results** The body mass gain rate and serum levels of TG, TC, LDL-C and HDL-C in the HFD were significantly higher than those in the NCD, and the body mass gain rate and serum levels of TG, TC, and LDL-C in HFD-DG were significantly lower than those in HFD, with statistically significant differences ($P < 0.05$). The ALT and AST levels in the HFD were also statistically higher than those in both the NCD and HFD-DG, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Fresh fecal samples from the HFD showed lower Chao1, Observed species, Shannon and Simpson indices compared to the NCD, with statistically significant differences ($P < 0.05$). Shannon indice of fresh fecal samples of HFD-DG was higher than that of HFD ($P < 0.05$). The Chao1, Observed species and Shannon indices of HFD-DG were lower than those of NCD, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The relative abundance of Firmicutes in the HFD was significantly higher than that in the NCD ($P < 0.05$), while Bacteroidetes and Proteobacteria showed lower abundance ($P < 0.05$). The relative abundance of Proteobacteria in the HFD-DG was higher than in HFD, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Allobaculum and Desulfovibrio demonstrated higher abundance in HFD compared to NCD, whereas Lactobacillus and Adlercreutzia were lower, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Conversely, Allobaculum and Desulfovibrio showed lower abundance in HFD-DG than those in HFD, while Lactobacillus and Adlercreutzia were higher, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The levels of butyric acid in HFD cecal contents was statistically lower than that in NCD, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$), while HFD-DG exhibited higher levels of butyric acid compared to HFD ($P < 0.05$). Colonic tissue expression levels of GPR43 and NLRP3 proteins were significantly higher in HFD than NCD ($P < 0.05$), whereas in HFD-DG, these proteins were lower than HFD ($P < 0.05$). **Conclusion** DG may reduce hepatic lipid deposition and inflammatory response by remodeling gut microbiota structure and regulating the SCFAs-GPR43 signaling pathway, which provides potential intervention targets and theoretical basis for the treatment of MAFLD.

Key words: metabolic associated fatty liver disease; gut microbiota; diammonium glycyrrhizate; short-chain fatty acid; G protein-coupled receptor 43

代谢相关脂肪性肝病(MAFLD)又称为非酒精性脂肪性肝病,已发展为世界范围内慢性肝病的常见类型,目前将 MAFLD 定义为超过 5% 的肝细胞脂肪变性,合并肥胖、2 型糖尿病为 MAFLD 发病的危险因素^[1]。目前随着全球代谢综合征流行,MAFLD 的总患病率已达 25%^[2],且还有继续升高的趋势^[3-4]。根据组织学特征可将 MAFLD 分为非酒精性脂肪肝(NAFL)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH),NAFL 以

脂肪变性为特征,可能伴有轻度小叶炎症。NASH 的特征为肝细胞脂肪变性之外的炎症和纤维化。NAFL 可发展为 NASH,如果不及时加以治疗,最终可能发展为肝硬化、肝细胞癌甚至会有死亡风险^[5-6]。因此,探讨 MAFLD 的发病机制和新的治疗方法具有重要意义。

目前,MAFLD 的发病机制尚不完全明确,越来越多关于肠-肝轴的研究强调了肠道微生物群与

MAFLD 的发生、发展密切相关^[7-8]。肠道微生物群是由数万亿的细菌、真菌、病毒等微生物构成的复杂生态系统,其在消化、维生素合成和调节免疫系统等方面发挥着重要作用^[9]。研究发现,MAFLD 患者通常伴随着肠道微生态失调和肠道屏障功能受损^[10],导致部分细菌及其代谢产物,如短链脂肪酸(SCFAs),通过肠-肝轴进入肝脏,引起局部或系统性免疫反应^[11],SCFAs 还可通过调节 G 蛋白偶联受体(GPRs)影响肝脏组织的代谢和免疫功能^[12]。还有研究发现,肠道菌群、SCFAs 及 GPRs 在 MAFLD 的发病中发挥关键作用^[13-14]。因此,调节肠道菌群已成为 MAFLD 机制研究中不可忽视的重要角色,同时,调节肠道菌群被认为是治疗 MAFLD 的一种潜在策略。

甘草酸二铵(DG)是甘草酸的二元铵盐,甘草酸是从中药甘草根中提取的主要皂苷和有效成分^[15]。越来越多的研究表明,甘草酸可以通过调节肠道菌群及其代谢物,减少肝脏脂肪堆积及减轻相关代谢功能障碍^[16-17],DG 因其比甘草酸具有更好的水溶性和更强的作用效果及更少的不良反应而被广泛研究^[18]。DG 除了具有抗炎症、抗病毒和免疫调节等多种功能外^[19-20],在各种慢性病毒性肝炎、脂肪性肝病和药物性肝损伤中也发挥着肝脏保护作用^[21]。近年来,DG 的抗肥胖作用在小鼠模型研究中得到证实^[22],同时发现 DG 可通过调节肠道菌群发挥抗 MAFLD 的作用^[23]。然而,DG 如何通过菌群代谢物 SCFAs 及其 G 蛋白偶联受体 43(GPR43)调控肝脂质代谢与炎症反应,具体分子机制仍有待揭示。为此,本研究构建了高脂饮食诱导的 MAFLD 小鼠模型,从肠道菌群-SCFAs-GPR43 轴切入,深入解析 DG 的作用机制。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 30 只 6 周龄的 C57BL/6J 雄性小鼠,平均体质量为 (20 ± 2) g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司,实验动物生产许可证号为 SCXK(京)2019-0008。动物饲养在特定病原体无菌(SPF)条件下,温度为 $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$,相对湿度为 $(50\pm 10)\%$,并且进行 12 h 的光/暗循环,小鼠可以自由饮水。动物的喂养和实验于天津医科大学总医院完成,并已获得天津医科大学总医院动物伦理委员会审核批准(IRB2022-DWFL-353)。高脂饲料(货号:H10060)含 20% 的蛋白质、20% 的碳水化合物和 60% 的脂肪,普通饲料(货号:H10010)含 20% 的蛋白质、70% 的碳水化合物和 10% 的脂肪,均购自北京华阜康生物科技股份有限公司。

1.2 仪器与试剂 全自动生化分析仪(日本日立公司)、台式高速冷冻型微量离心机(美国 Scilogex 公司)、酶标仪(美国 BioTek 公司)、荧光化学发光凝胶成像系统(上海勤翔科学仪器有限公司)、Microfuge 20R 型离心机(美国 Beckman 公司)、Vortex-Genie 2

