

添加烟酰胺单核苷酸/烟酰胺核苷对小鼠肠道微生物及代谢物的影响

倪冰, 朱莉莉, 陈好, 史新娥, 靳建军*

西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西省动物遗传育种与繁殖重点实验室, 陕西 杨凌

倪冰, 朱莉莉, 陈好, 史新娥, 靳建军. 添加烟酰胺单核苷酸/烟酰胺核苷对小鼠肠道微生物及代谢物的影响[J]. 微生物学报, 2025, 65(9): 4119-4135.

NI Bing, ZHU Lili, CHEN Hao, SHI Xin'e, JIN Jianjun. Effects of nicotinamide mononucleotide/nicotinamide riboside supplementation on gut microbiota and metabolites in mice[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2025, 65(9): 4119-4135.

摘要: 烟酰胺单核苷酸(nicotinamide mononucleotide, NMN)和烟酰胺核苷(nicotinamide riboside, NR)是氧化还原辅酶烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD)的2种前体物质, 因其能够有效增加机体NAD浓度且无毒副作用而受到广泛关注。【目的】联合代谢组学和16S rRNA基因测序技术, 探讨饲喂NMN或NR对小鼠生长性能、肠道健康、肠道微生物群和代谢物的影响, 并比较两者的功效。【方法】将雄性C57小鼠随机分为对照组和2个试验组, 试验组分别灌胃添加NMN或NR的饮用水, 利用非靶向代谢组学技术和16S rRNA基因测序技术联合分析小鼠内源性代谢物和肠道菌群的变化, 并通过PCR检测相关因子的表达。【结果】与对照组相比, 添加NMN或NR均可增加小鼠肠道微生物的丰富度和多样性, 并改善微生物群的组成结构, 其中添加NMN的效果更显著。与对照组相比, 添加NMN和NR均可显著上调抗炎和抗氧化相关代谢物的水平; PCR检测结果表明, NMN和NR均可抑制促炎因子的表达。此外, 添加NMN还可显著增加结肠杯状细胞的数量, 从而增强肠道屏障功能。【结论】饲喂NMN或NR可改善小鼠肠道微生物群结构, 增加有益代谢物, 并抑制促炎因子的表达。

关键词: 肠道微生物; 代谢组学; 烟酰胺单核苷酸; 烟酰胺核苷

资助项目: 中央高校基本科研业务费专项资金(Z1090223017); 陕西省秦创原引用高层次创新创业人才项目(QCYRCXM-2022-212); 陕西省畜禽育种“两链”融合重点项目(2022GD-TSLD-46)

This work was supported by the Fundamental Research Funds for the Central Universities (Z1090223017), the Qin Chuang Yuan Innovation and Entrepreneurship Talent Project (QCYRCXM-2022-212), and the Shaanxi Livestock and Poultry Breeding Double-chain Fusion Key Project (2022GD-TSLD-46).

*Corresponding author. E-mail: jinjianjun2021@nwfufu.edu.cn

Received: 2025-03-04; Accepted: 2025-04-08; Published online: 2025-06-11

Effects of nicotinamide mononucleotide/nicotinamide riboside supplementation on gut microbiota and metabolites in mice

NI Bing, ZHU Lili, CHEN Hao, SHI Xin'e, JIN Jianjun*

Key Laboratory of Animal Genetic Breeding and Reproduction in Shaanxi Province, College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi, China

Abstract: Nicotinamide mononucleotide (NMN) and nicotinamide riboside (NR) are two precursors of the redox coenzyme nicotinamide adenine dinucleotide (NAD). Due to their ability to effectively increase NAD levels without toxic side effects, they have garnered significant attention. **[Objective]** This study employed an integrated approach combining metabolomics and 16S rRNA gene sequencing to investigate and compare the effects of NMN or NR supplementation on growth performance, intestinal health, gut microbiota, and metabolites in mice. **[Methods]** Male C57 mice were randomly allocated into a control group and two experimental groups. The experimental groups received drinking water supplemented with NMN or NR via gavage. Non-targeted metabolomics analysis and 16S rRNA gene sequencing were conducted to systematically investigate the alterations in endogenous metabolites and gut microbiota composition. Furthermore, the expression levels of associated factors were quantified by PCR. **[Results]** Compared with the control group, supplementation with NMN or NR increased the richness and diversity and improved the composition of gut microbiota in mice, with NMN showing greater efficacy. Additionally, both NMN and NR supplementation significantly upregulated the expression levels of metabolites associated with anti-inflammatory and antioxidant activities. PCR results indicated that both NMN and NR suppressed the expression of pro-inflammatory cytokines. Furthermore, NMN supplementation significantly increased the number of goblet cells in the colon, thereby enhancing the intestinal barrier function. **[Conclusion]** Dietary supplementation with NMN or NR improves the gut microbiota composition in mice, elevates the levels of beneficial metabolites, and inhibits the expression of pro-inflammatory cytokines.

Keywords: gut microbiota; metabolomics; nicotinamide mononucleotide; nicotinamide riboside

人类肠道微生物群主要由芽孢杆菌门 (*Bacillota*)、拟杆菌门 (*Bacteroidota*)、放线菌门 (*Actinomycetota*)、梭杆菌门 (*Fusobacteriota*)、假单胞菌门 (*Pseudomonadota*)、疣杆菌门 (*Verrucomicrobiota*)和蓝细菌门 (*Cyanobacteriota*) 7个菌门组成^[1]。肠道微生物群具有促进食物分解,使其更容易吸收和消化、合成必需维生素、去除有毒化合物、抵抗病原体、维持肠黏膜完整性和调节免疫功能等^[2]。肠道微生物群的失衡会

影响肠黏膜完整性,引起微生物群落侵入黏膜细胞,诱导代谢性疾病的发生,如肥胖、2型糖尿病和非酒精性脂肪肝等疾病^[3]。肠道微生物群对宿主生理机能的益处可归纳为三大类:为宿主提供能量和营养、调节免疫系统的发育和增强宿主防御能力。肠道微生物群的组成与功能的异常变化通常被称为菌群失调,可导致宿主-微生物群相互作用的破坏和宿主免疫系统的紊乱^[4]。近年来,鉴于肠道微生物群的重要性和潜在价值,微生物

群的组成及调节已成为肠道健康的重要研究方向。

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD) 是氧化还原反应中的重要辅酶, 作为糖酵解、氧化磷酸化及三羧酸循环中关键酶的辅助因子发挥着重要作用^[5]。NAD⁺是 NAD 的氧化型, 与多种关键细胞功能直接或间接相关, 包括保护线粒体功能、维持氧化还原稳态、发挥抗炎作用、抗衰老、调节细胞分化、影响基因组稳定性及表观遗传修饰等^[6]。研究表明 NAD⁺在肠杯状细胞中可以刺激黏蛋白产生, 从而维持肠黏膜的完整性, 对肠道免疫屏障起到促进作用^[7]。根据现有研究, 细胞内合成 NAD⁺有 3 种途径, 涉及许多不同的前体化合物。通过生物合成前体增加 NAD⁺水平, 可能有助于预防或缓解多种疾病, 尤其是代谢疾病和与年龄相关的疾病。哺乳动物自身无法合成 NAD⁺, 因此必须通过摄入色氨酸(Trp)或多种膳食来源获取 NAD 前体, 包括烟酰胺单核苷酸 (nicotinamide mononucleotide, NMN)、烟酸 (nicotinic acid, NA)、烟酰胺 (nicotinamide, NAM)、烟酰胺核糖 (nicotinamide riboside, NR) 等^[8]。已有研究表明, NR 和 NMN 对机体的耐受性良好^[9-10], 能有效提高各组织中的 NAD⁺浓度, 而 NA 则被报道会引起严重的恶心和潮红反应, NAM 则可能导致肝毒性^[11]。因此 NAD 的前体烟酰胺单核苷酸(NMN)和烟酰胺核糖(NR)受到了广泛关注。

NMN 和 NR 对机体生理功能的有益作用已被充分证实。NMN 给药可改善由高脂饮食诱导的肝脏胰岛素抵抗, 从而发挥抗糖尿病作用; NMN 还能提升骨骼肌、肝脏和心脏等代谢器官的线粒体功能, 并对大脑的神经元功能具有正向改善作用^[12-13]; NMN 还对肠黏膜提供保护作用, 积极促进肠道健康^[14]。NR 同样对改善小鼠的代谢健康状况显示出良好的效果, 包括缓解肥胖、维持肌肉稳态以及增强小鼠的耐力^[15]; NR 还可促进成肌细胞的分化, 并调节肠道微生物群的组成^[16]。因此通过补充 NR 提高 NAD 含量被认为

是一种有前景的策略, 用于改善肝脏健康^[17]。

基于现有研究, NMN 和 NR 在调节机体新陈代谢及维持肠道健康方面具有广阔的应用潜力。补充 NAD 前体如 NMN 或 NR 可能通过调节肠道菌群的结构及改变代谢物的组成, 从而改善动物的生长性能及相关生理功能。然而, 目前尚不明确补充 NMN 与 NR 对肠道健康的改善效果是否存在差异, 2 种前体化合物对肠道微生物及代谢产物的影响是否存在差异尚不清楚。因此本研究以 C57 小鼠为实验对象, 探讨 NAD 前体 NMN 和 NR 对小鼠肠道菌群、肠道代谢物及生长性能的影响, 分析两者之间的异同, 以期 NMN 和 NR 在改善机体健康方面的应用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

烟酰胺单核苷酸(NMN)、烟酰胺核糖(NR)均购自上海迈瑞尔生化科技有限公司; 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, H&E), 西安依科生物技术有限公司; Soil DNA Kit, Omega Bio-Tek 公司; MiSeq Reagent Kit v3, Illumina 公司。

