

· 基础研究 ·

嗜黏蛋白阿克曼菌对高脂饲料诱导的肥胖 *ApoE* 基因敲除小鼠血脂代谢及炎症因子的影响

李丽雅, 刘玉猛, 张永, 张新胜, 杨雪艳, 刘英华*

(中国人民解放军总医院第一医学中心营养科, 北京 100853)

【摘要】 **目的** 观察嗜黏蛋白阿克曼(*AKK*)对高脂饲料喂养的肥胖 *ApoE* 基因敲除(*ApoE*^{-/-})小鼠血脂代谢及炎症因子相关指标的影响。**方法** 选取健康 SPF 级雄性 C57BL/6J 及 *ApoE*^{-/-} 4 周龄小鼠, 均给予高脂饲料喂养。喂养 6 周后, 选取高于 C57BL/6J 小鼠平均体质量 10% 的 *ApoE*^{-/-} 小鼠 20 只, 随机编号, 奇数为模型组($n=10$), 偶数为 *AKK* 干预组($n=10$), C57BL/6J 小鼠作为对照组($n=10$)。对照组与模型组小鼠灌胃不含 *AKK* 的甘油制剂, *AKK* 干预组灌胃含 1×10^9 CFU *AKK* 的甘油制剂。每日灌胃 1 次, 每次 0.1 ml。灌胃 4 周后, 称量小鼠空腹体质量, 采集血清及附睾脂肪组织。检测血清甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)及低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)等血脂代谢指标水平, 白细胞介素(IL)-1、IL-6、IL-8、IL-10、C 反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)等炎症因子指标水平。称量附睾脂肪组织质量, 苏木精-伊红(HE)染色观察小鼠附睾脂肪组织细胞形态及大小, 测量脂肪组织细胞平均面积。采用 SPSS 26.0 统计软件进行数据分析。多组间比较采用单因素方差分析。**结果** 灌胃 4 周后, 与模型组相比, *AKK* 干预组小鼠空腹体质量、附睾脂肪组织质量及体脂百分比均有下降趋势, 但差异无统计学意义($P>0.05$); *AKK* 干预组血脂代谢指标 TG [(0.85 ± 0.17) 和 (1.65 ± 0.15) 、 (1.08 ± 0.09) mmol/L] 及 LDL-C [(3.20 ± 0.85) 和 (6.47 ± 0.87) 、 (4.89 ± 0.56) mmol/L] 均显著低于模型组及对照组, HDL-C [(919.89 ± 116.19) 和 (433.59 ± 183.85) 、 (721.11 ± 222.70) mmol/L] 显著高于模型组及对照组, TC [(3.00 ± 0.64) 和 (5.12 ± 0.71) mmol/L] 显著低于模型组, 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$); *AKK* 干预组炎症因子指标 IL-1 [(74.10 ± 25.28) 和 (191.42 ± 31.36) 、 (123.91 ± 25.29) pg/ml]、IL-6 [(63.10 ± 9.53) 和 (100.76 ± 11.42) 、 (77.76 ± 8.20) pg/ml]、IL-8 [(64.34 ± 10.36) 和 (104.59 ± 8.46) 、 (82.64 ± 11.79) pg/ml]、CRP [(88.85 ± 24.33) 和 (172.53 ± 25.41) 、 (122.72 ± 22.08) ng/ml]、TNF- α [(372.30 ± 47.05) 和 (672.13 ± 66.18) 、 (509.97 ± 54.50) pg/ml] 及 MCP-1 [(11.90 ± 1.58) 和 (25.18 ± 2.03) 、 (18.59 ± 2.11) pg/ml] 均显著低于模型组及对照组, 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$), IL-10 有升高趋势, 但 3 组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。HE 染色观察显示, *AKK* 干预组较模型组小鼠附睾脂肪组织细胞平均面积 [(330.45 ± 55.84) 和 (879.58 ± 36.74) μm^2] 显著减小($P<0.05$), 形态规整, 单个视野下脂肪细胞数量明显增多。**结论** *AKK* 可改善高脂饲料喂养的肥胖 *ApoE*^{-/-} 小鼠的血脂异常, 并降低肥胖 *ApoE*^{-/-} 小鼠血清炎症因子水平。

