



# 高脂饮食对SD大鼠肠道菌群的影响

任婷婷, 卢放根, 张尤历, 程兆明, 徐珉

## ■背景资料

目前越来越多的实验和研究证明胆固醇摄入量与肥胖、高脂血症、冠心病等关系密切。大肠中存有的以嗜酸乳杆菌和双歧杆菌为代表的益生菌已被越来越多的研究证明具有缓和乳糖不耐受, 优化肠道菌群, 调节黏膜免疫, 减轻炎症和过敏反应及竞争性拮抗致病菌, 抗结肠癌等生物效应, 甚至具有调节血脂的作用。

任婷婷, 张尤历, 程兆明, 徐珉, 江苏大学附属医院消化内科  
江苏省镇江市 212001

卢放根, 中南大学湘雅二医院消化内科 湖南省长沙市 410011

作者贡献分布: 此课题由卢放根与任婷婷设计; 研究过程由任婷婷操作完成; 研究所用试剂及分析工具由卢放根提供; 数据分析由张尤历、程兆明及徐珉完成; 在卢放根指导下, 论文由任婷婷完成。

通讯作者: 卢放根, 教授, 博士生导师, 410011, 湖南省长沙市人民中路139号, 中南大学湘雅二医院消化科。  
lufanggenyao@163.com

电话: 0731-85295888

收稿日期: 2010-06-12 修回日期: 2010-08-09

接受日期: 2010-08-17 在线出版日期: 2010-09-08

## Intake of a high-fat diet alters intestinal flora in rats

Ting-Ting Ren, Fang-Gen Lu, You-Li Zhang,  
Zhao-Ming Cheng, Min Xu

Ting-Ting Ren, You-Li Zhang, Zhao-Ming Cheng, Min Xu, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China

Fang-Gen Lu, Department of Gastroenterology, Xiangya Second Hospital, Central South University, Changsha 410011, Hunan Province, China

Correspondence to: Professor Fang-Gen Lu, Department of Gastroenterology, Xiangya Second Hospital, Central South University, 139 Renmin Middle Road, Changsha 410011, Hunan Province, China. lufanggenyao@163.com

Received: 2010-06-12 Revised: 2010-08-09

Accepted: 2010-08-17 Published online: 2010-09-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the possible effect of intake of a high-fat diet on intestinal flora in rats.

**METHODS:** Twenty Sprague-Dawley rats were randomly divided into two groups: group A and group B. Group A was fed a normal diet, while group B was fed a diet rich in oil and fat. The fecal microbial population was analyzed on days 1, 15 and 30. The rats were killed on day 30 to analyze the small intestinal flora.

**RESULTS:** Serum total cholesterol (TC) level on day 30 was significantly lower in group A than in group B ( $1.8186 \text{ mmol/L} \pm 0.39 \text{ mmol/L}$  vs  $2.6213 \text{ mmol/L} \pm 0.28 \text{ mmol/L}$ ,  $P < 0.05$ ). The fecal microbial population changed greatly in Group B: the counts of *Lactobacillus acidophilus*,

*Bifidobacterium*, and *Enterococcus* were significantly lower on day 30 than on day 1 ( $6.1353 \pm 0.23$  vs  $7.0203 \pm 0.36$ ,  $5.3010 \pm 0.23$  vs  $6.8531 \pm 0.30$  and  $3.3269 \pm 0.24$  vs  $5.4740 \pm 0.25$ , all  $P < 0.05$ ); the counts of *Bacteroides* on days 15 and 30 were  $7.2339 \pm 0.32$  and  $5.7979 \pm 0.40$ , respectively, showing an "initially increased then decreased" trend ( $P < 0.05$ ) when compared with that on day 1 ( $6.4933 \pm 0.38$ ). In contrast, the small intestinal flora was relatively stable.

**CONCLUSION:** High-fat diet intake for 30 days results in great changes in intestinal flora that mainly occur in the colon and are considered to be able to accelerate the development of obesity and hyperlipidemia.