PCR 引物由北京擎科生物科技股份有限公司合成, 引物序列如表 1 所示。

跑步机, 安徽正华生物仪器设备有限公司; 质谱检测器, ThermoFisher Scientific 公司。

表1 本研究所用PCR引物

Table 1 PCR primer used in this study

Primers name	Primer sequences (5'→3')
TNF- α -F	GGTGCCTATGTCTCAGCCTCTT
TNF- α -R	GCCATAGAACTGATGAGAGGGAG
IL-1 β -F	GAAATGCCACCTTTTGACAGTG
IL-1 β -R	TGGATGCTCTCATCAGGACAG
NF- κ B-F	GACACGACAGAATCCTCAGCATCC
NF- κ B-R	CCACCAGCAGCAGCAGACATG
IL-6-F	TGCAAGAGACTTCCATCCAGT
IL-6-R	GTGAAGTAGGGAAGGCCG
β -actin-F	GTCCACCTTCCAGCAGATGT
β -actin-R	GAAAGGGTGTAACGCAGC

1.2 试验动物分组及饲养方案

五周龄 C57BL/6J 雄性小鼠购自重庆腾鑫生物技术有限公司西安分公司, 本研究所有动物实验获得西北农林科技大学动物伦理委员会批准, 编号为 IACUC2025-0309。

45 只小鼠, 随机分为 3 组, 每组 15 只, 分别为对照组(CON)、添加烟酰胺单核苷酸组(NMN)与添加烟酰胺核苷组(NR)。每组分为 5 笼, 每笼 3 只小鼠。适应性饲养 1 周后正式开始试验。试验组 NR 与 NMN 的添加量均为 400 mg/(kg·d)^[18], 溶剂为饮用水, 每日固定时间进行灌胃, 1 周 5 次, 对照组灌胃等量的饮用水。所有小鼠均饲养在西北农林科技大学实验动物中心(SPF 级), 小鼠自由采食和饮水, 温度条件为(25±2) °C, 湿度为 50%–60%。

1.3 生长性能测定

试验期间每周记录小鼠的体重及采食量。饲喂 8 周后, 采用握力测试和跑步实验测试小鼠的运动耐力。握力测试: 将小鼠置于铁丝网上, 小鼠抓牢铁丝网后倾斜铁丝网并与地面垂直, 测定小鼠跌落的时间。跑步实验: 实验前小鼠在跑步机上以 10 m/min 的速度奔跑 10 min, 进行为期 3 d 的适应性训练。正式测试设置参数: 电刺激强度 0.2 mA, 力竭标准为 20 次/30 s, 起始速度由 10 m/min 缓慢增至 20 m/min, 直至小鼠力竭。

1.4 染色和形态学分析

麻醉后, 通过颈椎脱臼实施安乐死。沿腹中线开腹, 定位并剪取十二指肠、回肠和结肠, 用预冷 PBS 冲洗。部分组织用 4% 多聚甲醛固定, 其余组织液氮速冻后存于-80 °C 冰箱。组织经 4% 多聚甲醛固定 24 h 后, 用 PBS 冲洗, 脱水、包埋制作石蜡组织切片, 进行 H&E 染色处理。对结肠组织切片进行阿利辛蓝(alcian)染色处理。在光学显微镜下观察小肠绒毛高度和隐窝深度以及结肠黏膜杯状细胞数量, 并通过 ImageJ 软件进行定量。对肌肉和脂肪组织进行称重统计与形态对比。

1.5 小鼠结肠组织炎症因子测定

取适量结肠样本, Trizol 法提取组织 RNA, 测量提取的 RNA 浓度后将其反转录为 cDNA, 使用炎症因子引物进行定量 PCR 检测, 检测样本中的白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素 6 (interleukin 6, IL-6)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)和核因子- κ B 通路(nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF- κ B), 引物序列见表 1。RT-qPCR 反应体系按照 SYBR Primerx Ex Taq™ II 说明书配制。将配制好的试剂经离心后加入 384 孔板, 置于实时荧光定量 PCR 仪中检测。扩增程序: 95 °C 预变性 30 s; 95 °C 变性 5 s, 60 °C 退火延伸 30 s, 进行 40 个循环。采用 2^{- $\Delta\Delta$ C_t}法计算基因的相对表达水平, 以 β -actin 作为内参基因。

1.6 16S rRNA 基因高通量测序分析

分离结肠并在两端结扎, 剪取整段结肠置于无菌培养皿中。纵向剪开结肠, 用无菌刮勺收集内容物, 放入无菌离心管中。每笼随机选取 1 只小鼠即每组随机选取 5 只小鼠的结肠内容物送至苏州帕诺米克生物医药科技有限公司进行高通量测序分析, 使用 Soil DNA Kit 提取总基因组 DNA 样品, 经质检后于-20 °C 保存。对肠道微生物 16S rRNA 基因 V3–V4 区域进行 PCR 扩增, 引物为 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3')和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'), 扩增产物纯化后进行定量。使用 MiSeq Reagent Kit v3 在 Illumina MiSeq 平台进行高通量测序。测序原始数据已上传至 NCBI SRA 数据库, 编号为 PRJNA1230388。对原始数据进行序列分析与扩增子序列变体(amplicon sequence variants, ASVs)对齐、分类等, 使用 Chao1 指数和 Shannon 指数等 α 多样性指数来评估结肠微生物群的均匀性; 非度量多维量表(nonmetric multidimensional scaling, NMDS)用于评估 β 多样性。线性判别分析(linear discriminant analysis, LDA)和效应大小测量使用

LDA effect size (LEfSe)方法, 以确定 3 组之间物种丰度谱的差异。

1.7 非靶向代谢组学分析

结肠内容物样品同 1.6 节, 提取代谢物进行非靶向代谢组学检测(诺米代谢)。使用超高效液相系统和质谱检测器进行上机检测, 在正离子和负离子模式下对所有样品进行分析。根据 $VIP > 1$ 和 $P < 0.05$ (Student's t 检验) 确定显著性。使用 MetaboAnalyst (v6.0) 对差异代谢物进行通路分析。

1.8 统计分析

使用 GraphPad Prism 9.0 进行数据分析与绘制, 结果以平均值 $\pm$ 标准误(SEM)表示, 各组之间的差异使用 t 检验或单因素方差分析, 在 $P < 0.05$ 时, 结果被认为具有统计学意义。

16SrRNA 基因测序结果使用 R 软件(v2.15.3)进

行 α 、 β 多样性指数组间差异分析。使用 R 软件(v2.15.3)对各分类水平下的组间差异物种进行 t 检验。*表示 $P < 0.05$; **表示 $P < 0.01$; ***表示 $P < 0.001$; ****表示 $P < 0.0001$; ns 表示差异无统计学意义。差异肠道微生物和其差异代谢物的关联分析用 R 软件进行 Spearman 相关性分析, $|r| > 0.8$ 且 $P < 0.05$ 认为有显著性意义, 结果以热图展示。

2 结果与分析

2.1 饲喂 NMN 和 NR 对小鼠生长性能的影响

饲喂 NMN 和 NR 对小鼠生长性能的影响结果如图 1 所示。结果显示, 饲喂 NMN 和 NR 对小鼠体重增长无显著影响(图 1A)。与对照组相

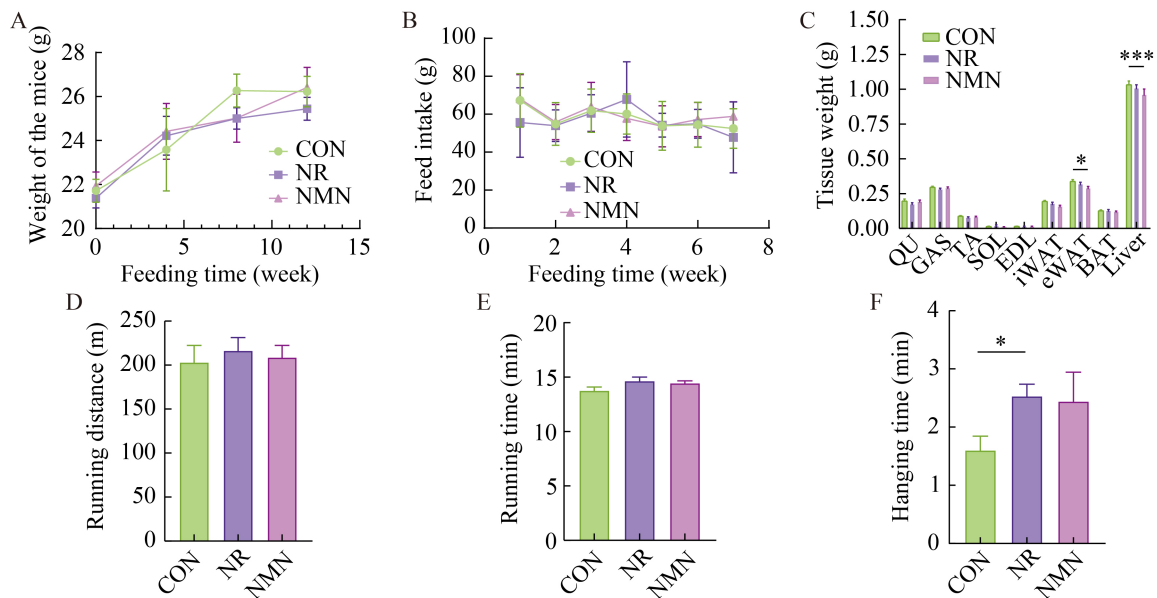


图1 饲喂NMN和NR对小鼠生长性能的影响。 A: 小鼠体重变化; B: 小鼠采食量统计; C: 小鼠肌肉、脂肪以及肝脏组织质量统计(QU: 股四头肌; GAS: 腓肠肌; TA: 胫骨前肌; SOL: 比目鱼肌; EDL: 趾长伸肌; iWAT: 腹股沟白色脂肪组织; eWAT: 附睾白色脂肪组织; BAT: 棕色脂肪组织); D: 小鼠跑步距离统计; E: 小鼠跑步时间统计; F: 小鼠抓握能力统计。

Figure 1 Effects of feeding NMN or NR on growth performance of mice. A: Changes in mouse body weight; B: Statistics of mouse food intake; C: Statistics of mouse muscle, fat and liver tissue weight (QU: Quadriceps femoris; GAS: Gastrocnemius; TA: Tibialis anterior; SOL: Soleus; EDL: Extensor digitorum longus; iWAT: Inguinal white adipose tissue; eWAT: Epididymal white adipose tissue; BAT: Brown adipose tissue); D: Statistics of mouse running distance; E: Statistics of mouse running time; F: Statistics of mouse grasping ability.