【关键词】 嗜黏蛋白阿克曼菌; *ApoE* 基因敲除小鼠; 血脂代谢; 炎症因子; 肥胖

【中图分类号】 R589.2; R459.3

【文献标志码】 A

【DOI】 10.11915/j.issn.1671-5403.2022.10.167

Effects of *Akkermansia mucinophila* on lipid metabolism and inflammatory factors in obese *ApoE*^{-/-} mice induced by high-fat diet

LI Li-Ya, LIU Yu-Meng, ZHANG Yong, ZHANG Xin-Sheng, YANG Xue-Yan, LIU Ying-Hua*

(Department of Nutrition, First Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

【Abstract】 **Objective** To observe the effects of *Akkermansia muciniphila* (*AKK*) on lipid metabolism and inflammatory factors in *ApoE* knockout (*ApoE*^{-/-}) mice fed with high-fat diet. **Methods** Healthy SPF male C57BL/6J and *ApoE*^{-/-} mice (4 weeks old) were selected and fed with high-fat diet. Six weeks later, 20 *ApoE*^{-/-} mice with an average weight higher than 10% of that of C57BL/6J mice were selected and numbered randomly, and those with odd number were divided into the model group ($n=10$) and those with even number into the *AKK* intervention group ($n=10$). And another 10 C57BL/6J mice served as control group. The mice in the control group and the model group were intragastrically administrated with glycerol preparation without *AKK*, and those out of the *AKK* intervention group were given glycerol preparation containing 1×10^9 CFU *AKK*, 0.1 ml each time, once per day. After intragastric administration for

收稿日期: 2022-06-16; 接受日期: 2022-09-13

基金项目: 解放军总医院医学转化项目(ZH19012)

通信作者: 刘英华, E-mail: liuyinghua77@163.com

4 weeks, fasting body weight was measured. Serum and epididymal adipose tissues were collected from each group. Serum levels of triglyceride (TG), total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), interleukin-1 (IL-1), IL-6, IL-8, IL-10, C-reactive protein (CRP), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) were detected. The weight of epididymal adipose tissue was weighed, and the morphology was observed after HE staining to calculate the average size of epididymal adipose tissue cells. SPSS statistics 26.0 was used for data analysis. One-way analysis of variance was used for comparison among multiple groups. **Results** After 4 weeks of intragastric administration of AKK, the fasting body weight, epididymal fat weight and body fat percentage were decreased in the AKK intervention group than the model group, though the differences not significant ($P>0.05$). The AKK intervention group had significantly lower TG (0.85 ± 0.17 vs 1.65 ± 0.15 and 1.08 ± 0.09 mmol/L) and LDL-C levels (3.20 ± 0.85 vs 6.47 ± 0.87 and 4.89 ± 0.56 mmol/L), and obviously higher HDL-C (919.89 ± 116.19 vs 433.59 ± 183.85 and 721.11 ± 222.70 mmol/L) when compared with the model group and the control group (all $P<0.05$). The TC level was notably lower in the intervention group than the model group (3.00 ± 0.64 vs 5.12 ± 0.71 mmol/L, $P<0.05$). For the inflammatory factors, the levels of IL-1 (74.10 ± 25.28 vs 191.42 ± 31.36 and 123.91 ± 25.29 pg/ml), IL-6 (63.10 ± 9.53 vs 100.76 ± 11.42 and 77.76 ± 8.20 pg/ml), IL-8 (64.34 ± 10.36 vs 104.59 ± 8.46 and 82.64 ± 11.79 pg/ml), CRP (88.85 ± 24.33 vs 172.53 ± 25.41 and 122.72 ± 22.08 ng/ml), TNF- α (372.30 ± 47.05 vs 674.53 ± 62.18 and 509.97 ± 54.50 pg/ml) and MCP-1 (11.90 ± 1.58 vs 25.18 ± 2.03 and 18.59 ± 2.11 pg/ml) in the AKK group were remarkably lower than those in the model group and control group (all $P<0.05$). The IL-8 level was in a trend of increasing, but no statistical differences were seen among the 3 groups ($P>0.05$). HE staining showed that the average area of epididymal adipocytes was significantly smaller in the AKK intervention group than the model group (330.45 ± 55.84 vs 879.58 ± 36.74 μm^2 , $P<0.05$), and regular cell morphology and increased number of adipocytes in a single field of vision were also observed. **Conclusion** AKK improves dyslipidemia and reduces serum inflammatory factors in obese ApoE $^{-/-}$ mice fed with high-fat diet.