**Key Words:** High-fat diet; Intestinal flora; Obesity; Hyperlipidemia

Ren TT, Lu FG, Zhang YL, Cheng ZM, Xu M. Intake of a high-fat diet alters intestinal flora in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(25): 2694-2697

## 摘要

**目的:** 探讨高脂饮食对大鼠肠道菌群的影响。

**方法:** 20只SD大鼠随机均分为A组、B组。A组喂养普通饲料, B组喂养高脂饲料, 第1天、第15天、第30天取大鼠粪便行菌群分析, 第30天取小肠内容物行菌群分析。

**结果:** 第30天A、B组大鼠血清总胆固醇值(TC)分别为 $1.8186 \text{ mmol/L} \pm 0.39 \text{ mmol/L}$ 、 $2.6213 \text{ mmol/L} \pm 0.28 \text{ mmol/L}$ , B组TC水平较A组明显增高( $P < 0.05$ )。B组大便菌群发生明显改变, 嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、肠球菌第30天计数较第1天明显降低( $6.1353 \pm 0.23$  vs  $7.0203 \pm 0.36$ ,  $5.3010 \pm 0.23$  vs  $6.8531 \pm 0.30$ ,  $3.3269 \pm 0.24$  vs  $5.4740 \pm 0.25$ ,  $P < 0.05$ )。拟杆菌第15、30天细菌计数为 $7.2339 \pm 0.32$ 、 $5.7979 \pm 0.40$ , 分别与第1天计数 $6.4933 \pm 0.38$ 比较, 呈现“先增后降”趋势( $P < 0.05$ )。B组小肠菌群较A组无明显差异。

**结论:** 高脂饮食可导致肠道菌群结构的改变,

这种改变可能进一步促进肥胖与高胆固醇血症的形成.

**关键词:** 高脂饮食; 肠道菌群; 肥胖; 高脂血症

任婷婷, 卢放根, 张尤历, 程兆明, 徐珉. 高脂饮食对SD大鼠肠道菌群的影响. 世界华人消化杂志 2010; 18(25): 2694-2697

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/2694.asp>

## 0 引言

随着科技的发展和人们生活水平的提高, 饮食健康已引起了世界范围内的关注. 目前越来越多的实验和研究证明胆固醇摄入量与肥胖、高脂血症、冠心病等关系密切. 大肠中存在的以嗜酸乳杆菌和双歧杆菌为代表的益生菌已被越来越多的研究证明具有缓和乳糖不耐受, 优化肠道菌群, 调节黏膜免疫, 减轻炎症和过敏反应及竞争性拮抗致病菌, 抗结肠癌等生物效应, 甚至具有调节血脂的作用<sup>[1,2]</sup>. 本研究通过建立高脂饮食SD大鼠模型, 观察其肠道菌群的变化, 探讨高脂饮食对肠道菌群的影响.

## 1 材料和方法

1.1 材料 ♂清洁级1.5-2 mo SD大鼠20只, 体质量160-200 g(购于湖南农业大学东创试验动物科技服务部). 普通饲料(中南大学湘雅二医院动物试验部): 面粉20%、米粉10%、玉米20%、麸皮25%、豆料20%、骨粉2%、鱼粉2%. 高脂饲料: 胆固醇1%(湖南天恒生物试剂有限公司), 新鲜猪油5%(自制), 蛋黄粉10%(湖南天恒生物试剂有限公司), 胆酸钠0.2%(Sigma), 基础(普通)饲料84%. 由中南大学湘雅二医院混合加工制成. 主要试剂: 蛋白胨、酵母浸粉、牛肉粉、葡萄糖、琼脂粉、硫酸镁、硫酸锰、柠檬酸铵、乙酸钠、磷酸氢二钾、吐温-80、氯化钠、氯化钾、枸橼酸、枸橼酸三钠、多聚甲醛、氢氧化钠、盐酸、无水乙醇. 主要仪器, 不锈钢双层立式电热蒸汽压力消毒器、超净工作台、普通培养箱、厌氧培养箱、湘仪离心机、自动双重纯水蒸馏机、电子精密天平、LG微波炉、电热恒温水浴锅、Haier冰箱、尼康数码相机、分光光度计.