比, NMN 和 NR 组小鼠的采食量(图 1B)、肌肉和脂肪质量(图 1C)均无显著差异。对小鼠运动能力的分析表明, 饲喂 NMN 和 NR 对小鼠跑步距离(图 1D)和跑步时间(图 1E)与对照组相比均无显著影响, 而饲喂 NR 可显著增加小鼠的抓握能力(图 1F)。

2.2 饲喂 NMN 和 NR 对小鼠肠道形态的影响

小鼠回肠组织 H&E 染色结果如图 2A 所示。测量小肠绒毛高度(图 2C)和隐窝深度(图 2D), 并计算肠绒毛高度与隐窝深度的比值(图 2E), 结果显示 3 组之间无显著差异, 表明饲喂 NMN 和 NR 对肠道吸收功能无显著影响。

对结肠组织进行阿利新蓝染色并进行杯状细胞计数统计, 结果显示, 与对照组相比添加 NMN 饲喂的小鼠结肠组织杯状细胞数量显著增多(图 2B、2F)。由于消化道中的杯状细胞分泌黏蛋白, 在消化道内与水、无机盐、抗菌肽等共同组成肠道黏液屏障, 因此饲喂 NMN 可增强

小鼠结肠黏膜屏障功能。

2.3 饲喂 NMN 和 NR 对小鼠肠道炎症指标的影响

利用 RT-qPCR 检测饲喂 NMN 和 NR 对肠道炎症因子基因表达水平的影响。结果显示, 饲喂 NMN 和 NR 均可以显著下调肠道内促炎因子 TNF- α 、IL-6 的表达($P<0.05$) (图 3)。上述结果表明, 饲喂 NMN 和 NR 均可抑制促炎因子的表达, 降低肠道炎症的发生, 两者在抗炎功能方面无显著差异。

2.4 饲喂 NMN 和 NR 对小鼠肠道微生物多样性的影响

通过 α 多样性指标分析肠道微生物群多样性的变化。Chao1 指数和 observed_species 指数反映了肠道微生物物种的丰富度, Shannon 指数和 Simpson 指数则反映了肠道微生物群落的多样性。与对照组相比, 饲喂 NMN 组小鼠肠道微生物的 Chao1、observed_species、Shannon、

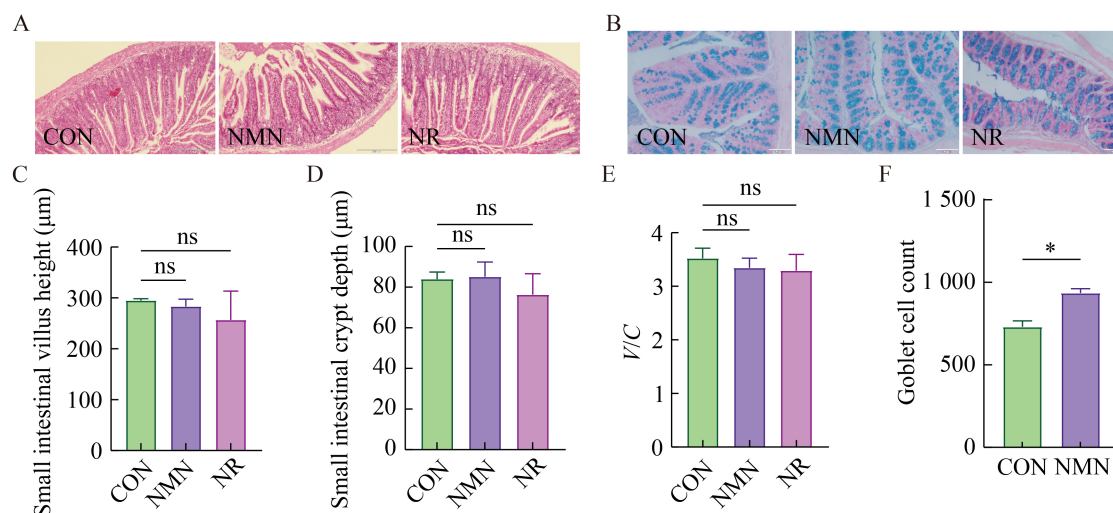


图2 饲喂NMN和NR对小鼠肠道形态的影响。A: 小鼠肠道H&E染色结果; B: 小鼠结肠阿利新蓝染色结果; C: 小鼠小肠绒毛高度统计; D: 小鼠小肠隐窝深度统计; E: 小鼠肠绒毛高度与隐窝深度比值(V/C); F: 小鼠结肠杯状细胞数量统计。

Figure 2 Effects of feeding NMN or NR on intestinal morphology in mice. A: H&E staining results of mouse intestine; B: Alcian blue staining results of mouse colon; C: Statistics of mouse small intestinal villus height; D: Statistics of mouse small intestinal crypt depth; E: Ratio of mouse intestinal villus height to crypt depth (V/C); F: Statistics of mouse colon goblet cells.

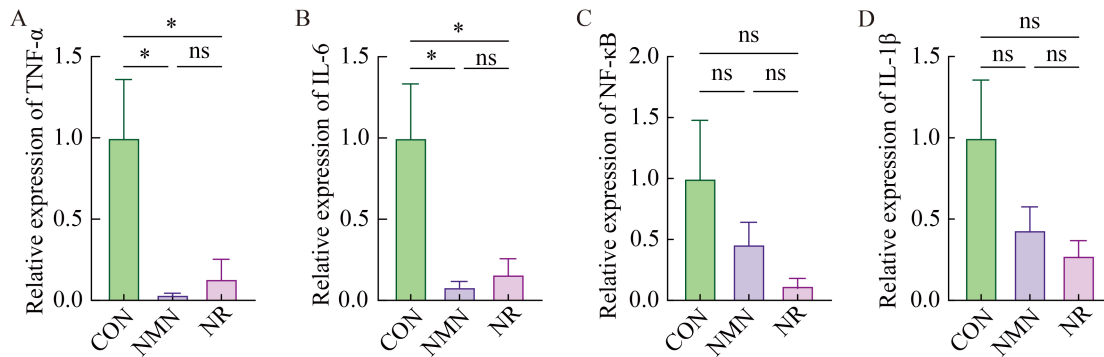


图3 饲喂NMN和NR对小鼠肠道炎症因子的影响。A: 肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)的PCR表达结果; B: 白细胞介素6(interleukin 6, IL-6)的PCR表达结果; C: 核因子-kB通路(nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)的PCR表达结果; D: 白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)的PCR表达结果。

Figure 3 Effects of feeding NMN or NR on intestinal inflammatory factors in mice. A: PCR expression results of tumor necrosis factor- α (TNF- α); B: PCR expression results of interleukin 6 (IL-6); C: PCR expression results of nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; D: PCR expression results of interleukin-1 β (IL-1 β).

Simpson 指数均显著升高(图 4A), 而饲喂 NR 组小鼠肠道微生物的 Chao1、observed_species、Shannon 指数显著升高(图 4B), 表明饲喂 NMN 或 NR 均显著提高了肠道微生物的物种丰富度和群落多样性。进一步比较 NMN 组与 NR 组小鼠肠道微生物多样性发现, 饲喂 NMN 对肠道微生物群的多样性影响更大(图 4C)。

2.5 饲喂 NMN 和 NR 对肠道微生物物种组成结构的影响

β 多样性用于反映样本间微生物群落的差异, 结果显示对照组与 NMN 组和 NR 组间样本距离较远, 表明样本群落的物种组成存在显著差异(图 5A、5B), 说明饲喂 NMN 或 NR 均可调节肠道微生物群的组成。

在门水平上, 相对丰度大于 1% 的有 7 种菌门, 其中芽孢杆菌门(*Bacillota*)和拟杆菌门(*Bacteroidota*)是小鼠的主要优势菌群(图 5C、5D)。由于芽孢杆菌门和拟杆菌门的比值(*Bacillota*/*Bacteroidota*)可作为肠道菌群失调的相关标志物, 因此对 3 组的芽孢杆菌门和拟杆菌

门的物种组成进行了数量统计与比值计算。相比对照组, 饲喂 NMN 或 NR 均降低了肠道芽孢杆菌门和拟杆菌门的比值, 但差异并不显著(图 5E、5F), 表明添加 NMN 或 NR 在不影响肠道菌群失调的条件下改变了肠道芽孢杆菌门和拟杆菌门的比例。

为了进一步比较肠道微生物群的具体差异, 对肠道微生物在不同分类水平下构成进行了统计比较。在门水平上, 饲喂 NMN 或 NR 均显著提高了拟杆菌门(*Bacteroidota*)、假单胞菌门(*Pseudomonadota*)的丰度, 降低了放线菌门(*Actinomycetota*)的丰度($P < 0.05$), 其中饲喂 NR 组相较于饲喂 NMN 组, 假单胞菌门的丰度也显著提高(图 5G)。在属水平上, 饲喂 NMN 显著升高了肠道文肯菌属(*Rikenella*)、阿德勒克洛伊次菌属(*Adlercreutzia*)的丰度($P < 0.05$); 饲喂 NR 显著升高了肠道文肯菌属(*Rikenella*)、阿德勒克洛伊次菌属(*Adlercreutzia*)、瘤胃球菌属(*Ruminococcus*)的丰度, 降低了肠道双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)的丰度($P < 0.05$), 且 NMN 组和 NR 组在阿德勒克洛伊次菌属和瘤胃球菌属的表