型微型漩涡混合器(美国 Scilogex Industries 公司)、BBX24B 型匀浆机(美国 Next Advance 公司)、光学显微镜(德国莱卡公司)、XSR105DU/A 型电子分析天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司)、Mill-Q II 型超纯水器(美国 Milipore 公司)、Pegasus BT 气相色谱-飞行时间质谱联用仪(美国 LECO 公司)、NC2000 分光光度计(美国赛默飞世尔科技有限公司)。DG 原料药购自正大天晴(江苏)医药有限公司(批号:200116),天冬氨酸氨基转移酶(AST,批号:C010-1-1)、丙氨酸氨基转移酶(ALT,批号:C009-1-1)、甘油三酯(TG,批号:A110-1-1)、总胆固醇(TC,批号:F002-1-1)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C,批号:A113-1-1)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C,批号:A112-1-1)试剂盒均购自南京建成生物工程研究所;乙酸(批号:A6283)、丙酸(批号:W292419)、丁酸(批号:W222110)试剂盒均购自 Supelco 公司;兔抗小鼠 NOD 样受体热蛋白结构域蛋白 3(NLRP3)抗体(批号:YT5382)、兔抗小鼠 GPR43 抗体(批号:bs-23786R)、抗 GAPDH 抗体(批号:ab8245)、抗兔 IgG-辣根过氧化物酶(HRP,批号:S2001)均购自天津鹏海兄弟科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 动物实验与分组 30 只小鼠经过 1 周的正常饮食适应后,被随机分为对照组(NCD)、高脂饮食与生理盐水组(HFD)和高脂饮食加 DG 组(HFD-DG),每组 10 只。参考文献[22],取 HFD 和 HFD-DG 大鼠进行 MAFLD 模型构建,并建模成功。NCD 饲喂普通饲料;HFD 饲喂高脂饲料,并且每隔 1 d 静脉推注生理盐水(0.3 mL);HFD-DG 饲喂高脂饲料,每隔 1 d 静脉推注 DG(150 mg/kg)。3 组均饲喂 12 周。

1.3.2 体质量增长率统计 统计所有小鼠饲养前及饲养 12 周后的体质量,计算体质量增长率。体质量增长率=(饲养 12 周后体质量-饲养前体质量)/饲养前体质量 $\times 100\%$ 。

1.3.3 样本提取 12 周后,所有小鼠禁食不禁水 12 h,麻醉处死后摘取眼球,收集眶下静脉血,在常温下,以 $3\,500\times g$ 离心 10 min,分离血清用于后续生化分析。收集所有小鼠肝脏组织、结肠组织和盲肠内容物,部分肝脏被保存在 4% 多聚甲醛中,供后续病理评估。剩余脏器立即在液氮中冷冻后置于 -80°C 冰箱中保存,待后续提取蛋白质及 SCFAs 做进一步分析。处死小鼠前 1 d 收集小鼠新鲜粪便样本,置于无菌 EP 管中,放置液氮中冷冻 30 s 后置于 -80°C 冰箱保存,后续进行肠道菌群分析。

1.3.4 肝脏组织病理学观察 将肝脏组织放在 4% 的多聚甲醛中浸泡 24 h,切成 $4\,\mu\text{m}$ 的组织切片并用石蜡固定。所有组织均用石蜡包埋,脱蜡并脱水,然后对所有切片进行了苏木精-伊红(HE)染色,并在光学显微镜下鉴定肝脂肪变性。

1.3.5 血清肝功能及血脂指标检测 使用全自动生化分析仪检测小鼠眶下静脉血清肝功能指标 (AST、ALT) 及血脂指标 (LDL-C、HDL-C、TG、TC)。检测前对血清样本进行质量评估,排除溶血样本(因溶血释放的血红蛋白会抑制 ALT、AST 酶反应,干扰检测结果)。部分进行高脂饮食的小鼠因肝脏损伤可能导致红细胞脆性增加,麻醉处死取血时偶发溶血,最终每组仅 8 份血清样本符合“无溶血、酶活性检测稳定”标准,故肝功能指标 (AST、ALT) 检测有效样本量为 8。血脂指标 (LDL-C、HDL-C、TG、TC) 检测使用无溶血的 10 份样本。

1.3.6 肠道菌群测序 通过 16S 核糖体 RNA (rRNA) 分析小鼠新鲜粪便样本中菌群的丰度和结构。使用 OMEGA 土壤 DNA 试剂盒 (M5635-02) 提取样本总基因组 DNA,存储在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境中。利用 NanoDrop NC2000 分光光度计和琼脂糖凝胶电泳分别测量提取的 DNA 数量和质量。测序前需额外进行样本质量控制:(1)粪便样本量 $\geq 50\text{ mg}$ 且无外界污染(如取材时避免接触鼠笼垫料);(2)DNA 提取后浓度 $\geq 10\text{ ng}/\mu\text{L}$ [以满足聚合酶链反应 (PCR) 扩增需求]。部分小鼠粪便样本因“量不足 ($< 50\text{ mg}$)”或“DNA 提取后浓度 $< 10\text{ ng}/\mu\text{L}$ ”被排除,最终每组仅 5 份样本符合测序标准,有效样本量为 5。对细菌 16S rRNA 基因 V3 ~ V4 区的正向引物 (5'-ACTC-CTACGGGAGGCAGCA-3') 和反向引物 (5'-GGAC-TACHVGGGTWTCTAAT-3') 进行 PCR 扩增。引物中包含样本特异性的 7 个碱基条形码,用于多重测序。热循环程序:在 $98\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境下进行 5 min 的初始变性,然后进行 25 个循环,每个循环在 $98\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境下变性 30 s, $53\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,最后在 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境下进行 45 s 的延伸,并在 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境下进行 5 min 的最终延伸。PCR 扩增产物使用 Vazyme VAHTSTM DNA 清洁珠进行纯化,并使用 Quant-iT PicoGreen dsDNA 测定试剂盒进行定量。在单独定量步骤之后,扩增产物按等量混合,并使用 Illumina NovaSeq 平台和 NovaSeq6000SP 试剂盒 (500 个循环) 进行双端 $2\times 250\text{ bp}$ 测序。

本研究通过 alpha 多样性与 beta 多样性体系,分别表征群落内物种组成特征与群落间物种差异。其中 alpha 多样性聚焦单一生境内部特征,包含丰富度与多样性 2 类指数。丰富度指数中,Chao1 指数基于低丰度扩增子序列变异体/操作分类单元 (ASV/OTU) 估算群落实际物种总数,Observed species 指数直接统计可检测物种/ASV/OTU 数量,二者数值越高表明物种丰富度越高;多样性指数中,Shannon 指数综合物种丰富度与均匀度且对均匀度敏感,Simpson 指数通过随机取样概率量化物种优势度差异,二者数值越高代表群落综合多样性越高。

beta 多样性用于比较不同生境样本间差异,因物种差异具有多维特征,需经距离算法降维、矩阵构建、可视化排序流程处理。采用 Jaccard (物种有无)、Bray-Curtis (物种有无与丰度)、Unweighted UniFrac (进化关系与物种有无)、Weighted UniFrac (进化关系与物种丰度) 4 类算法计算样本差异,构建距离矩阵后,通过主坐标分析 (PCoA) 实现低维投射。PCoA 作为非约束排序方法,能最大限度保留原始距离关系,适配生态学数据特征,其横坐标 (PCo1)、纵坐标 (PCo2) 分别为解释差异比例最高、次高的维度,坐标轴括号内百分比代表该维度对菌群差异的贡献度。分析工具为 QIIME2 (2019.4)、R 语言 ape 包等。步骤:基于抽平的 ASV/OTU 表,计算上述距离矩阵并进行 PCoA 分析。