### 1.2 方法

1.2.1 分组及处理: 20只大鼠随机分为A、B两组. 阴性对照组A( $n = 10$ ), 高脂饮食组B( $n = 10$ ). 分组后常规喂养观察1 wk, 无明显异常后开始实验, 实验历时共30 d(不计观察期). A组喂食普通

表 1 两组大鼠血清TC含量及TC增长值 $\Delta$ TC (mean  $\pm$  SD, mmol/L,  $n = 10$ )

分组	第1天	第30天	$\Delta$ TC
A组	1.9763 $\pm$ 0.28	1.8186 $\pm$ 0.39	-0.3429 $\pm$ 0.19
B组	2.1988 $\pm$ 0.25	2.6213 $\pm$ 0.28 <sup>a</sup>	0.3914 $\pm$ 0.16 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 第1天; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs A组.

饲料30 d, B组喂食高脂饲料30 d. 每3 d称体质量, 限定大鼠每日进食量为1/10  $\times$  体质量(g), 不限饮水. 实验开始(第1天)用无菌镊取各组SD大鼠新鲜成形大便0.3-0.8 g置入10 mL无菌EP管中, 灭菌生理盐水稀释10倍, 振荡混匀, 于1 h内接种, 3 h内放置培养箱中, 分析大便菌群(嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、拟杆菌、肠球菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌). 第15天, 第30天(实验结束)分析大便菌群如前. 处死小鼠, 取小肠内容物行菌群分析. 实验第1天及第30天于鼠尾静脉取血测量总胆固醇(total cholesterol, TC)值.

1.2.2 细菌培养与菌落计数: 嗜酸乳杆菌, MRS-X培养基(自制), 37 °C厌氧培养48 h; 双歧杆菌, LMAVB培养基(自制), 37 °C厌氧培养48 h; 肠球菌, TTC培养基(自制), 37 °C厌氧培养48 h; 拟杆菌, KVLB培养基(自制), 37 °C厌氧培养48 h; 金黄色葡萄球菌, 高盐甘露醇培养基(成品), 37 °C需氧培养24 h; 大肠杆菌, 伊红-美蓝培养基(成品), 37 °C需氧培养24 h. 上述菌群的选择性培养及鉴定计数过程大致如下: 无菌取成形粪便(小肠内容物)于EP管内, 电子天平称量后加入相当于9倍粪便(小肠内容物)质量的灭菌生理盐水稀释为10<sup>-1</sup>, 振荡混匀后送超净工作台上用灭菌生理盐水进行10倍梯度稀释至10<sup>-7</sup>, 选择10<sup>-2</sup>-10<sup>-7</sup>稀释度样本10  $\mu$ L分别接种在各类培养基上, 每个稀释度做3个平行. 按相应要求和条件进行培养后, 以菌落形态、革兰氏染色镜检、生化反应等鉴定计数菌落, 求平均值, 计算出每克湿便中的菌数.

统计学处理 肠道菌群测定结果转换为lg值建库. 采用SPSS11.0软件包对所得数据进行结果统计分析. 多组均数间及两两比较采用方差分析, 以 $P < 0.05$ 为具有统计学意义.

## 2 结果

2.1 血清TC及 $\Delta$ TC B组大鼠第30天血清TC值较第1天明显增高( $P < 0.05$ ), B组 $\Delta$ TC与A组相比有显著差异( $P < 0.05$ , 表1).

### ■ 相关报道

体外实验也证明, 许多乳杆菌和双歧杆菌株能水解结合胆盐, 吸收培养基中的胆固醇, 并认为在体内, 乳酸菌也能通过吸收一部分食物中的胆固醇, 以及通过水解结合胆盐, 加快其从粪便中排泄, 使肝脏利用血清胆固醇重新合成胆汁酸来实现降低血清胆固醇的功效.