【Key words】 *Akkermansia muciniphila*; ApoE knockout mice; lipid metabolism; inflammatory factors; obesity

This work was supported by the Medical Transformation Project of Chinese PLA General Hospital (ZH19012).

Corresponding author: LIU Ying-Hua, E-mail: liuyinghua77@163.com

随着全球经济的快速发展,人们的生活方式和饮食习惯发生了极大改变,全球肥胖人数逐年增加。超重和肥胖已经发展到“流行病”的程度,成为危害全球健康的严重公共卫生问题。肥胖是引起脂代谢紊乱的相关危险因素^[1,2],多数肥胖患者均存在脂代谢紊乱。而脂代谢紊乱是动脉粥样硬化发生的独立危险因素^[3,4],在相关疾病发生发展过程中扮演着重要角色。也有研究发现,慢性全身性炎症与代谢性疾病有关,而肥胖是一类慢性低度炎症反应^[5,6],严重威胁人类身心健康,给家庭和社会带来了极大的经济负担。

近年来,随着肠道微生物生态学研究的发展以及测序和分析技术的进步,越来越多的研究表明,肠道菌群在肥胖的发生发展中发挥重要作用。本课题组前期研究发现,基线肠道微生物群作为个体减肥轨迹的预测指标优于其他因素。嗜黏蛋白阿克曼菌(*Akkermansia muciniphila*, AKK)在瘦个体中显著富集^[7],且通过动物实验证实 AKK 在改善肥胖大鼠糖脂代谢紊乱中发挥有益作用^[8]。

既往研究发现,载脂蛋白 E (apolipoprotein E, ApoE)^[9]是乳糜微粒、极低密度脂蛋白及高密度脂蛋白的重要组成部分,可调节胆固醇和脂蛋白代谢,其缺失和变异都会引起体内代谢异常及功能紊乱,

高脂饲料诱导的肥胖 ApoE 基因敲除(ApoE $^{-/-}$)小鼠短期内即可出现脂代谢异常。本研究通过高脂饲料诱导 ApoE $^{-/-}$ 小鼠建立肥胖模型,观察 AKK 对其血脂代谢及炎症因子相关指标的影响,为肥胖的治疗提供实验依据,进而为动脉粥样硬化相关疾病的治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 C57BL/6J、ApoE $^{-/-}$ 4 周龄小鼠,平均体质量为(15.25 ± 0.85)g,由北京华阜康生物科技股份有限公司提供,许可证号 SCXK 京 2019-0008。

1.2 饲料及 AKK

1.2.1 高脂饲料 喂养 H10045 饲料,由北京华阜康生物科技股份有限公司提供。能量占比为脂肪 45%、碳水化合物 35%、蛋白质 20%。

1.2.2 AKK 为德国 DSMZ 原装进口,由北京孚曼生物技术有限公司扩增并提供经低温离心后的高浓缩菌混悬液。

1.3 主要试剂及仪器

全自动生化分析仪(日立 HITACHI-7100);甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein

cholesterol, HDL-C)及低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)检测试剂盒(北京新创科兴科技有限公司);Rayto RT-6100酶标分析仪(上海酶联生物科技有限公司);白细胞介素-L(interleukin-1, IL-1)、IL-6、IL-8、IL-10、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)及单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(上海酶联生物科技有限公司);万分之一电子天平(FA-N, 中国民侨公司);台式高速冷冻离心机(TGL-16, 湘仪公司);苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色仪(Pannoramic SCAN, 匈牙利 3DHitech 公司),染色图像由武汉百仟度生物科技有限公司提供。

1.4 实验方法

1.4.1 肥胖模型建立 健康 SPF 级雄性 C57BL/6J、ApoE^{-/-}小鼠,均饲喂高脂饲料。小鼠饲养在温度 24℃、湿度 75%、12h 光照-黑暗循环的实验室中,自由饮水,自由采食配好的饲料。观察并记录动物生长与进食情况。6 周后称量小鼠空腹体质量,以 C57BL/6J 小鼠为对照组,体质量超过对照组小鼠平均体质量 10%的 ApoE^{-/-}小鼠为肥胖建模成功。