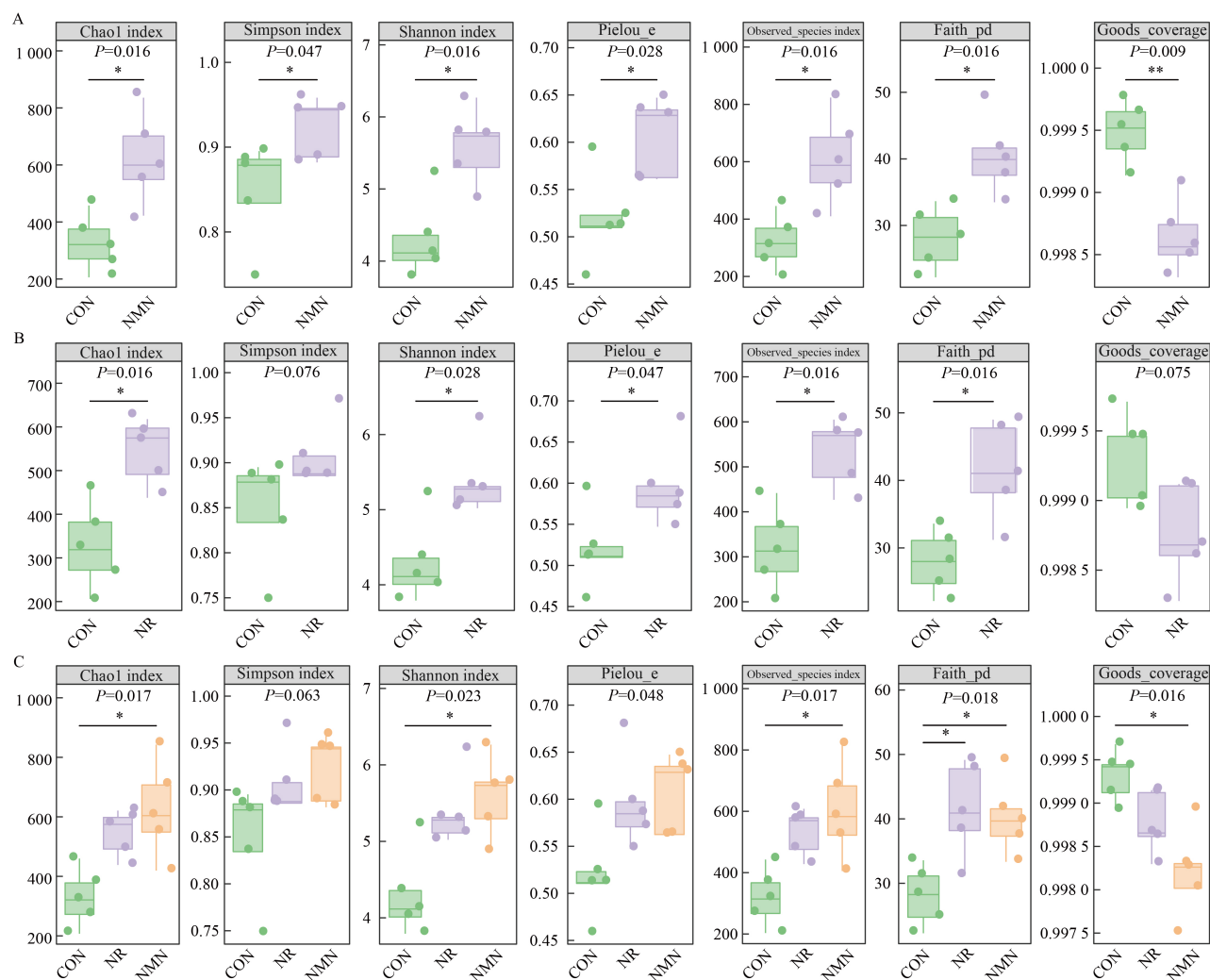


图4 饲喂NMN和NR对小鼠肠道微生物多样性的影响。A：对照组和NMN组小鼠肠道微生物 α 多样性结果比较；B：对照组和NR组小鼠肠道微生物 α 多样性结果比较；C：对照组、NMN组和NR组小鼠肠道微生物 α 多样性结果比较。

Figure 4 Effects of feeding NMN and NR on intestinal microbial diversity in mice. A: Comparative analysis of gut microbial alpha diversity between the control group and the NMN-treated group in mice; B: Comparative analysis of gut microbial alpha diversity between the control group and the NR-treated group in mice; C: Comparative analysis of gut microbial alpha diversity among the control group, NMN-treated group, and NR-treated group in mice.

达上也存在差异(图 5H、5I、5J)。

2.6 饲喂 NMN 和 NR 对小鼠肠道代谢物的影响

肠内容物的非靶向代谢组测定结果如图 6 所示。通过正交-偏最小二乘判别分析(orthogonal

projections to latent structures discriminant analysis, OPLS-DA)评分图分析, 观察到对照组与 NMN 组和 NR 组之间存在明显的分离(图 6A、6B), 表明各组之间肠道代谢特征存在显著差异。差异代谢物分析结果显示, 对照组与 NMN 组和

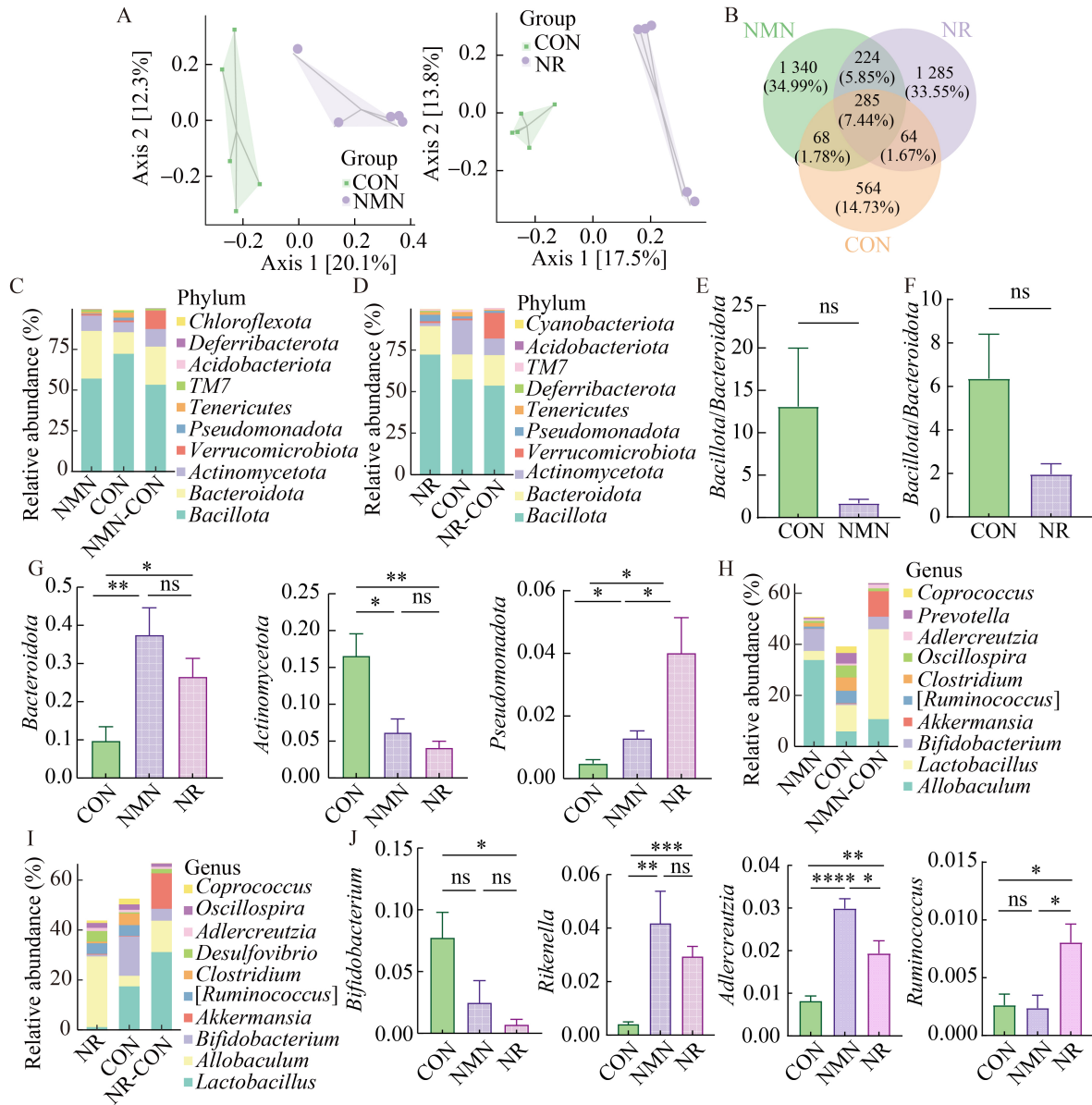
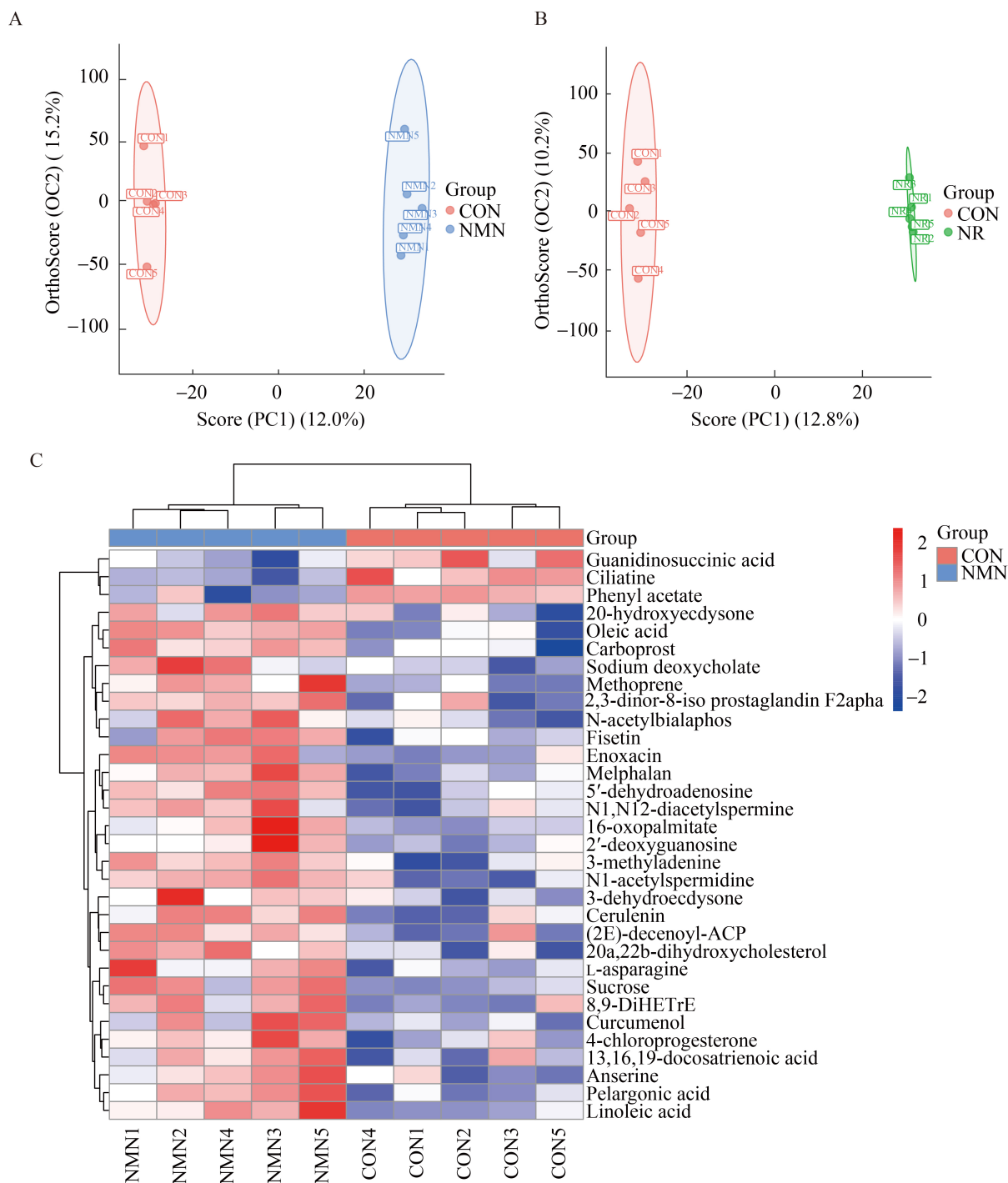