## ■应用要点

高脂饮食可导致肠道菌群结构的改变,这种改变可能进一步促进肥胖与高胆固醇血症的形成。

表2 两组大鼠粪便细菌计数(菌落计数转换为lg值, mean  $\pm$  SD, n = 10  $\times$  3)

分组	时间(d)	嗜酸乳杆菌	双歧杆菌	拟杆菌	肠球菌	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌
A组	1	6.3768 $\pm$ 0.32	6.2655 $\pm$ 0.21	6.5075 $\pm$ 0.08	5.2358 $\pm$ 0.22	4.1359 $\pm$ 0.38	3.8561 $\pm$ 0.23
	15	7.2270 $\pm$ 0.22	7.4796 $\pm$ 0.37	5.3010 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	5.2026 $\pm$ 0.31	3.9341 $\pm$ 0.28	3.6637 $\pm$ 0.35
	30	7.0858 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	7.5394 $\pm$ 0.32	6.6472 $\pm$ 0.38	5.2263 $\pm$ 0.28	4.0530 $\pm$ 0.22	4.1224 $\pm$ 0.35
B组	1	7.0203 $\pm$ 0.36	6.8531 $\pm$ 0.30	6.4933 $\pm$ 0.38	5.4740 $\pm$ 0.25	4.1264 $\pm$ 0.31	3.6951 $\pm$ 0.35
	15	7.4099 $\pm$ 0.31	7.1989 $\pm$ 0.35	7.2339 $\pm$ 0.32 <sup>a</sup>	5.6385 $\pm$ 0.13	4.2490 $\pm$ 0.32	5.0880 $\pm$ 0.35
	30	6.1353 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	5.3010 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	5.7979 $\pm$ 0.40 <sup>a</sup>	3.3269 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>	3.7439 $\pm$ 0.30	3.8484 $\pm$ 0.36

<sup>a</sup>P<0.05 vs 第1天.

表3 两组大鼠小肠内容物菌群计数(菌落计数转换为lg值, mean  $\pm$  SD, n = 10  $\times$  3)

分组	嗜酸乳杆菌	双歧杆菌	拟杆菌	肠球菌	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌
A组	6.8651 $\pm$ 0.42	6.1610 $\pm$ 0.46	6.9896 $\pm$ 0.38	2.8160 $\pm$ 0.47	4.0913 $\pm$ 0.32	3.5638 $\pm$ 0.35
B组	6.2838 $\pm$ 0.34	6.6727 $\pm$ 0.39	6.0338 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>	2.8766 $\pm$ 0.42	4.8496 $\pm$ 0.38	3.1523 $\pm$ 0.27

<sup>a</sup>P<0.05 vs A组.

**2.2 大便菌群分析** 在实验第1天、第15天、第30天分别取大便行选择性细菌培养, 菌落计数转换为lg值建库, 各组内前后对照。A组大鼠第30天大便中嗜酸乳杆菌、双歧杆菌计数较第1天明显增高( $P<0.05$ ), B组明显降低( $P<0.05$ )。B组拟杆菌的改变呈现出阶段性的“先增后降”趋势, 第15天拟杆菌计数较第1天增多, 而第30天较第1天和第15天明显降低且具有统计学差异(均 $P<0.05$ )。B组第30天大便中肠球菌计数较第1天明显降低( $P<0.05$ )。各组别粪便大肠杆菌、金黄色葡萄球菌计数无明显变化趋势(表2)。

**2.3 小肠内容物菌群分析** 在实验第30天取两组大鼠小肠内容物行选择性细菌培养, 菌落计数转换为lg值建库, 两组对照。B组小肠菌群较A组变化不大, 仅拟杆菌计数明显降低( $6.0338 \pm 0.21$  vs  $6.9896 \pm 0.38$ ,  $P<0.05$ , 表3)。