1.3.7 SCFAs 分析 使用气相色谱法检测盲肠内容物中 SCFAs (乙酸、丙酸、丁酸) 水平。检测前对盲肠内容物样本进行质量控制,需盲肠内容物量 $\geq 100\text{ mg}$ (以满足气相色谱法检测的最低提取需求,保证 SCFAs 定量准确性)。部分小鼠因高脂饮食影响肠道内容物蓄积,导致盲肠内容物量过少 ($< 100\text{ mg}$),无法满足提取需求,最终每组仅 5 份样本符合标准,有效样本量为 5。3 种 SCFAs (乙酸、丙酸、丁酸) 被精确称量并溶解在 1 mg/mL 的乙醚中。随后,制备一系列稀释液以获得用于构建标准曲线的标准样品。将 30 mg 盲肠内容物精确称量到 1.5 mL 离心管中。加入研磨珠,然后加入 $300\text{ }\mu\text{L}$ 超纯水进行均质处理 2 min。在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下以 $18\text{ }000\times g$ 离心 20 min。取 $200\text{ }\mu\text{L}$ 上清液,加 $50\text{ }\mu\text{L}$ 50% 浓硫酸溶液,然后加入 $200\text{ }\mu\text{L}$ $5\text{ }\mu\text{g/mL}$ 乙醚溶液,涡旋 1 min,再超声 1 min,置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境下,以 $12\text{ }000\text{ r/min}$ 离心 20 min,接着在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境下静置 10 min,取上清液乙醚层过无水硫酸钠,使用 Pegasus BT 气相色谱-飞行时间质谱联用仪检测 SCFAs 含量。

1.3.8 蛋白质印迹法检测 NLRP3、GPR43 蛋白表达水平 使用 RIPA 裂解缓冲液制备结肠组织的总蛋白提取物。提取后通过 BCA 蛋白定量试剂盒检测蛋白浓度,需蛋白浓度 $\geq 1\text{ }\mu\text{g}/\mu\text{L}$ [以保证后续聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 电泳条带清晰、灰度可定量]。部分结肠组织因液氮冷冻延迟导致蛋白降解,不符合浓度要求被排除,最终每组仅 5 份样本符合标准,有效样本量为 5。蛋白提取物经变性处理后,通过 10% 的 SDS-PAGE 分离 1 h,然后转移到聚偏氟乙烯二氟乙烯 (PVDF) 膜中,转膜完成后,将 PVDF 膜完全浸没于含 5% 脱脂奶粉的 TBST 缓冲液中,室温摇床封闭 2 h,以阻断膜表面的非特异性结合位点。封闭后弃去封闭液,向膜上加入稀释后的一抗孵育液:抗小鼠 NLRP3 抗体 (兔源多克隆抗体,用 TBST 缓冲液按 $1:1\text{ }000$ 比例稀释)、抗小鼠 GPR43 抗体 (兔

源多克隆抗体,用 TBST 缓冲液按 1 : 1 000 比例稀释)。将膜与一抗孵育液充分接触,置于 4 ℃ 摇床孵育过夜,确保抗体与靶蛋白特异性结合。次日弃去一抗孵育液,用 TBST 缓冲液对 PVDF 膜进行洗涤,室温摇床洗涤 3 次,每次 10 min,彻底去除膜表面未结合的一抗。洗涤后加入二抗孵育液:抗兔免疫球蛋白(Ig)G-HRP 标记二抗,用 TBST 缓冲液按 1 : 5 000 比例稀释,室温摇床孵育 2 h,实现二抗与一抗的特异性结合。孵育结束后弃去二抗孵育液,吸去膜表面多余的 TBST 缓冲液,立即将膜完全浸没于新鲜配制的 ECL 化学发光液(A 液与 B 液按 1 : 1 体积比混合)中,室温下轻轻摇动孵育 1 min,使发光底物与 HRP 充分反应。吸去膜表面多余的发光液,迅速将膜放入化学发光凝胶成像系统中曝光成像,获取 NLRP3 和 GPR43 蛋白的条带图片。

1.4 统计学处理 采用 GraphPad Prism9.5 统计软件进行数据整理与图表制作。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异

有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组体质量增长率及血脂指标比较 HFD 体质量增长率高于 NCD, HFD-DG 体质量增长率低于 HFD,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。HFD 血清 TG、TC、LDL-C、HDL-C 水平高于 NCD, HFD-DG 血清 TG、TC、LDL-C 水平低于 HFD,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。同时 HFD-DG 血清 TG、TC 及 HDL-C 水平高于 NCD,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 3 组肝脏病理学检测结果及血清肝功能指标比较 小鼠肝脏病理学检测结果显示, HFD 肝细胞排列紊乱,肿胀伴炎症细胞浸润,出现大脂肪滴; HFD-DG 有少量炎症细胞浸润和轻度脂肪变性; HFD 肝脏组织中炎症细胞较 HFD-DG 和 NCD 增多, HFD-DG 与 NCD 肝脏病理学检测结果没有明显差异。见图 1。HFD 血清 ALT、AST 水平高于 NCD 和 HFD-DG,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 3 组体质量增长率及血脂指标比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	体质量增长率(%)	TG(mmol/L)	TC(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)
NCD	25.94±2.71	0.76±0.05	2.32±0.14	1.22±0.11	1.02±0.03
HFD	56.65±4.50 [*]	1.17±0.09 [*]	3.13±0.06 [*]	1.62±0.05 [*]	1.42±0.04 [*]
HFD-DG	34.55±4.59 [#]	0.93±0.04 ^{*#}	2.96±0.03 ^{*#}	1.32±0.02 [#]	1.46±0.02 [*]
<i>F</i>	15.49	11.84	24.01	8.98	60.61
<i>P</i>	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:与 NCD 比较, ^{*} $P < 0.05$;与 HFD 比较, [#] $P < 0.05$ 。

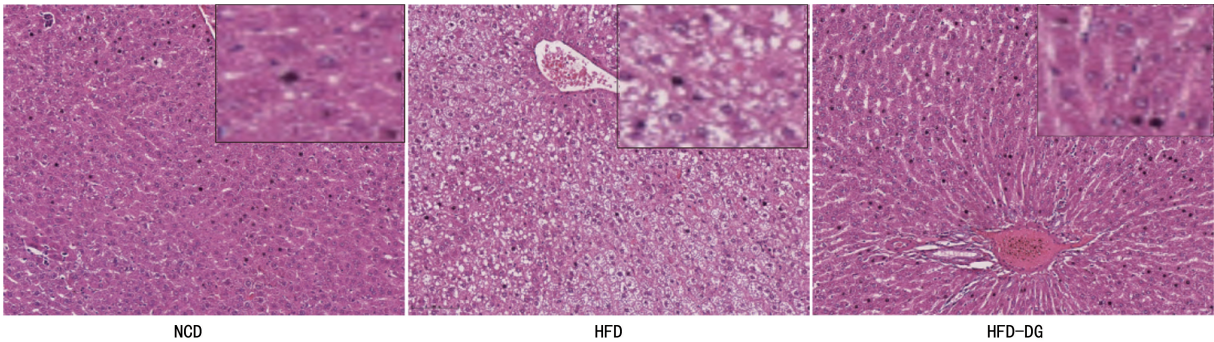


图 1 肝脏组织 HE 染色结果($\times 20$)