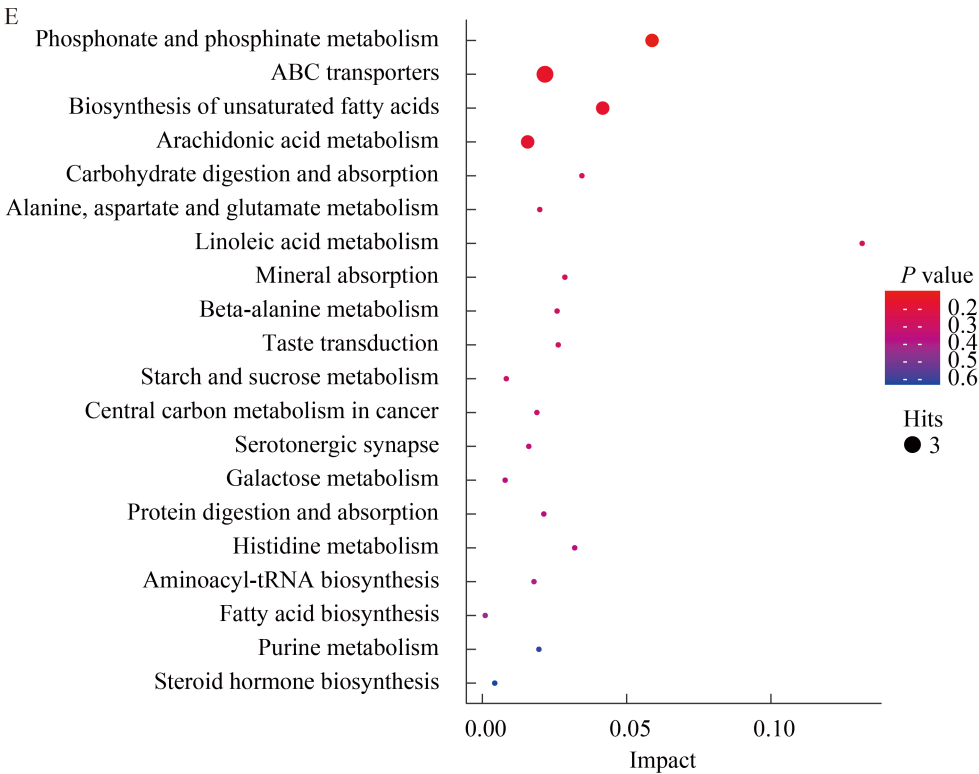
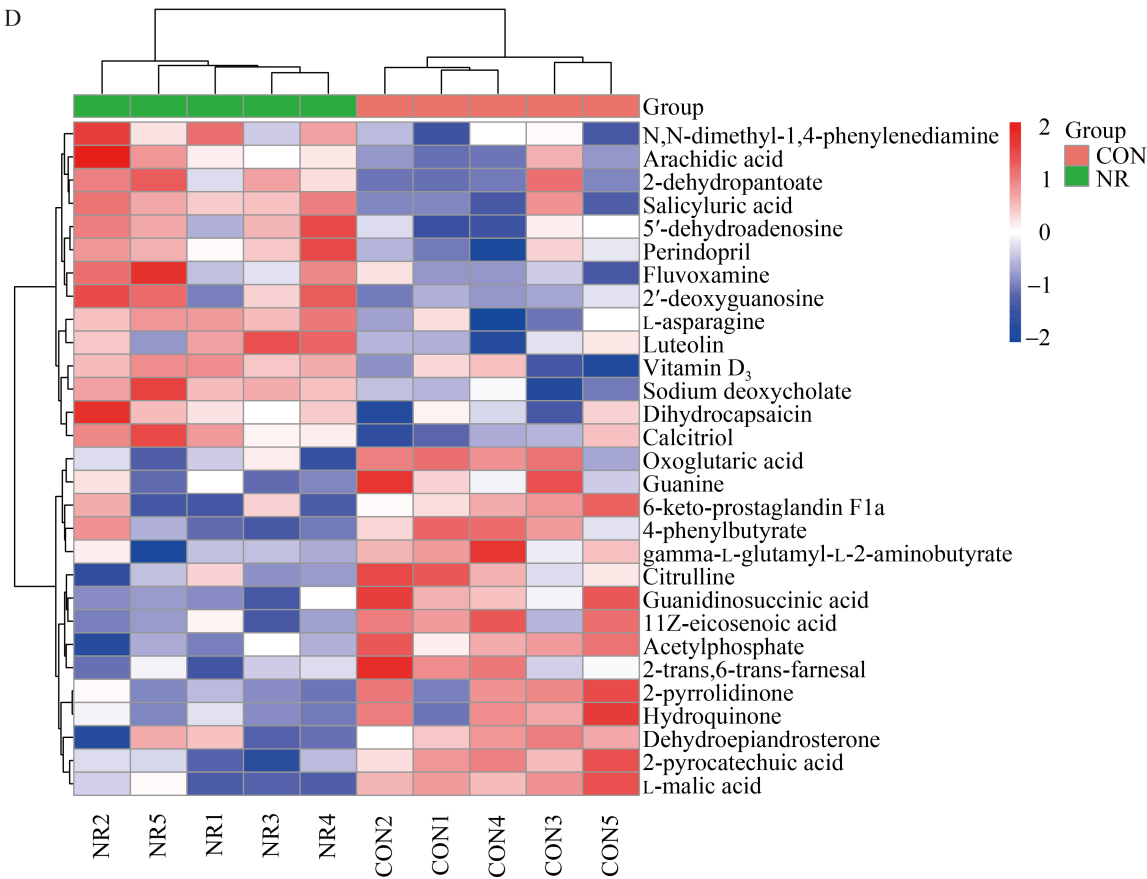
图5 饲喂NMN和NR对小鼠肠道微生物多样性的影响。A: β 多样性结果; B: 物种组成韦恩图; C: 饲喂NMN组门水平物种丰度; D: 饲喂NR组门水平物种丰度; E: 饲喂NMN组芽孢杆菌门(*Bacillota*)和拟杆菌门(*Bacteroidota*)的比值; F: 饲喂NR组芽孢杆菌门(*Bacillota*)和拟杆菌门(*Bacteroidota*)的比值; G: 门水平物种差异分析结果; H: 饲喂NMN组属水平物种丰度; I: 饲喂NR组属水平物种丰度; J: 属水平物种差异分析结果。

Figure 5 Effects of feeding NMN and NR on intestinal microbial diversity in mice. A: Beta diversity results; B: Venn diagram of species composition; C: The species abundance at the phylum level in the NMN-fed group; D: The species abundance at the phylum level in the NR-fed group; E: The ratio of *Bacillota* to *Bacteroidota* in the NMN-fed group; F: The ratio of *Bacillota* to *Bacteroidota* in the NR-fed group; G: Results of species difference analysis at the phylum level; H: The species abundance at the genus level in the NMN-fed group; I: The species abundance at the genus level in the NR-fed group; J: Results of species difference analysis at the genus level.