1.4.2 动物分组 选取成功建模的 ApoE^{-/-}肥胖小鼠 20 只,按数字 1~20 随机抽取进行编号,奇数为模型组,偶数为 AKK 干预组,每组各 10 只;对照组小鼠 10 只,共 3 组。

1.4.3 干预方法 对照组及模型组灌胃不含 AKK 的甘油制剂,AKK 干预组灌胃含 1×10^9 CFU AKK 的甘油制剂。每日灌胃 1 次,每次 0.1 ml,共灌胃 4 周。

1.5 观测指标

1.5.1 体质量、附睾脂肪组织质量及血液指标 干预结束后,小鼠禁食不禁水,12 h 后测空腹体质量。水合氯醛 3 ml/kg 麻醉后,腹主动脉采血,取附睾脂肪组织。用含促凝剂的真空采血管采血后,以

1 600 g/min 离心 15 min,取上清液并按试剂盒操作说明书对血液指标进行测定。采用生化法测定 TG、TC、HDL-C 及 LDL-C 水平,Elisa 法测定 IL-1、IL-6、IL-8、IL-10、CRP、TNF- α 及 MCP-1 水平。用滤纸吸干附睾脂肪组织表面的组织液,用万分之一电子天平称重并记录各组小鼠数据,计算其体脂百分比。体脂百分比=(附睾脂肪质量/小鼠体质量) $\times 100\%$ 。

1.5.2 HE 染色 用福尔马林溶液固定附睾脂肪组织,经石蜡包埋切片后用 HE 染色。脱水封片后,用显微镜镜检采集图像。将附睾脂肪组织 HE 染色切片于 200 倍显微镜下观察脂肪细胞脂滴大小,每张切片随机摄取 10 个视野,并采用 Image-Pro Plus 6.0 软件分析附睾脂肪细胞平均面积。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 26.0 统计软件进行数据处理。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),方差齐时组间两两比较采用 LSD 法,方差不齐时组间两两比较采用 Tamhane's T2 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组小鼠空腹体质量、附睾脂肪质量及体脂百分比的比较

3 组小鼠初始空腹体质量比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。喂养高脂饲料 6 周后,ApoE^{-/-}小鼠空腹体质量显著增加($P < 0.05$),建模成功。灌胃干预 4 周后,AKK 干预组小鼠空腹体质量、附睾脂肪质量及体脂百分比比较模型组均有下降趋势,但差异均无统计学意义($P > 0.05$;表 1)。

2.2 3 组小鼠血脂代谢相关指标的比较

灌胃干预 4 周后,AKK 干预组血脂代谢指标 TG、TC 及 LDL-C 显著低于模型组,TG 及 LDL-C 显著低于对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),AKK 可逆转 APOE^{-/-}导致的血脂异常的趋势。AKK 干预组 HDL-C 显著高于模型组及对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$;表 2)。

表 1 3 组小鼠空腹体质量、附睾脂肪质量及体脂百分比的比较

Table 1 Comparison of fasting body mass, epididymal fat mass and body fat percentage among three groups of mice

($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Item	Control group	Model group	Intervention group	F	P value
Initial fasting body mass(g)	15.00 \pm 0.58	15.33 \pm 0.87	15.38 \pm 1.06	0.413	0.667
Fasting body mass after 6 weeks of high fat diet(g)	23.71 \pm 2.29	27.33 \pm 2.00*	26.25 \pm 2.05*	5.978	0.009
Fasting body mass after 4 weeks of intervention(g)	22.10 \pm 1.95	26.73 \pm 1.60*	25.26 \pm 1.89*	13.230	0.000
Epididymal fat mass(g)	0.25 \pm 0.04	0.34 \pm 0.14	0.31 \pm 0.70	1.675	0.211
Body fat percentage(%)	1.12 \pm 0.13	1.25 \pm 0.48	1.24 \pm 0.30	0.325	0.726

Compared with control group, * $P < 0.05$.