表 2 3 组血清肝功能指标比较($\bar{x} \pm s, n = 8, U/L$)

组别	ALT	AST
NCD	48.21±5.33	88.24±7.36
HFD	74.17±7.79 [*]	147.10±14.56 [*]
HFD-DG	49.16±4.35 [#]	79.66±12.06 [#]
<i>F</i>	6.03	9.83
<i>P</i>	<0.05	<0.05

注:与 NCD 比较, ^{*} $P < 0.05$;与 HFD 比较, [#] $P < 0.05$ 。

2.3 3 组肠道菌群多样性分析结果

2.3.1 3 组新鲜粪便样本 Chao1、Observed species、Shannon、Simpson 指数比较 HFD 新鲜粪便样本 Chao1、Observed species、Shannon、Simpson 指数低于 NCD,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。HFD-DG 新鲜粪便样本 Shannon 指数高于 HFD($P < 0.05$)。HFD-DG 新鲜粪便样本 Chao1、Observed species 及 Shannon 指数低于 NCD,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 3 组新鲜粪便样本 Chao1、Observed species、Shannon、Simpson 指数比较($\bar{x}\pm s,n=5$)

组别	Chao1 指数	Observed species 指数	Shannon 指数	Simpson 指数
NCD	837.60±144.20	818.80±145.40	5.96±0.27	0.94±0.22
HFD	258.70±37.45 [*]	242.10±33.81 [*]	4.04±0.14 [*]	0.87±0.01 [*]
HFD-DG	239.60±12.17 [*]	234.10±11.98 [*]	4.68±0.16 ^{*#}	0.89±0.01
F	15.51	15.04	24.09	4.64
P	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:与 NCD 比较,^{*} $P<0.05$;与 HFD 比较,[#] $P<0.05$ 。

2.3.2 3 组距离矩阵与 PCoA 图分析 距离矩阵与 PCoA 图分析结果显示,横坐标 PCo1 解释了 31.2% 的菌群变异,纵坐标 PCo2 解释了 23.3% 的菌群变异,二者合起来能反映 54.5% 的菌群组成差异。NCD 主要分布在图的左侧区域,HFD 集中在图的右上方,HFD-DG 位于图的右下方。见图 2。

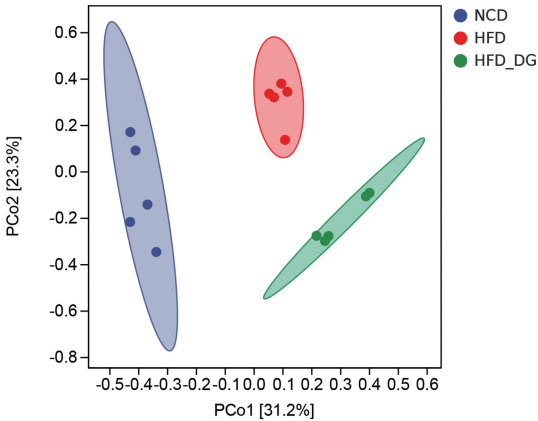


图 2 距离矩阵与 PCoA 图

2.3.3 3 组肠道菌群相对丰度比较 各组小鼠肠道菌群门水平分析结果显示,小鼠肠道菌群中相对丰度居前 4 位的分别是厚壁菌门、拟杆菌门、放线菌门和变形菌门。HFD 肠道厚壁菌门相对丰度高于 NCD,拟杆菌门和变形菌门相对丰度低于 NCD,差异均有统计学意义($P<0.05$)。HFD-DG 肠道变形菌门相对丰度高于 HFD($P<0.05$),且其厚壁菌门相对丰度高于 NCD,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

各组小鼠肠道菌群属水平分析结果显示,乳杆菌属、异杆菌属和阿德勒克罗伊茨菌属为主要的优势菌属。HFD 肠道异杆菌属和脱硫弧菌属相对丰度高于 NCD,乳杆菌属和阿德勒克罗伊茨菌属相对丰度低于 NCD,差异均有统计学意义($P<0.05$)。HFD-DG 异杆菌属和脱硫弧菌属相对丰度均低于 HFD,且异杆菌属属相对丰度仍低于 NCD($P<0.05$),脱硫弧菌属相对丰度则高于 NCD($P<0.05$)。HFD-DG 的乳杆菌属和阿德勒克罗伊茨菌属相对丰度高于 HFD,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 5。

表 4 3 组肠道菌群门水平相对丰度比较($\bar{x}\pm s,n=5,\%$)

组别	厚壁菌门	拟杆菌门	放线菌门	变形菌门
NCD	44.45±1.87	44.15±14.68	5.60±2.22	4.00±0.75
HFD	71.48±6.79 [*]	0.43±0.25 [*]	27.73±6.68	0.20±0.07 [*]
HFD-DG	69.84±7.17 [*]	6.84±3.94	18.88±7.03	3.79±0.09 [#]
F	6.82	7.24	3.76	23.64
P	<0.05	<0.05	0.09	<0.05

注:与 NCD 比较,^{*} $P<0.05$;与 HFD 比较,[#] $P<0.05$ 。

表 5 3 组肠道菌群属水平相对丰度比较($\bar{x}\pm s,n=5,\%$)

组别	乳杆菌属	异杆菌属	阿德勒克罗伊茨菌属	脱硫弧菌属
NCD	27.31±1.92	22.54±0.65	5.11±0.23	0.23±0.02
HFD	13.36±1.32 [*]	40.96±0.95 [*]	2.13±0.07 [*]	1.90±0.03 [*]
HFD-DG	30.76±0.73 [#]	4.14±0.62 ^{*#}	4.67±0.18 [#]	0.71±0.09 ^{*#}
F	42.86	599.60	85.96	856.00
P	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:与 NCD 比较,^{*} $P<0.05$;与 HFD 比较,[#] $P<0.05$ 。

2.4 3 组盲肠内容物 SCFAs 水平比较 HFD 盲肠内容物丁酸水平低于 NCD($P<0.05$)。HFD-DG 盲

肠内容物丁酸水平高于 HFD($P<0.05$)。见表 6。

2.5 3 组结肠组织 GPR43、NLRP3 蛋白表达水平比

较 HFD 结肠组织 GPR43 蛋白和 NLRP3 蛋白表达水平高于 NCD, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。HFD-DG 结肠组织 GPR43 蛋白和 NLRP3 蛋白表达水平低于 HFD, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。同时, HFD-DG 结肠组织 GPR43 蛋白和 NLRP3 蛋白表达水平仍高于 NCD, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 3、表 7。

表 6 3 组盲肠内容物 SCFAs 水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 5, \text{mg/g}$)

组别	乙酸	丙酸	丁酸
NCD	12.84 ± 1.14	0.27 ± 0.04	0.44 ± 0.08
HFD	9.57 ± 0.52	0.27 ± 0.03	0.18 ± 0.04 *
HFD-DG	13.55 ± 1.49	0.39 ± 0.04	0.48 ± 0.10 #
F	3.57	3.55	4.38
P	0.06	0.06	<0.05