### 3 讨论

一直以来, 大肠在消化系统中的功能都被认为是吸收水、一些微量元素, 储存和排出食物残渣。然而, 由于栖生菌群的存在, 大肠在机体营养和健康中无疑发挥了重要作用。研究表明, 影响动物肠道菌群结构的因素取决于基因型、饮食、年龄、肠道环境及生存环境等多个方面<sup>[3,4]</sup>。由于上述诸多因素导致的个体差异, 本实验在随机分组的过程中即产生了某些指标的组间差别, 如在基线水平两组血清TC和大便嗜酸乳杆菌计数就存在显著性差异( $P<0.05$ ), 故认为, 在

此不平衡的基础上施加干预, 而后得出的组间差异, 其准确性不足。故本实验于第1天、第30天两次采血测量血脂, 第1天、第15天、第30天3次分析大便菌群, 血脂与大便菌群采取同一组内按时间顺序前后对照分析, 以及血脂增长值的组间两两对比, 可较为准确的分析实验结果, 也便于观察某些指标的变化趋势, 如高脂饮食组肠球菌“先增后降”的特点。

大肠菌群赖以生存的养料主要来自于未被小肠消化吸收的碳水化合物, 日常饮食是决定大肠菌群结构和功能的重要因素, 饮食结构的改变可使大肠微生态系统发生长期而持续的改变<sup>[5]</sup>。大鼠的饮食结构与人相比具有更丰富的碳水化合物及膳食纤维, 能促进大肠厌氧菌, 特别是乳酸菌属的生长。故而A组大鼠30 d内大肠嗜酸乳杆菌与双歧杆菌呈增长趋势; 而B组食物中脂类成分增多, 使大肠菌群的养料来源减少, 可能是大肠菌群失衡、厌氧菌计数下降的主要原因。脂类代谢过程中的一些副产物如次级胆酸、硫化氢等, 还可损害大肠黏膜, 导致黏膜炎症, 破坏菌群赖以生存的微环境<sup>[6,7]</sup>。高脂饮食可能从这两方面引起大肠菌群结构的改变。本实验中, 高脂饮食导致了大肠菌群的结构变化, 益生菌(乳杆菌、双歧杆菌)及常规共生菌(拟杆菌、肠球菌)数目的下降, 将对机体产生一系列不利影响。许多研究表明, 大肠菌群在发酵碳水化合物获取自身养料的同时, 其主要产物短链脂肪酸(short chain fatty acid, SCFA)可通过抑制

肝脂肪合成酶的活性及调节胆固醇在血与肝脏中的重分布发挥调脂作用, 能显著降低血清三酰甘油和胆固醇水平<sup>[8-10]</sup>。大肠菌群结构变异还可通过产生程度轻微的慢性内毒素血症, 诱发机体免疫紊乱, 导致胰岛素抵抗、糖尿病及肥胖<sup>[11,12]</sup>。喂养高脂饲料的SD大鼠可能因为食物结构的改变导致大肠厌氧菌营养缺乏、生存环境恶化, 因而数目普遍存在下降趋势, 大肠主要厌氧菌数目的下滑使SCFA生成减少, 对血脂的调节功能受抑, 且由于胰岛素抵抗与糖耐量受损, 将进一步促使高脂血症的形成。

众所周知, 脂类消化吸收的主要部位在小肠, 既往关于益生菌体内降血脂及减肥作用的机制分析及假定场所均立足于小肠。体外实验也证明<sup>[13-15]</sup>, 许多乳杆菌和双歧杆菌菌株能水解结合胆盐, 吸收培养基中的胆固醇, 并认为在体内, 乳酸菌也能通过吸收一部分食物中的胆固醇, 以及通过水解结合胆盐, 加快其从粪便中排泄, 使肝脏利用血清胆固醇重新合成胆汁酸来实现降低血清胆固醇的功效。本实验中, 高脂饮食组的小肠乳杆菌、双歧杆菌、肠球菌、大肠杆菌及金葡菌与正常饮食组相比无显著差异, 仅拟杆菌计数下降( $P<0.05$ ), 小肠菌群结构相对稳定, 表明高脂饮食对小肠菌群的影响, 至少在短期内, 弱于大肠菌群, 这可能缘于小肠菌群能获取小肠中相对充足的营养成分, 同时大部分细菌具有胆盐水解酶, 能水解结合胆盐并利用分离下来的甘氨酸、牛磺酸营养菌体, 故受食物结构的影响较小, 而拟杆菌可能对高脂饮食或肠道环境具有更高的敏感性。本实验中, 由于高脂饲料组的小肠菌群基本稳定, 故考虑脂类的消化吸收及胆汁酸代谢过程未受明显干扰, 而大鼠血清胆固醇的增高为食物与大肠菌群改变共同作用的结果。