表 2 3组小鼠血脂代谢相关指标的比较

Table 2 Comparison of blood lipid metabolism related indexes among three groups of mice (n=10, mmol/L, $\bar{x}\pm s$)

Item	Control group	Model group	Intervention group	F	P value
TG	1.08±0.09	1.65±0.15*	0.85±0.17*#	67.329	0.000
TC	3.55±0.75	5.12±0.71*	3.00±0.64#	20.888	0.000
HDL-C	721.11±222.70	433.59±183.85*	919.89±116.19*#	16.146	0.000
LDL-C	4.89±0.56	6.47±0.87*	3.20±0.85*#	36.471	0.000

TG: triglyceride; TC: total cholesterol; HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol; LDL-C: low-density lipoprotein cholesterol. Compared with control group, *P<0.05; compared with model group, #P<0.05.

2.3 3组小鼠炎症因子相关指标的比较

灌胃干预4周后,AKK干预组炎症因子指标IL-1、IL-6、IL-8、CRP、TNF-α及MCP-1均显著低于模型组及对照组,差异均有统计学意义(均P<0.05)。IL-10有升高趋势,但3组比较差异无统计学意义(P>0.05;表3)。

2.4 肥胖小鼠附睾脂肪组织HE染色结果

附睾脂肪组织HE染色切片于200倍显微镜下观察,发现对照组小鼠脂肪细胞排列紧密、界限清晰,单个视野下呈现出细胞直径短、体积小、数量多的特点。与对照组比较,模型组小鼠脂肪细胞大小

不均、形态不规则,呈大空泡状,细胞壁变薄,单个视野下呈现出细胞直径长、体积大、数量少的特点。而AKK干预组较模型组小鼠脂肪组织细胞大小明显缩小,形态规整,单个视野下脂肪细胞数量明显增多(图1)。用Image Pro Plus 6.0软件分析附睾脂肪细胞平均面积,结果显示与对照组比较,模型组小鼠附睾脂肪组织细胞平均面积[(879.58±36.74)和(286.20±18.00)μm²]显著增大(P<0.05);与模型组比较,AKK干预组小鼠附睾脂肪组织细胞平均面积[(330.45±55.84)和(879.58±36.74)μm²]显著减小,差异均有统计意义(均P<0.05;图2)。

表 3 3组小鼠炎症因子相关指标的比较

Table 3 Comparison of inflammatory factors related indexes among three groups of mice (n=10, $\bar{x}\pm s$)

Item	Control group	Model group	Intervention group	F	P value
IL-1 (pg/ml)	123.91±25.29	191.42±31.36*	74.10±25.28*#	38.330	0.000
IL-6 (pg/ml)	77.76±8.20	100.76±11.42*	63.10±9.53*#	30.989	0.000
IL-8 (pg/ml)	82.64±11.79	104.59±8.46*	64.34±10.36*#	33.615	0.000
IL-10 (pg/ml)	221.59±64.00	248.04±42.26	255.68±57.23	0.802	0.462
CRP (ng/ml)	122.72±22.08	172.53±25.41*	88.85±24.33*#	25.917	0.000
TNF-α (pg/ml)	509.97±54.50	672.13±66.18*	372.30±47.05*#	58.824	0.000
MCP-1 (pg/ml)	18.59±2.11	25.18±2.03*	11.90±1.58*#	101.634	0.000

IL-1: interleukin-1; IL-6: interleukin-6; IL-8: interleukin-8; IL-10: interleukin-10; CRP: C-reactive protein; TNF-α: tumor necrosis factor-α; MCP-1: monocyte chemoattractant protein-1. Compared with control group, *P<0.05; compared with model group, #P<0.05.