NR 组均有较多差异代谢物。与对照组相比, 饲喂 NMN 下调了胍基琥珀酸、西利替尼、苯乙酸酯, 显著上调了脂肪酸类代谢物与核酸类代谢物, 如油酸、脱氧胆酸钠、亚油酸、16-氧代棕榈酸酯、13,16,19-二十二碳三烯酸、(2E)-癸烯

酰-ACP、壬酸等(图 6C)。与对照组相比, 饲喂 NR 上调了脂肪酸、氨基酸及核苷类代谢物, 如花生酸、2-脱氢泛酸、水杨酸、5'-脱氢腺苷、培哌普利、氟伏沙明、2'-脱氧鸟苷、L-天冬酰胺, 同时也下调了对苯二酚、脱氢表雄酮、2-焦





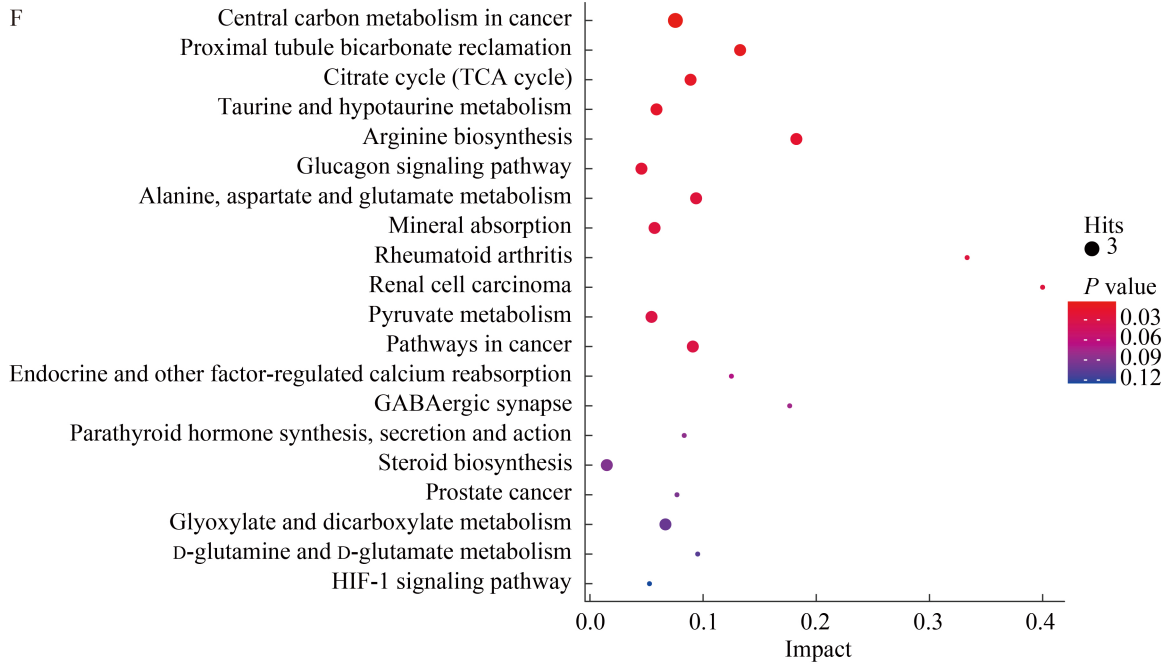


图6 饲喂NMN和NR对小鼠肠道代谢物的影响。A: 饲喂NMN组OPLS-DA得分图; B: 饲喂NR组OPLS-DA得分图; C: 饲喂NMN组差异代谢物热图; D: 饲喂NR组差异代谢物热图; E: 饲喂NMN组KEGG富集结果; F: 饲喂NR组KEGG富集结果。

Figure 6 Effects of feeding NMN and NR on intestinal metabolites in mice. A: OPLS-DA score graph of the NMN-fed group; B: OPLS-DA score graph of the NR-fed group; C: Heat map of differential metabolites in the NMN-fed group; D: Heat map of differential metabolites in the NR-fed group; E: KEGG enrichment results of NMN-fed group; F: KEGG enrichment results of the NR-fed group.

儿茶酸、L-苹果酸等(图 6D)。京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)富集通路分析表明,添加 NR 可激活机体精氨酸生物合成通路(图 6F)。综上所述,补充 NMN 和 NR 能够显著调节肠道代谢物的水平,从而改善机体的脂肪和蛋白质合成及其代谢过程。

2.7 肠道微生物与代谢物关联分析

对 16S rRNA 基因测序与代谢物分析结果进行关联分析,结果表明 NMN 组中有 7 种差异微生物与多种代谢物强相关,其中副拟杆菌属(*Parabacteroides*)与 5'-脱氢腺苷(5'-dehydroadenosine)正相关,与苯乙酸酯(phenyl acetate)负相关(图 7A)。NR 组中有 3 种差异微生物与多种代谢物强相关,其中瘤胃球菌属

(*Ruminococcus*)与水杨尿酸(salicyluric acid)、5'-脱氢腺苷(5'-dehydroadenosine)、培哚普利(perindopril)、2'-脱氧鸟苷(2'-deoxyguanosine)正相关,与瓜氨酸(citrulline)负相关(图 7B)。这些结果表明,肠道内微生物种类和丰度的变化与其代谢物密切相关。

3 讨论与结论

肠上皮细胞作为先天免疫系统的一部分,通过分泌黏液将肠腔内容物(尤其是细菌)与上皮细胞分离,避免其直接接触,是肠道屏障的重要组成部分^[19]。结肠杯状细胞是特殊的肠上皮细胞,主要功能是通过分泌黏液和黏蛋白在宿主与肠道微生物群之间形成物理隔离,形成肠道屏障,防止细菌入侵和炎症的发生^[20]。肠道

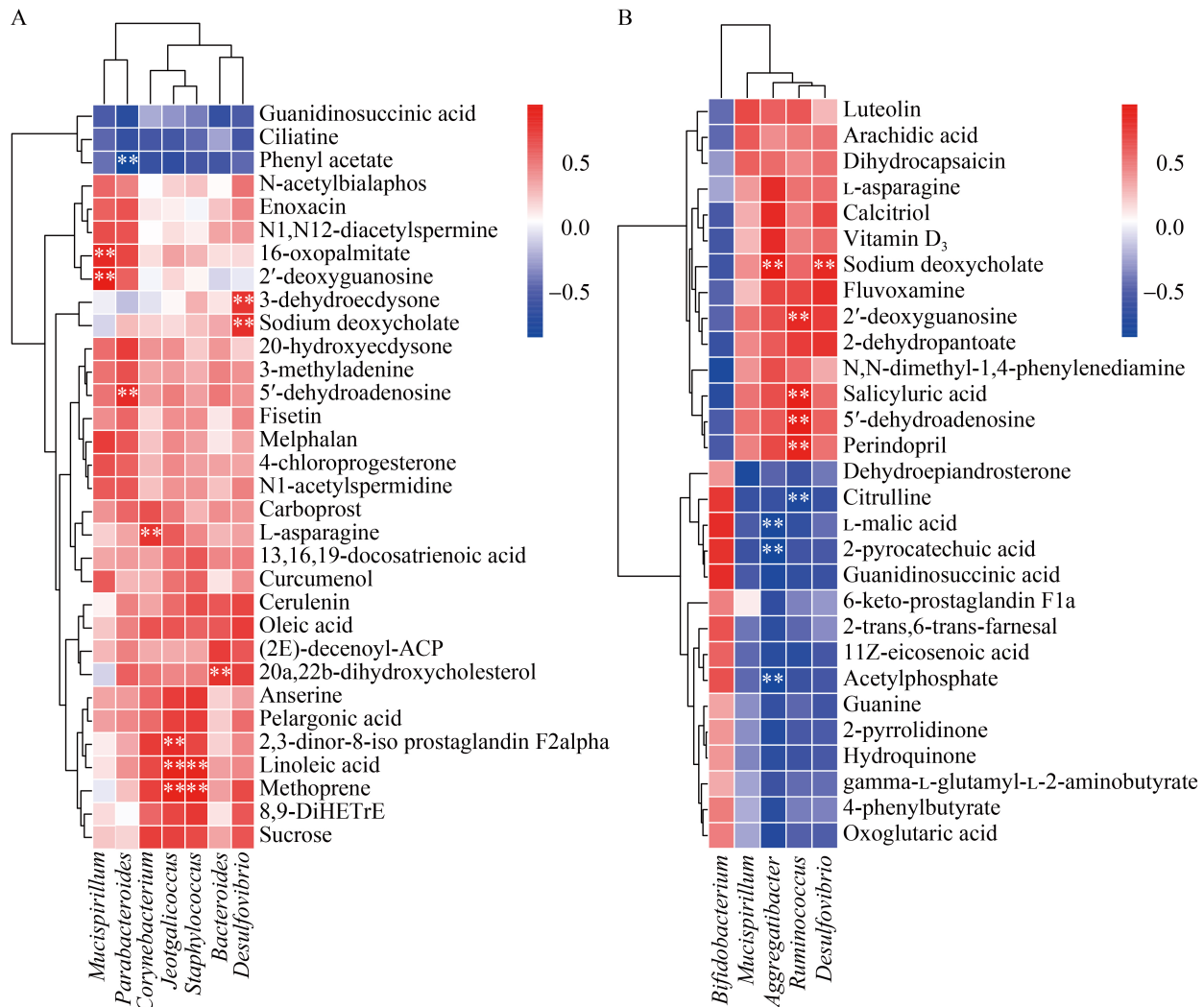


图7 肠道微生物与代谢物关联分析结果。A: NMN组与对照组肠道微生物与代谢物相关性聚类热图; B: NR组与对照组肠道微生物与代谢物相关性聚类热图。

Figure 7 Results of association analysis between intestinal microorganisms and metabolites. A: Clustering heat map of the correlation between intestinal microorganisms and metabolites in the NMN group vs. control group; B: Clustering heat map of the correlation between intestinal microorganisms and metabolites in the NR group vs. control group.