注: 与 NCD 比较, * $P < 0.05$; 与 HFD 比较, # $P < 0.05$ 。

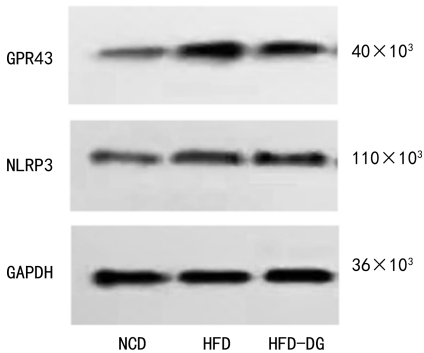


图 3 3 组结肠组织 GPR43 蛋白和 NLRP3 蛋白表达

表 7 3 组结肠组织 GPR43 蛋白、NLRP3 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	GPR43 蛋白	NLRP3
NCD	0.300 ± 0.007	0.370 ± 0.004
HFD	0.780 ± 0.007 *	0.750 ± 0.004 *
HFD-DG	0.380 ± 0.002 * #	0.500 ± 0.007 * #
F	1 859.00	1 184.00
P	<0.05	<0.05

注: 与 NCD 比较, * $P < 0.05$; 与 HFD 比较, # $P < 0.05$ 。

3 讨 论

MAFLD 是一种与肥胖高度相关的肝脏疾病, 其发病机制与肝脏脂质沉积及脂质代谢紊乱密切相关, 成为该领域的重要研究方向。大量研究证实, 膳食脂肪酸组成、体内游离脂肪酸重新分配及脂质合成途径等多种因素, 均会影响肝脏脂质积累并在 MAFLD 发展中起关键作用^[24]。本研究中, DG 通过降低高脂饮食诱导的 MAFLD 模型小鼠的体质量、调节血脂 (TG、TC、LDL-C) 水平, 减轻肝细胞的脂质积聚改善 MAFLD, 这与 LI 等^[22]提出的 DG 通过重塑肠道菌群-胆汁酸轴减轻肥胖的机制一致。值得关注的是, 本研究结果显示, HFD-DG 血清 TG、TC 水平仍高于

NCD ($P < 0.05$), 但 HFD 和 HFD-DG 血清 HDL-C 水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 这可能是由于本研究的实验周期 (12 周) 短于临床研究周期 (24 周), 或与小鼠模型中 HDL-C 代谢路径与人的差异有关。此外, 脂质沉积可能引发肝细胞炎症反应与肝损伤, 而临床常用 ALT 和 AST 评估肝损害程度。本研究发现, 高脂饮食后注射 DG 治疗的小鼠血清 AST 和 ALT 水平低于高脂饮食后注射生理盐水的小鼠, 提示 DG 对减轻肝细胞损伤具有积极的保护作用。

近年来, 肠道菌群的改变逐渐被认为是与肥胖密切相关的重要因素之一^[25]。肠道菌群通过调节脂质代谢、诱发炎症反应等途径, 参与宿主的肥胖和血糖控制不佳^[26], 并且被证实与 MAFLD 密切相关^[27-29]。本研究通过分析肠道菌群的 alpha 多样性、beta 多样性及具体菌属变化, 系统探讨 DG 对高脂饮食诱导的 MAFLD 小鼠肠道菌群的调节作用。

在 alpha 多样性分析中, Chao1 指数和 Observed species 指数反映菌群丰富度, Shannon 指数和 Simpson 指数反映菌群多样性。结果显示, 高脂饮食降低小鼠肠道菌群的丰富度 (Chao1、Observed species 指数下降) 和多样性 (Shannon、Simpson 指数下降), 提示高脂饮食可破坏肠道菌群的基础生态结构。值得注意的是, DG 干预后, 仅 Shannon 指数高于 HFD 组, Chao1 指数、Observed species 指数仍低于 NCD 组, 表明 DG 主要通过恢复菌群多样性而非丰富度来改善肠道微生态失衡。这一结果提示, DG 可能优先调节菌群的物种分布均匀性, 而非单纯增加物种数量, 这种选择性调节可能与其改善代谢紊乱的作用更相关。

beta 多样性的 PCoA 分析进一步验证了 DG 对菌群结构的重塑作用。HFD 与 NCD 的菌群结构在 PCoA 图中呈现出明显分离, 表明高脂饮食可改变菌群整体组成, 而 HFD-DG 的菌群结构虽未完全恢复至 NCD 水平, 但其分布更接近 NCD, 与 HFD 形成显著区分, 提示 DG 可部分逆转高脂饮食诱导的菌群结构异常。这种菌群结构向正常化偏移, 可能是 DG 改善脂质代谢和肝脏损伤的重要基础。

在菌群组成层面, 门水平分析结果显示, 与 NCD 比较, HFD 导致厚壁菌门相对丰度升高, 拟杆菌门和变形菌门相对丰度降低, 这与既往报道的 MAFLD 模型中“厚壁菌门/拟杆菌门比值升高”的特征一致^[30-31]。DG 干预后, 变形菌门相对丰度回升, 拟杆菌门相对丰度呈上升趋势, 与 SUN 等^[32]报道的拟杆菌门相对丰度增加可抑制 MAFLD 进展的结论趋势一致。其中, 变形菌门相对丰度升高与 SCFAs 合成增加相关^[23], 而拟杆菌门作为产 SCFAs 的优势菌门, 其丰度回升可能进一步促进代谢有益产物的生成, 为

DG 改善脂质代谢提供了微生物学基础。

属水平的变化则更精准地揭示了 DG 的靶向调节作用。HFD 的异杆菌属和脱硫弧菌属的相对丰度高于 NCD($P < 0.05$),而这 2 种菌属均与代谢紊乱密切相关,而 DG 干预后这 2 种菌属的相对丰度得以逆转。有研究表明,异杆菌属的相对丰度与血清 TG、TC、LDL-C 水平的升高及体质量呈正相关^[33]。脱硫弧菌属的相对丰度升高,可加重肝脏脂肪变性炎症反应^[34]。DG 干预后,上述 2 种有害菌属的相对丰度降低,异杆菌属的相对丰度甚至低于 NCD,提示 DG 可能通过减少促代谢紊乱菌属来改善 MAFLD。同时,本研究结果显示,DG 干预可提升乳杆菌属和阿德勒克罗伊茨菌属的相对丰度。乳杆菌属可通过调节肠-肝轴炎症通路改善肝脏脂肪变性^[35]。阿德勒克罗伊茨菌属则具有抗炎症和调节代谢的作用,其丰度降低与 MAFLD 进展及肝硬化、肝癌发生风险增加相关^[36]。值得注意的是,DG 干预后乳杆菌属的相对丰度甚至超过 NCD,提示该菌属可能是 DG 发挥抗 MAFLD 作用的关键靶点之一。