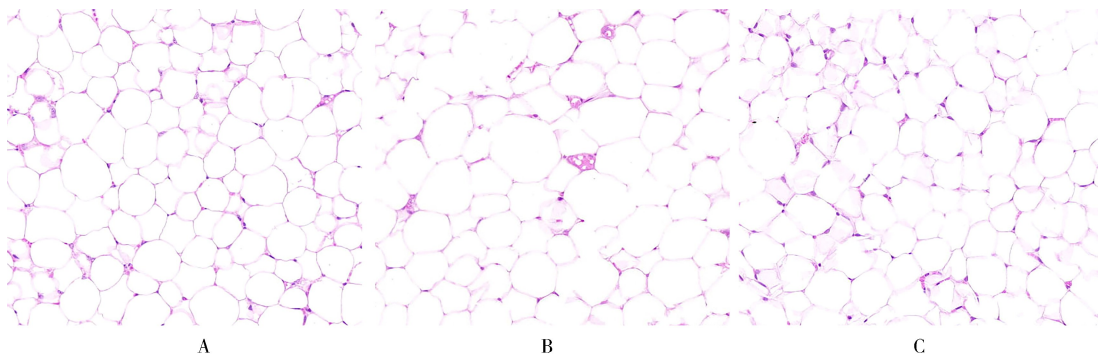


图 1 3组小鼠附睾脂肪组织HE染色

Figure 1 HE staining of epididymal adipose tissue among three groups of mice (×200)

A: control group; B: model group; C: intervention group. HE: hematoxylin-eosin

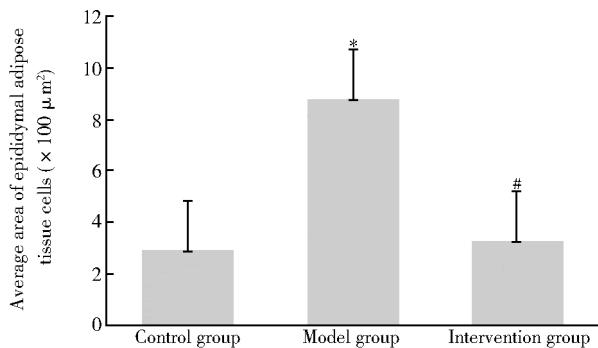


图2 3组小鼠附睾脂肪组织细胞平均面积比较

Figure 2 Comparison of average area of epididymal adipose tissue cells among three groups of mice

Compared with control group, * $P < 0.05$; compared with model group, # $P < 0.05$.

3 讨论

肥胖个体多数伴随脂代谢紊乱。有研究发现, ApoE^{-/-}小鼠喂养高脂饲料短期内会出现脂代谢紊乱^[9,10]。本研究通过高脂饲料喂养 ApoE^{-/-}小鼠6周, 设定按体质量超过对照组小鼠平均体质量10%的肥胖个体为实验动物模型。从实验结果分析, 模型组血清血脂代谢指标及 HE 染色下脂肪组织细胞平均面积均高于对照组, 差异有统计学意义。反向证实, 本研究设定成立。本课题组前期研究证实, 1×10^9 CFU/d 浓度的 AKK 在改善肥胖大鼠糖脂代谢紊乱中发挥有益作用。故本研究将 AKK 的干预浓度定为 1×10^9 CFU/d, 通过空腹体质量、附睾脂肪质量、血脂代谢指标及血清中炎症因子指标水平评价 AKK 对脂代谢紊乱的干预作用, 为临床深入研究 AKK 对脂代谢紊乱的作用机制提供实验依据。

本研究结果显示, 灌胃干预4周后, 与模型组相比, 1×10^9 CFU/d 浓度的 AKK 可降低 ApoE^{-/-}小鼠 TG、TC 及 LDL-C 水平, 升高 HDL-C 水平 (均 $P < 0.05$), 与 Plovier 等^[11]的研究结果一致。AKK 干预改善了肥胖 ApoE^{-/-}小鼠血脂代谢指标。此外, AKK 干预组较模型组体质量虽有下降趋势, 但差异无统计学意义。可能由于 AKK 干预时间短, 体质量未出现明显差异。

本研究结果显示, 1×10^9 CFU/d 浓度的 AKK 改善了高脂饲料喂养的肥胖 ApoE^{-/-}小鼠的血清炎症因子水平, 与相关研究^[12,13]结果一致, AKK 对缓解宿主代谢炎症具有积极作用。1993年, Hotamisligil 等^[14]于动物模型中首次发现肥胖与炎症密切相关。随着研究的进展, 肥胖作为慢性炎症性疾病的观点