屏障的破坏会导致细菌渗透到内黏液层,造成肠道感染和炎症性肠病^[21]。杯状细胞分泌的黏液在维持大肠生理功能方面起着关键作用,且是预防结直肠疾病和实验性结肠炎的重要因素^[22]。本研究的阿利新蓝染色结果显示,饲喂NMN的小鼠结肠杯状细胞数量显著高于对照组,杯状细胞增多,意味着饲喂NMN可以增强

小鼠的结肠黏膜屏障,可能对结肠炎的预防和治疗有益。

肠道微生物群是一个由病毒、真菌和肠道细菌组成的复杂多样的群落,它们栖息在肠道中,参与食物消化和内部环境维持^[23]。肠道微生物的组成和多样性与机体健康密切相关,肠道微生物群在调节机体免疫功能、抑制病原微

生物入侵、参与机体代谢活动等方面发挥重要作用。肠道共生菌与免疫系统之间存在着复杂的微生物-微生物和微生物-宿主的相互作用网络,使得机体免疫力逐渐成熟,也将肠道微生物群的结构塑造得更加稳定^[24]。研究表明更高的多样性可以使微生物系统更稳定,而且物种的丰富度增加会加强微生物群的功能。肠道微生物群在维持免疫和生理平衡方面起着重要作用,许多疾病(例如炎症性肠病)患者通常伴有肠道菌群紊乱,其主要特征就是肠道微生物群的丰度和多样性减少^[25]。本研究对样品进行 16S rRNA 基因测序, α 多样性分析结果显示,相较于对照组饲喂 NMN 和 NR 均会增加肠道微生物群的丰度和多样性(Chao1、Shannon 等),其中 NMN 处理组表现出更高的物种多样性,肠道微生物更丰富的物种组成有助于更好地增加肠道机能,维持肠道内部稳态; β 多样性结果分析显示,对照组和 NMN、NR 组的样本间群落差异显著,表明两组间生物多样性差异明显,肠道微生物组成差异更大。综合上述结果可知, NMN 和 NR 均会增强肠道微生物的丰度和多样性,调节肠道微生物的组成,进而增强肠道微生物群落的稳定性。

哺乳动物的肠道微生物群主要由芽孢杆菌门(*Bacillota*)和拟杆菌门(*Bacteroidota*)这 2 个优势菌门组成,占总菌群的 90% 以上^[1]。通常用芽孢杆菌门与拟杆菌门的比率来表征这 2 个优势菌门之间的相对关系,该比率与多种胃肠道、中枢神经系统以及宿主能量代谢病的病理状况有关^[26]。本研究结果显示,饲喂 NMN 或 NR 在未引起菌群失调的条件下可以下调芽孢杆菌门与拟杆菌门的比率(图 5E、5F)。有研究指出,芽孢杆菌门相较于拟杆菌门更有效地从食物中获取能量,从而促进卡路里的吸收及随后的体重增加^[27],芽孢杆菌门与拟杆菌门比值的降低表明机体对炎症的抵抗能力增强,这一点在对结肠组织炎症因子表达的检测(图 3)中得到了支持。对肠道微生物门水平进行可视化分析,结

果显示饲喂 NMN 或 NR 后小鼠肠道拟杆菌门的微生物数量均显著高于对照组,拟杆菌门作为肠道的重要菌群,在机体营养吸收、免疫调节、维持稳态、预防骨质疏松、神经发育等方面起到不可或缺的作用^[28]。

肠道微生物群在肠道内进行着复杂活跃的代谢活动,不仅为自身提供了生长和繁殖所需的能量和营养,也产生了大量代谢产物进入机体^[29]。研究表明,人体血液中有约 36% 的小分子物质是由微生物代谢产生或修饰的^[30]。对肠道代谢物进行差异性分析可以得出,饲喂 NMN 或 NR 均增加了有益代谢物的产生,如脂肪酸、有机酸类、氨基酸代谢物等。脂肪酸等脂质代谢物可以调控脂质代谢、促进细胞膜稳定,部分具有抗炎作用,具有降低结肠 pH、抑制病原繁殖、抗糖尿病等作用^[31];胆汁酸类代谢物可以抑制有害菌生长、维持肠黏膜完整性等^[29];黄酮类化合物具有抗氧化、抗肿瘤、抗炎等作用。

通过整合分析发现, NMN/NR 可能通过微生物-代谢轴来影响宿主健康。饲喂 NMN 可以增加肠道拟杆菌属的丰度,拟杆菌属(*Bacteroides*)的增殖与油酸等脂肪酸代谢物水平正相关,后者已知通过激活 PPAR γ 促进杯状细胞分化^[20],这与本研究中杯状细胞数量增加(图 2F)和炎症因子下降(图 3)的表型一致。饲喂 NR 则增加肠道瘤胃球菌属(*Ruminococcus*)的丰度,瘤胃球菌与 5'-脱氢腺苷等核苷代谢物相关,这些物质可通过抑制 NF- κ B 通路^[15]解释观察到的抗炎效应(图 3),增强系统免疫功能。

饲喂 NMN 和 NR 均通过改变肠道微生物群而影响代谢物的组成,尤其在脂肪酸、氨基酸及核苷类代谢物的富集上,进而参与机体的多项生理功能。饲喂 NMN 可通过副拟杆菌(*Parabacteroides*)降低乙酸苯酯(phenyl acetate)的表达水平。副拟杆菌与宿主健康密切相关,涉及代谢综合征、炎症性肠病以及肥胖症等多个方面^[32],乙酸苯酯作为芳香族化合物的代谢产

物, 属于苯丙氨酸代谢途径的衍生物, 其水平升高常被视为代谢紊乱(如苯丙酮尿症)的标志^[33]。因此 NMN 通过调节肠道微生物和代谢物的表达, 有助于增强机体的稳态。饲喂 NR 组的分析结果表明, 瘤胃球菌(*Ruminococcus*)可能通过促进某些代谢物的合成来影响宿主的代谢状态, 尤其是与能量代谢、抗炎反应和细胞功能相关的代谢物, 如水杨尿酸(salicylic acid)、5'-脱氢腺苷(5'-dehydroadenosine)、2'-脱氧鸟苷(2'-deoxyguanosine)等。瘤胃球菌与各种肠内和肠外疾病有关, 并在炎症性肠病和代谢疾病中发挥重要作用^[34]。目前尚未明确瘤胃球菌在疾病发展中的具体作用, 这一研究结果可能为瘤胃球菌在促进宿主健康方面的有益作用提供了初步证据。

NR 是 NAD⁺前体, 提升 NAD⁺水平可改善线粒体功能, 增强肌肉能量代谢(对快速收缩肌纤维尤其重要), 从而增强肌肉耐力和力量^[6]。在本研究中, 饲喂 NR 组的抓握能力显著提升, 与观测到的代谢物之间的变化存在潜在关联。与对照组相比, 饲喂 NR 上调了脂肪酸代谢(花生酸)、氨基酸代谢物(L-天冬酰胺、2-脱氢泛酸)和水杨酸等代谢物, 花生酸(二十烷酸)是细胞膜磷脂成分, 其上调可能反映膜修复或能量储存需求增加, 支持肌肉活动^[35]; L-天冬酰胺参与三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA cycle)中间代谢, 可能优化能量供应; 2-脱氢泛酸(维生素 B₅ 衍生物)是辅酶 A 前体, 促进脂肪酸氧化和乙酰 CoA 生成; 水杨酸的抗炎作用可能减轻运动诱导的肌肉损伤。饲喂 NR 下调了对苯二酚和苹果酸, 对苯二酚是氧化应激标志物, 下调可能反映 NR 的抗氧化作用, 减少运动导致的活性氧积累; 苹果酸是 TCA 循环中间体, 下调可能表明 TCA 循环通量增加, 苹果酸被快速消耗以支持 ATP 生成。对饲喂 NR 组的 KEGG 富集分析结果表明(图 6F), TCA 循环、丙酮酸代谢、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢等核心代谢通路以及牛磺酸和亚牛磺酸代谢等氧化应激通路

显著富集, 且与代谢物变化高度关联。基于以上结论, 本研究推测饲喂 NR 可能通过促进 TCA 循环、调控能量代谢(脂肪酸、氨基酸途径)以及维持氧化还原平衡(下调对苯二酚、上调水杨酸, 协同减少氧化损伤)来优化神经肌肉功能, 从而增强小鼠抓握能力。

对上述结果进行汇总与分析, 并对 NMN 与 NR 的作用差异进行比较, 可以得出以下结论: 饲喂 NMN 在增加肠黏膜杯状细胞数量(图 2)和提升肠道微生物多样性方面优于饲喂 NR (图 4); 而饲喂 NR 在增强小鼠抓握能力方面优于饲喂 NMN 组(图 1)。这表明 NMN 通过 Slc12a8 介导的肠道直接吸收^[36], 在肠道中高效转化为 NAD⁺, 激活 SIRT1 依赖的黏液分泌通路^[7], 从而在改善肠道微生态和屏障功能方面优于 NR。相比之下, NR 需要依赖 NRK1/2 进行转化, 其效应可能更多通过系统性 NAD⁺水平的提升来实现^[18], NR 的全身分布特性使其在肌肉功能调节方面表现更佳。结合代谢组学结果分析, 上述差异可能与两者的代谢途径有关: NMN 通过“拟杆菌-脂肪酸”轴增强局部免疫(图 7A), 而 NR 则通过“瘤胃球菌-精氨酸”轴影响系统代谢(图 7B), 这与两者的药代动力学特性一致。此外, NMN 上调的代谢物(如油酸)与线粒体功能增强相关, 而 NR 更倾向于调节氨基酸代谢(图 6E), 提示两者靶向的细胞通路存在差异。未来需要通过同位素标记或组织特异性敲除模型进一步验证这些差异。若扩展到实际应用中, 则需根据治疗目标选择合适的 NAD⁺前体: 对于肠道疾病, NMN 可能是更好的选择; 而对于代谢相关疾病, NR 可能更具优势。

综上所述, 在小鼠饲养过程中补充 NMN 或 NR 均可以调节肠道微生物群的组成结构, 增加益生菌的丰度, 减少与疾病相关的菌群丰度, 其中 NMN 对肠道微生物的影响更为显著。同时, NMN 和 NR 均可通过改变肠道微生物群来调节机体代谢, 增加粪便中有益代谢物的浓度, 并与代谢物相互作用发挥健康效应, 尤其在抗