肠道菌群在代谢紊乱的诸多方面发挥着重要的调节作用。这种微生物群体的活性及其代谢产物对宿主代谢、免疫调节和炎症反应具有重要影响。肠道菌群通过分解各种膳食纤维,产生 SCFAs,主要包括乙酸、丙酸和丁酸等^[37],这 3 种脂肪酸占 SCFAs 总量的 95%^[38]。SCFAs 可抑制肝脏的脂肪合成和调节胆固醇在血液及肝脏中的重新分配,从而降低血清中血脂水平^[39]。高纤维饮食能够促进肠道内 SCFAs 的含量增加,而二者对于宿主的健康具有积极影响。长期高脂饮食可能会导致肠道菌群紊乱,表现为肠道菌群多样性及 SCFAs 水平显著降低^[40],进而破坏肠道屏障功能、诱发炎症反应,促进肥胖和 MAFLD 等代谢综合征的发展^[41]。具体而言,乙酸可减轻脂肪合成,对脂肪组织和肝脏代谢紊乱具有保护作用^[42]。丙酸能调节肝脏代谢,减少脂质沉积^[43]。丁酸能够预防 HFD 诱导的肥胖,并通过改善肠道菌群和增强肠道屏障功能,减轻 HFD 诱导的小鼠 MAFLD^[44-45]。本研究中,与 HFD 相比,HFD-DG 盲肠内容物中乙酸、丁酸、丙酸水平升高,这一结果与 DG 上调乳杆菌属和阿德勒克罗伊茨菌属相对丰度的发现一致,因为这 2 种菌属均为已知的产 SCFAs 有益菌^[36,46-47]。此外,已有研究表明,补充 SCFAs 可增加拟杆菌门相对丰度、降低厚壁菌门比例,同时减轻体质量^[48],从而改善机体的代谢综合征^[49]。这也为 DG 通过调节肠道菌群-代谢物轴改善 MAFLD 提供了理论支持。

值得注意的是,SCFAs 能调节肠道上皮细胞内的 GPRs,如 G 蛋白偶联受体 41(GPR41)和 GPR43,主要与 GPR43 相识别^[50],进而调节肠道或者肝脏的

代谢过程^[51]。GPR43 在脂肪细胞中高度表达,可能与脂肪组织代谢密切相关,且在 2 型糖尿病等代谢性疾病中发挥重要作用^[52],并在代谢障碍和炎症性疾病中发挥潜在的治疗作用^[53]。LOPEZ-MENDEZ 等^[50]研究发现,体质量超重的 MAFLD 患者结肠组织中 GPR43 表达水平升高,提示其可能参与 MAFLD 的病理过程。本研究蛋白质印迹法检测结果显示,HFD 小鼠结肠组织中,与炎症相关的 GPR43 蛋白和 NLRP3 蛋白表达水平高于 NCD,而 DG 干预后,二者表达水平均降低($P < 0.05$),但仍高于 NCD,与 HFD-DG 脱硫弧菌属相对丰度仍高于 NCD、肠道存在轻度残留炎症有关。这与 LU 等^[48]的研究结论一致,即 SCFAs 通过调控 GPR43 抑制高脂饮食诱导的肥胖。同时,已有研究证实,HFD 诱导的 NASH 模型中,NLRP3 的表达水平升高^[54]。而甘草甜素处理可下调其水平^[55],进一步支持 DG 可能通过抑制炎症通路减轻肝脏损伤。此外,有研究指出,SCFAs 可与结肠上皮细胞内的 GPR43 结合,激活 NLRP3 炎症小体以维持肠道屏障的完整性^[56]。结合本研究中 DG 同时调节 SCFAs 水平与 GPR43 蛋白、NLRP3 蛋白表达水平的结果,推测 DG 可能通过调控 SCFAs-GPR43-NLRP3 轴发挥作用。但需注意的是,SCFAs 与 GPR43 的结合是否直接影响 NLRP3 炎症小体活性,以及这一通路如何通过肠-肝轴调控肝脏脂质沉积,仍需后续实验进一步验证。

综上所述,本研究通过构建 C57BL/6J 小鼠高脂饮食模型,系统探讨了 DG 对 MAFLD 的改善作用。研究结果显示,高脂饮食诱导小鼠体质量增加、血脂指标水平异常升高,同时引发肝脏内脂质过度蓄积,并导致肠道菌群结构与丰度发生改变。而 DG 干预能够有效缓解高脂饮食诱导的肥胖状态,降低血脂水平,改善 MAFLD。深入探讨其作用机制发现,DG 可能通过重塑肠道菌群发挥作用,具体表现为升高乳杆菌属和阿德勒克罗伊茨菌属等有益菌丰度,降低异杆菌属等菌属相对丰度,促进 SCFAs 生成,进而抑制结肠 GPR43 蛋白水平表达,并下调 NLRP3 炎症小体活性。这一过程可能通过肠-肝轴减少肝脏脂质沉积,但 SCFAs 是否直接作用于肝脏 GPR43 受体仍需进一步验证。

尽管本研究初步揭示了 DG 通过调节肠道菌群-SCFAs-GPR43 轴改善 MAFLD 的机制,但仍存在以下局限性。首先,本研究采用小鼠模型开展实验,需充分考虑小鼠与人类肠道菌群组成的种属差异,由于缺乏人体样本验证,研究结果向临床转化存在不确定性;其次,研究未通过粪菌移植实验验证肠道菌群变化与 MAFLD 改善的因果关系,后续需设计“菌群移植+DG 干预”实验,明确肠道菌群在 DG 改善

MAFLD 过程中的中介作用;此外,本研究中 DG 仅采用 150 mg/kg 单一剂量进行干预,且本研究结果显示其能改善 MAFLD 小鼠的脂质代谢、肠道菌群及 SCFAs-GPR43 通路异常。但单一剂量设计无法明确 DG 的剂量-效应关系,无法确定其最低有效剂量、最佳治疗剂量及潜在的剂量依赖性机制。未来研究将设置不同水平的 DG 梯度(如 50、100、200 mg/kg 等),结合体质量、血脂、肠道菌群结构、SCFAs 水平及 GPR43 蛋白等指标,系统分析 DG 的剂量与效应关联,为临床 MAFLD 治疗中 DG 的精准给药方案提供更直接的实验支持。最后,本研究仅探讨了结肠组织中 GPR43 蛋白的表达,尚未深入分析 SCFAs-GPR43 通路在脂肪组织、肝脏等关键代谢器官中的作用,该通路是否通过调控全身代谢网络影响肝脂质沉积仍有待进一步阐明。

基于上述研究局限,未来可从以下方向深入探索:(1)开展 DG 对 MAFLD 患者肠道菌群的临床研究,纳入不同体质量指数分层的 MAFLD 患者,通过宏基因组测序、代谢组学分析等技术,进一步确认 DG 对肠道菌群-SCFAs-GPR43 通路的调节作用,为临床应用提供更可靠的依据;(2)运用分子对接技术、细胞实验等手段,解析 DG 与 GPR43 的直接结合机制,明确 DG 是否作为 GPR43 的激动剂或拮抗剂发挥作用,从分子层面揭示 DG 的作用靶点;(3)本研究未涉及胆汁酸、色氨酸代谢物等其他菌群产物,后续可结合“菌群移植+DG 干预”实验,运用多组学联合分析技术,进一步明确 SCFAs-GPR43 轴与其他代谢通路的交互作用,构建更完整的 DG 改善 MAFLD 的机制网络。以上的机制仍有待于进一步深入研究和探索。