被广泛认可^[15,16]。相关研究证实, 肥胖患者脂肪组织增生会导致 IL-1、IL-6、CRP、TNF- α 及 MCP-1 等炎症因子的过度分泌和表达, 缓解慢性炎症已成为治疗和预防肥胖及相关代谢性综合征的新靶点^[17,18]。近年来, 有研究显示, AKK 有助于降低血清 TNF- α 、IL-8 水平, 增加 IL-10 的表达^[19,20]。其可通过诱导 T 调节细胞减轻内脏脂肪组织的炎症^[21]。AKK 补充剂可减少肝脏和肌肉中的代谢性内毒素血症和炎症信号传导^[22]。

本研究在 200 倍显微镜下观察附睾脂肪组织 HE 染色切片, 发现 AKK 干预组较模型组小鼠脂肪组织细胞大小缩小, 形态规整; 附睾脂肪组织细胞平均面积显著减小 ($P < 0.05$), 表明 AKK 可改善体内脂肪堆积。但是, AKK 干预组及模型组, 仅在附睾脂肪组织病理形态下呈现差异性, 2 组附睾脂肪质量比较, 差异无统计学意义。可能由于本研究样本量小, 附睾脂肪质量未能出现差异性, 今后有待进一步大样本实验对结果进行验证。

综上, 本研究为肥胖的治疗提供了进一步的实验依据, 为动脉粥样硬化的防治提供新的治疗思路。此外, 本课题组对研究中小鼠的肠道菌群丰度、组织中炎症因子的水平和表达也进行了相关测定, 后续将进一步探讨 AKK 对血脂代谢及炎症因子的作用机制。随着人们对 AKK 研究的不断深入, 相信不久的将来其会为超重与肥胖及肥胖代谢性疾病的预防及治疗提供新的方向 and 选择。

【参考文献】

- [1] 于进海, 周林康, 吴丽贞, 等. 肥胖的基础研究[J]. 生命科学, 2015, 27(3): 268-279. DOI: 10.13376/j.cbls/2015037. Yu JH, Zhou LK, Wu LZ, et al. Basic research in obesity[J]. Chin Bulletin Life Sci, 2015, 27(3): 268-279. DOI: 10.13376/j.cbls/2015037.
- [2] Vekic J, Zeljkovic A, Stefanovic A, et al. Obesity and dyslipidemia[J]. Metabolism, 2019, 92: 71-81. DOI: 10.1016/j.metabol.2018.11.005.
- [3] 李文毅, 周春阳. 高脂血症与动脉粥样硬化和脂代谢研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(10): 811. Li WY, Zhou CY. Research progress in hyperlipidemia, atherosclerosis and lipid metabolism[J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2019, 33(10): 811.
- [4] 蔡东成, 刘虹霞, 刘丹媚, 等. 脂质代谢与降脂药物研究进展[J]. 药学进展, 2020, 44(5): 379-386. Cai DC, Liu HX, Liu DM, et al. Advances in the research on lipid metabolism and lipid-lowering drugs[J]. Prog Pharm Sci, 2020, 44(5): 379-386.
- [5] Leite F, Ribeiro L. Dopaminergic pathways in obesity-associated