#### 4 参考文献

- 1 Tang ML. Probiotics and prebiotics: immunological and clinical effects in allergic disease. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program* 2009; 64: 219-235; discussion 235-8, 251-257
- 2 Denipote FG, Trindade EB, Burini RC. [Probiotics and prebiotics in primary care for colon cancer] *Arq Gastroenterol* 2010; 47: 93-98
- 3 Natividad JM, Huang X, Slack E, Jury J, Sanz Y, David C, Denou E, Yang P, Murray J, McCoy KD, Verdú EF. Host responses to intestinal microbial antigens in gluten-sensitive mice. *PLoS One* 2009; 4: e6472
- 4 DiBaise JK, Zhang H, Crowell MD, Krajmalnik-Brown R, Decker GA, Rittmann BE. Gut microbiota and its possible relationship with obesity. *Mayo Clin Proc* 2008; 83: 460-469
- 5 Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006; 444: 1022-1023
- 6 Resta SC. Effects of probiotics and commensals on intestinal epithelial physiology: implications for nutrient handling. *J Physiol* 2009; 587: 4169-4174
- 7 Attene-Ramos MS, Nava GM, Muellner MG, Wagner ED, Plewa MJ, Gaskins HR. DNA damage and toxicogenomic analyses of hydrogen sulfide in human intestinal epithelial FHs 74 Int cells. *Environ Mol Mutagen* 2010; 51: 304-314
- 8 Pereira DI, McCartney AL, Gibson GR. An in vitro study of the probiotic potential of a bile-salt-hydrolyzing *Lactobacillus fermentum* strain, and determination of its cholesterol-lowering properties. *Appl Environ Microbiol* 2003; 69: 4743-4752
- 9 Nakamura Y, Yabe K, Shimada K, Sasaki K, Han KH, Okada T, Sekikawa M, Ohba K, Ito N, Horiochi K, Kawakami S, Fukushima M. Effect of fermented bean paste on serum lipids in rats fed a cholesterol-free diet. *Biosci Biotechnol Biochem* 2009; 73: 2506-2512
- 10 Larkin TA, Astheimer LB, Price WE. Dietary combination of soy with a probiotic or prebiotic food significantly reduces total and LDL cholesterol in mildly hypercholesterolaemic subjects. *Eur J Clin Nutr* 2009; 63: 238-245
- 11 Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest* 2005; 115: 1111-1119
- 12 Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, Neyrinck AM, Fava F, Tuohy KM, Chabo C, Waget A, Delmée E, Cousin B, Sulpice T, Chamontin B, Ferrières J, Tanti JF, Gibson GR, Casteilla L, Delzenne NM, Alessi MC, Burcelin R. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2007; 56: 1761-1772
- 13 Psomas EI, Fletouris DJ, Litopoulou-Tzanetaki E, Tzanetakis N. Assimilation of cholesterol by yeast strains isolated from infant feces and Feta cheese. *J Dairy Sci* 2003; 86: 3416-3422
- 14 Ramasamy K, Abdullah N, Wong MC, Karuthan C, Ho YW. Bile salt deconjugation and cholesterol removal from media by *Lactobacillus* strains used as probiotics in chickens. *J Sci Food Agric* 2010; 90: 65-69
- 15 Liou MT, Shah NP. Acid and bile tolerance and cholesterol removal ability of lactobacilli strains. *J Dairy Sci* 2005; 88: 55-66

#### ■同行评价

本研究选题尚可, 结果可靠, 结论可信, 具有一定的学术价值。

编辑 曹丽鸥 电编 何基才