参考文献

- [1] GUO X, YIN X, LIU Z, et al. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) pathogenesis and natural products for prevention and treatment[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(24):15489.
- [2] YE Q, ZOU B, YEO Y H, et al. Global prevalence, incidence, and outcomes of non-obese or lean non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and Meta-analysis[J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2020, 5(8):739-752.
- [3] BRAR G, TSUKAMOTO H. Alcoholic and non-alcoholic steatohepatitis: global perspective and emerging science[J]. *J Gastroenterol*, 2019, 54(3):218-225.
- [4] ZHOU J, ZHOU F, WANG W, et al. Epidemiological features of NAFLD from 1999 to 2018 in China[J]. *Hepatology*, 2020, 71(5):1851-1864.
- [5] TEUNIS C, NIEUWDORP M, HANSSEN N. Interactions between tryptophan metabolism, the gut microbiome and the immune system as potential drivers of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and metabolic diseases[J]. *Metabolites*, 2022, 12(6):514.
- [6] YOUNOSSI Z M, KOENIG A B, ABDELATIF D, et al. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease- Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes[J]. *Hepatology*, 2016, 64(1):73-84.
- [7] DROZDZ K, NABRDALIK K, HAJZLER W, et al. Metabolic-associated fatty liver disease (MAFLD), diabetes, and cardiovascular disease: associations with fructose metabolism and gut microbiota[J]. *Nutrients*, 2021, 14(1):103.
- [8] JIANG C, XIE C, LI F, et al. Intestinal farnesoid X receptor signaling promotes nonalcoholic fatty liver disease[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(1):386-402.
- [9] SEYED T N, MADGWICK M, SUDHAKAR P, et al. Big data in IBD: big progress for clinical practice[J]. *Gut*, 2020, 69(8):1520-1532.
- [10] BENICE K K, BIRNBAUM M J. Metabolic drivers of non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Mol Metab*, 2021, 50:101143.
- [11] MARTIN-MATEOS R, ALBILLOS A. The role of the gut-liver axis in metabolic dysfunction-associated fatty liver disease[J]. *Front Immunol*, 2021, 12:660179.
- [12] JI Y, YIN Y, LI Z, et al. Gut microbiota-derived components and metabolites in the progression of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)[J]. *Nutrients*, 2019, 11(8):1712.
- [13] 梁荫基, 林琛莅, 王少娜, 等. 肥胖相关非酒精性脂肪性肝病防治的新靶点: 短链脂肪酸及其受体信号通路的保护作用[J]. *重庆医科大学学报*, 2016, 41(6):628-631.
- [14] KOH A, DE VADDER F, KOVATCHEVA -DATCHARY P, et al. From dietary fiber to host physiology: short-chain fatty acids as key bacterial metabolites[J]. *Cell*, 2016, 165(6):1332-1345.
- [15] TANG C, DING H, SUN Y, et al. A narrative review of COVID-19: magnesium isoglycyrrhizinate as a potential adjuvant treatment[J]. *Ann Palliat Med*, 2021, 10(4):4777-4798.
- [16] LIU F, TANG X, MAO B, et al. Ethanol extract of licorice alleviates HFD-induced liver fat accumulation in association with modulation of gut microbiota and intestinal metabolites in obesity mice[J]. *Nutrients*, 2022, 14(19):4180.
- [17] CHEN L, KAN J, ZHENG N, et al. A botanical dietary supplement from white peony and licorice attenuates non-alcoholic fatty liver disease by modulating gut microbiota and reducing inflammation[J]. *Phytomedicine*, 2021, 91:153693.
- [18] SHI H J, SONG H B, WANG L, et al. The synergy of diammonium glycyrrhizinate remarkably reduces the toxicity of oxymatrine in ICR mice[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97:19-25.
- [19] ZHAO X, LIU J, YANG S, et al. Diammonium glycyrrhi-

- zinate alleviates hepatopulmonary syndrome via restoring superoxide dismutase 3 activity in rats[J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 807: 144-150.
- [20] GAO M, LI X, HE L, et al. Diammonium glycyrrhizinate mitigates liver injury via inhibiting proliferation of NKT cells and promoting proliferation of tregs[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13: 3579-3589.
- [21] LI F Y, XIE H, WENG L, et al. Effects of diammonium glycyrrhizinate on hepatic and intestinal UDP-Glucuronosyltransferases in rats; implication in herb-drug interactions[J]. *Chin J Nat Med*, 2016, 14(7): 534-540.
- [22] LI Y, HOU H, WANG X, et al. Diammonium glycyrrhizinate ameliorates obesity through modulation of gut microbiota-conjugated BAs-FXR signaling[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 796590.
- [23] LI Y, LIU T, YAN C, et al. Diammonium glycyrrhizinate protects against nonalcoholic fatty liver disease in mice through modulation of gut microbiota and restoration of intestinal barrier[J]. *Mol Pharm*, 2018, 15(9): 3860-3870.
- [24] LIANG Y, LIANG S, ZHANG Y, et al. Oral administration of compound probiotics ameliorates HFD-induced gut microbe dysbiosis and chronic metabolic inflammation via the G protein-coupled receptor 43 in non-alcoholic fatty liver disease rats[J]. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 2019, 11(1): 175-185.
- [25] LI S Z, ZHANG N N, YANG X, et al. Nobiletin ameliorates nonalcoholic fatty liver disease by regulating gut microbiota and myristoleic acid metabolism[J]. *J Agric Food Chem*, 2023, 71(19): 7312-7323.
- [26] AMABEBE E, ROBERT F O, AGBALALAH T, et al. Microbial dysbiosis-induced obesity; role of gut microbiota in homeostasis of energy metabolism[J]. *Br J Nutr*, 2020, 123(10): 1127-1137.
- [27] GANGI A, LU S C. Chemotherapy-associated liver injury in colorectal cancer[J]. *Therap Adv Gastroenterol*, 2020, 13: 320854238.
- [28] ZHANG Y, KONG D, WANG H. Mucosal-associated invariant T cell in liver diseases[J]. *Int J Biol Sci*, 2020, 16(3): 460-470.
- [29] HOUTTU V, BOULUND U, GREFHORST A, et al. The role of the gut microbiome and exercise in non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Therap Adv Gastroenterol*, 2020, 13: 320836687.
- [30] KONG C, GAO R, YAN X, et al. Probiotics improve gut microbiota dysbiosis in obese mice fed a high-fat or high-sucrose diet[J]. *Nutrition*, 2019, 60: 175-184.
- [31] JIANG W, WU N, WANG X, et al. Dysbiosis gut microbiota associated with inflammation and impaired mucosal immune function in intestine of humans with non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 8096.
- [32] SUN C, XIONG X, LIU M, et al. *Bacteroides ovatus* alleviates high-fat and high-cholesterol-induced nonalcoholic fatty liver disease via gut-liver axis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 178: 117156.
- [33] TANG W, YAO X, XIA F, et al. Modulation of the gut microbiota in rats by Hupan Qingzhi tablets during the treatment of high-fat-diet-induced nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 7261619.
- [34] LIN Y C, LIN H F, WU C C, et al. Pathogenic effects of *desulfovibrio* in the gut on fatty liver in diet-induced obese mice and children with obesity[J]. *J Gastroenterol*, 2022, 57(11): 913-925.
- [35] LEE N Y, YOON S J, HAN D H, et al. *Lactobacillus* and *pediococcus* ameliorate progression of non-alcoholic fatty liver disease through modulation of the gut microbiome[J]. *Gut Microbes*, 2020, 11(4): 882-899.
- [36] ONATE F P, CHAMIGNON C, BURZ S D, et al. *Adlercreutzia equolifaciens* is an anti-inflammatory commensal bacterium with decreased abundance in gut microbiota of patients with metabolic liver disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(15): 12232.
- [37] PAFILI K, RODEN M. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) from pathogenesis to treatment concepts in humans[J]. *Mol Metab*, 2021, 50: 101122.
- [38] 刘伊依, 邱俊强. 运动与肠道菌群代谢产物: 短链脂肪酸在 2 型糖尿病中的代谢调控作用[J]. *中国运动医学杂志*, 2023, 42(10): 818-824.
- [39] JENNISON E, BYRNE C D. The role of the gut microbiome and diet in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Clin Mol Hepatol*, 2021, 27(1): 22-43.
- [40] ROOKS M G, GARRETT W S. Gut microbiota, metabolites and host immunity[J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16(6): 341-352.
- [41] AGUS A, CLEMENT K, SOKOL H. Gut microbiota-derived metabolites as central regulators in metabolic disorders[J]. *Gut*, 2021, 70(6): 1174-1182.
- [42] OLANIYI K S, ATUMA C L, SABINARI I W, et al. Acetate-mediated-obestatin modulation attenuates adipose-hepatic dysmetabolism in high fat diet-induced obese rat model[J]. *Endocrine*, 2022, 76(3): 558-569.
- [43] CHAMBERS E S, BYRNE C S, RUGYENDO A, et al. The effects of dietary supplementation with inulin and inulin-propionate ester on hepatic steatosis in adults with non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2019, 21(2): 372-376.
- [44] ZHOU D, PAN Q, XIN F Z, et al. Sodium butyrate attenuates high-fat-diet-induced steatohepatitis in mice by improving gut microbiota and gastrointestinal barrier[J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(1): 60-75.
- [45] COPPOLA S, AVAGLIANO C, CALIGNANO A, et al. The protective role of butyrate against obesity and obesity-related diseases[J]. *Molecules*, 2021, 26(3): 682. (下转第 2907 页)