- inflammation[J]. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2020, 15(1): 93-113. DOI: 10.1007/s11481-019-09863-0.
- [6] 郭晓坤, 王林. 炎症因素与动脉粥样硬化病变发病机制关系的研究进展[J]. *医学综述*, 2020, 26(16): 3160-3166. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2020.16.008.
- Guo XK, Wang L. Research progress in relationship between inflammatory factors and pathogenesis of atherosclerosis[J]. *Med Recapitulate*, 2020, 26(16): 3160-3166. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2020.16.008.
- [7] Jie Z, Yu X, Liu Y, et al. The baseline gut microbiota directs dieting-induced weight loss trajectories [J]. *Gastroenterology*, 2021, 160(6): 2029-2042, e16. DOI: 10.1053/j.gastro.2021.01.029.
- [8] 李丽雅, 刘玉猛, 李惠子, 等. AKK 菌对高脂饲料诱导的肥胖大鼠糖脂代谢的影响[J]. *中国食物与营养*, 2022, 28(7): 41-45. DOI: 10.19870/j.cnki.11-3716/ts.20220302.001.
- Li LY, Liu YM, Li HZ, et al. Effects of AKK bacteria on glycolipid metabolism in obese rats fed with high-fat diet [J]. *Food Nutr China*, 2022, 28(7): 41-45. DOI: 10.19870/j.cnki.11-3716/ts.20220302.001.
- [9] 宋珂, 侯彦宏, 杨会, 等. ApoE 基因敲除小鼠疾病模型的研究进展[J]. *中国医药导报*, 2019, 16(18): 42-44, 48.
- Song K, Hou YH, Yang H, et al. Advances in research on disease model of ApoE knockout mice[J]. *China Med Her*, 2019, 16(18): 42-44, 48.
- [10] 张文将, 易健, 贾平, 等. 载脂蛋白 E 基因敲除(APOE^{-/-})小鼠基因的鉴定方法及模型应用[J]. *中国组织工程研究*, 2019, 23(7): 1103-1108. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.1059.
- Zhang WJ, Yi J, Jia P, et al. Genotype identification and model application of apolipoprotein E knockout mice [J]. *Chin J Tissue Eng Res*, 2019, 23(7): 1103-1108. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.1059.
- [11] Plovier H, Everard A, Druart C, et al. A purified membrane protein from *Akkermansia muciniphila* or the pasteurized bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice[J]. *Nat med*, 2017, 23(1): 107-113. DOI: 10.1038/nm.4236.
- [12] Schneeberger M, Everard A, Gómez-Valadés AG, et al. *Akkermansia muciniphila* inversely correlates with the onset of inflammation, altered adipose tissue metabolism and metabolic disorders during obesity in mice[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 16643. DOI: 10.1038/srep16643.
- [13] Dao MC, Everard A, Aron-Wisniewsky J, et al. *Akkermansia muciniphila* and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity; relationship with gut microbiome richness and ecology [J]. *Gut*, 2016, 65(3): 426-436. DOI: 10.1136/gutjnl-2014-308778.
- [14] Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance[J]. *Science*, 1993, 259(5091): 87-91. DOI: 10.1126/science.7678183.
- [15] Hotamisligil GS. Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders[J]. *Nature*, 2017, 542(7640): 177-185. DOI: 10.1038/nature21363.
- [16] 周海丽. 连陈汤治疗单纯性肥胖的疗效观察及对血清 TNF- α 、Chemerin 的影响 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2019. DOI: 10.27127/d.cnki.ghlzu.2019.000303.
- Zhou HL. Curative effect observation of Lianchen decoction on simple obesity and its effect on serum TNF- α and Chemerin [D]. Harbin: Heilongjiang Univ Chin Med, 2019. DOI: 10.27127/d.cnki.ghlzu.2019.000303.
- [17] Kojta I, Chacińska M, Błachnio-Zabielska A. Obesity, bioactive lipids, and adipose tissue inflammation in insulin resistance[J]. *Nutrients*, 2020, 12(5): 1305. DOI: 10.3390/nu12051305.
- [18] Sanada S, Suzuki T, Nagata A, et al. Intestinal microbial metabolite sterobilin involvement in the chronic inflammation of ob/ob mice[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 6479. DOI: 10.1038/s41598-020-63627-y.
- [19] Mulhall H, DiChiara JM, Huck O, et al. Pasteurized *Akkermansia muciniphila* reduces periodontal and systemic inflammation induced by porphyromonas gingivalis in lean and obese mice[J]. *J Clin Periodontol*, 2022, 49(7): 717-729. DOI: 10.1111/jcpe.13629.
- [20] Zhai R, Xue X, Zhang L, et al. Strain-specific anti-inflammatory properties of two *Akkermansia muciniphila* strains on chronic colitis in mice[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2019, 9: 239. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00239.
- [21] Plovier H, Everard A, Druart C, et al. A purified membrane protein from *Akkermansia muciniphila* or the pasteurized bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice[J]. *Nat Med*, 2017, 23(1): 107-113. DOI: 10.1038/nm.4236.
- [22] Zhao S, Liu W, Wang J, et al. *Akkermansia muciniphila* improves metabolic profiles by reducing inflammation in chow diet-fed mice[J]. *J Mol Endocrinol*, 2017, 58(1): 1-14. DOI: 10.1530/jme-16-0054.

(编辑: 和雨璇)