• 消化系统疾病精准诊疗专题 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.21.004

腹腔镜下双通道吻合术对近端胃癌患者术后 胃肠功能及营养状况的影响^{*}

刘桂元¹, 王 品², 刘逢秋³, 谭小军¹, 张青顺¹, 何龙海¹, 庞 毅^{4△}

1. 重庆三峡医药高等专科学校附属人民医院普通外科, 重庆 404000; 2. 兰州大学第二医院
胃肠外科, 甘肃兰州 730030; 3. 重庆医科大学附属第二医院超声科, 重庆 400016;
4. 重庆三峡医药高等专科学校基础医学部, 重庆 404120

摘 要:目的 探讨腹腔镜下双通道吻合术对近端胃癌患者术后胃肠功能及营养状况的影响。方法 选取 2022 年 1 月至 2024 年 12 月在重庆三峡医药高等专科学校附属人民医院接受腹腔镜下根治性近端管状胃切除+食管-管状残胃吻合术治疗的 30 例近端胃癌患者作为对照组, 另选取同期在重庆三峡医药高等专科学校附属人民医院接受腹腔镜下根治性近端胃切除术+双通道吻合术治疗的 30 例近端胃癌患者作为观察组。比较 2 组围术期指标(手术时间、术中失血量、首次肛门排气时间、首次进食时间)、手术前后清蛋白(ALB)、前清蛋白(PA)、血红蛋白(Hb)水平, 以及术后并发症发生情况、欧洲癌症研究与治疗组织生活问卷-STO22 评分。结果 观察组手术时间长于对照组, 术中失血量少于对照组, 术后首次肛门排气时间及首次进食时间均短于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。术后 3 个月观察组 ALB、PA、Hb 水平高于术前 1 d, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。术前 1 d 2 组 ALB、PA、Hb 水平比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。术后 3 个月, 观察组 ALB、PA、Hb 水平高于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。观察组术后并发症的总发生率低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。2 组术后吞咽困难、焦虑、疼痛、进食、口干、味觉、躯体形象、脱发评分比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结论 腹腔镜下双通道吻合术应用于近端胃癌患者, 能有效促进患者术后胃肠功能恢复, 改善营养状况, 降低并发症发生率, 具有重要的临床应用价值。

关键词: 双通道吻合术; 近端胃癌; 胃肠功能; 营养状况; 清蛋白

中图法分类号: R318.14; R446.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2025)21-2902-06

The influence of laparoscopic double-channel anastomosis on the postoperative gastrointestinal function and nutritional status of patients with proximal gastric cancer^{*}

LIU Guiyuan¹, WANG Pin², LIU Fengqiu³, TAN Xiaojun¹, ZHANG Qingshun¹,
HE Longhai¹, PANG Yi^{4△}

1. Department of General Surgery, Affiliated People's Hospital of Chongqing Three Gorges Medical College, Chongqing 404000, China; 2. Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730030, China; 3. Department of Ultrasound, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 4. Department of Basic Medicine, Chongqing Three Gorges Medical College, Chongqing 404120, China

Abstract: Objective To explore the influence of laparoscopic double-channel anastomosis on the postoperative gastrointestinal function and nutritional status of patients with proximal gastric cancer. **Methods** Thirty patients with proximal gastric cancer who underwent laparoscopic radical proximal tubular gastrectomy + esophageal-tubular gastric anastomosis at the Affiliated People's Hospital of Chongqing Three Gorges Medical College from January 2022 to December 2024 were selected as the control group. Another 30 patients with proximal gastric cancer who underwent laparoscopic radical proximal gastrectomy + double-channel anastomosis at the Affiliated People's Hospital of Chongqing Three Gorges Medical College during the same period were selected as the observation group. The perioperative indicators (operation time, intraoperative blood loss,

^{*} 基金项目: 重庆市卫生健康委员会医学科研项目(2025WSJK027)。

作者简介: 刘桂元, 男, 副主任医师, 主要从事消化系肿瘤的基础与临床方向的研究。△ 通信作者, E-mail: pbinglan@163.com。

引用格式: 刘桂元, 王品, 刘逢秋, 等. 腹腔镜下双通道吻合术对近端胃癌患者术后胃肠功能及营养状况的影响[J]. 检验医学与临床, 2025, 22(21): 2902-2907.