炎和抗氧化方面表现出积极作用。此外, 补充 NR 可以增强小鼠的抓握能力, 而补充 NMN 则可以维持肠上皮的完整性, 增加结肠杯状细胞的数量, 从而加强肠道屏障功能。

作者贡献声明

倪冰: 试验设计及开展, 数据收集和统计分析以及文章撰写等; 朱莉莉: 完成部分试验, 数据收集, 文章修改; 陈好: 文章修改; 史新娥: 试验指导, 文章修改; 靳建军: 试验方案设计以及指导, 文章修改及审核。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] ADAK A, KHAN MR. An insight into gut microbiota and its functionalities[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2019, 76(3): 473-493.
- [2] HANEISHI Y, FURUYA Y, HASEGAWA M, PICARELLI A, ROSSI M, MIYAMOTO J. Inflammatory bowel diseases and gut microbiota[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(4): 3817.
- [3] GOMES AC, HOFFMANN C, MOTA JF. The human gut microbiota: metabolism and perspective in obesity[J]. *Gut Microbes*, 2018, 9(4): 308-325.
- [4] NISHIDA A, INOUE R, INATOMI O, BAMBA S, NAITO Y, ANDOH A. Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease[J]. *Clinical Journal of Gastroenterology*, 2018, 11(1): 1-10.
- [5] COVARRUBIAS AJ, PERRONE R, GROZIO A, VERDIN E. NAD⁺ metabolism and its roles in cellular processes during ageing[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2021, 22(2): 119-141.
- [6] ALEGRE GFS, PASTORE GM. NAD⁺ precursors nicotinamide mononucleotide (NMN) and nicotinamide riboside (NR): potential dietary contribution to health[J]. *Current Nutrition Reports*, 2023, 12(3): 445-464.
- [7] HWANG D, JO H, MA SH, LIM YH. Oxyresveratrol stimulates mucin production in an NAD⁺-dependent manner in human intestinal goblet cells[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2018, 118: 880-888.
- [8] BOGAN KL, BRENNER C. Nicotinic acid, nicotinamide, and nicotinamide riboside: a molecular evaluation of NAD⁺ precursor vitamins in human nutrition[J]. *Annual Review of Nutrition*, 2008, 28: 115-130.
- [9] OKABE K, YAKU K, UCHIDA Y, FUKAMIZU Y, SATO T, SAKURAI T, TOBE K, NAKAGAWA T. Oral administration of nicotinamide mononucleotide is safe and efficiently increases blood nicotinamide adenine dinucleotide levels in healthy subjects[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 868640.
- [10] TRAMMELL SAJ, SCHMIDT MS, WEIDEMANN BJ, REDPATH P, JAKSCH F, DELLINGER RW, LI ZG, DALE ABEL E, MIGAUD ME, BRENNER C. Nicotinamide riboside is uniquely and orally bioavailable in mice and humans[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 12948.
- [11] CAMPBELL D, PHILP A. NAD⁺ therapeutics and skeletal muscle adaptation to exercise in humans[J]. *Sports Medicine*, 2022, 52(Suppl 1): 91-99.
- [12] MILLS KF, YOSHIDA S, STEIN LR, GROZIO A, KUBOTA S, SASAKI Y, REDPATH P, MIGAUD ME, APTE RS, UCHIDA K, YOSHINO J, IMAI SI. Long-term administration of nicotinamide mononucleotide mitigates age-associated physiological decline in mice[J]. *Cell Metabolism*, 2016, 24(6): 795-806.
- [13] STROMSDORFER KL, YAMAGUCHI S, YOON MJ, MOSELEY AC, FRANCZYK MP, KELLY SC, QI N, IMAI SI, YOSHINO J. NAMPT-mediated NAD⁺ biosynthesis in adipocytes regulates adipose tissue function and multi-organ insulin sensitivity in mice[J]. *Cell Reports*, 2016, 16(7): 1851-1860.
- [14] HUANG P, JIANG AQ, WANG XX, ZHOU Y, TANG WH, REN CF, QIAN X, ZHOU ZR, GONG AH. NMN maintains intestinal homeostasis by regulating the gut microbiota[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2021, 8: 714604.
- [15] FREDERICK DW, LORO E, LIU L, DAVILA A Jr, CHELLAPPA K, SILVERMAN IM, QUINN WJ 3rd, GOSAI SJ, TICHY ED, DAVIS JG, MOURKIOTI F, GREGORY BD, DELLINGER RW, REDPATH P, MIGAUD ME, NAKAMARU-OGISO E, RABINOWITZ JD, KHURANA TS, BAUR JA. Loss of NAD homeostasis leads to progressive and reversible degeneration of skeletal muscle[J]. *Cell Metabolism*, 2016, 24(2): 269-282.
- [16] LAPATTO HAK, KUUSELA M, HEIKKINEN A, MUNIANDY M, van der KOLK BW, GOPALAKRISHNAN S, PÖLLÄNEN N, SANDVIK M, SCHMIDT MS, HEINONEN S, SAARI S, KUULA J, HAKKARAINEN A, TAMPIO J, SAARINEN T, TASKINEN MR, LUNDBOM N, GROOP PH, TIROLA M, KATAJISTO P, et al. Nicotinamide riboside improves muscle mitochondrial biogenesis, satellite cell differentiation, and gut microbiota in a twin study[J]. *Science Advances*, 2023, 9(2): eadd5163.
- [17] MUKHERJEE S, CHELLAPPA K, MOFFITT A, NDUNGU J, DELLINGER RW, DAVIS JG, AGARWAL B, BAUR JA. Nicotinamide adenine dinucleotide biosynthesis promotes liver regeneration[J]. *Hepatology*, 2017, 65(2): 616-630.
- [18] CANTÓ C, HOUTKOOPER RH, PIRINEN E, YOUNG DY, OOSTERVEER MH, CEN YN, FERNANDEZ-MARCOS PJ, YAMAMOTO H, ANDREUX PA, CETTOUR-ROSE P, GADEMANN K, RINSCH C, SCHOONJANS K, SAUVE AA, AUWERX J. The

- NAD⁺ precursor nicotinamide riboside enhances oxidative metabolism and protects against high-fat diet-induced obesity[J]. *Cell Metabolism*, 2012, 15(6): 838-847.
- [19] BIRCHENOUGH GMH, JOHANSSON ME, GUSTAFSSON JK, BERGSTRÖM JH, HANSSON GC. New developments in goblet cell mucus secretion and function[J]. *Mucosal Immunology*, 2015, 8(4): 712-719.
- [20] NAAMA M, TELPAZ S, AWAD A, BEN-SIMON S, HARSHUK-SHABSO S, MODILEVSKY S, RUBIN E, SAWAED J, ZELIK L, ZIGDON M, ASULIN N, TURJEMAN S, WERBNER M, WONGKUNA S, FEENEY R, SCHROEDER BO, NYSKA A, NURIEL-OHAYON M, BEL S. Autophagy controls mucus secretion from intestinal goblet cells by alleviating ER stress[J]. *Cell Host & Microbe*, 2023, 31(3): 433-446.e4.
- [21] Van der POST S, JABBAR KS, BIRCHENOUGH G, ARIKE L, AKHTAR N, SJOVALL H, JOHANSSON MEV, HANSSON GC. Structural weakening of the colonic mucus barrier is an early event in ulcerative colitis pathogenesis[J]. *Gut*, 2019, 68(12): 2142-2151.
- [22] Van der SLUIS M, de KONING BAE, de BRUIJN ACJM, VELCICH A, MEIJERINK JPP, van GOUDOEVER JB, BÜLLER HA, DEKKER J, van SEUNINGEN I, RENES IB, EINERHAND AWC. Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC₂ is critical for colonic protection[J]. *Gastroenterology*, 2006, 131(1): 117-129.
- [23] HU YJ, CHEN ZZ, XU CC, KAN SD, CHEN DJ. Disturbances of the gut microbiota and microbiota-derived metabolites in inflammatory bowel disease[J]. *Nutrients*, 2022, 14(23): 5140.
- [24] ZHENG DP, LIWINSKI T, ELINAV E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease[J]. *Cell Research*, 2020, 30(6): 492-506.
- [25] LARSEN OFA, CLAASSEN E. The mechanistic link between health and gut microbiota diversity[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 2183.
- [26] MAGNE F, GOTTELAND M, GAUTHIER L, ZAZUETA A, PESOA S, NAVARRETE P, BALAMURUGAN R. The *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio: a relevant marker of gut dysbiosis in obese patients?[J]. *Nutrients*, 2020, 12(5): 1474.
- [27] KRAJMALNIK-BROWN R, ILHAN ZE, KANG DW, DiBAISE JK. Effects of gut microbes on nutrient absorption and energy regulation[J]. *Nutrition in Clinical Practice*, 2012, 27(2): 201-214.
- [28] JANDHYALA SM, TALUKDAR R, SUBRAMANYAM C, VUYYURU H, SASIKALA M, NAGESHWAR REDDY D. Role of the normal gut microbiota[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2015, 21(29): 8787-8803.
- [29] FOGELSON KA, DORRESTEIN PC, ZARRINPAR A, KNIGHT R. The gut microbial bile acid modulation and its relevance to digestive health and diseases[J]. *Gastroenterology*, 2023, 164(7): 1069-1085.
- [30] DiGIULIO DB, CALLAHAN BJ, McMURDIE PJ, COSTELLO EK, LYELL DJ, ROBACZEWSKA A, SUN CL, GOLTSMAN DS, WONG RJ, SHAW G, STEVENSON DK, HOLMES SP, RELMAN DA. Temporal and spatial variation of the human microbiota during pregnancy[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(35): 11060-5.
- [31] MIYAMOTO J, IGARASHI M, WATANABE K, KARAKI SI, MUKOUYAMA H, KISHINO S, LI X, ICHIMURA A, IRIE J, SUGIMOTO Y, MIZUTANI T, SUGAWARA T, MIKI T, OGAWA J, DRUCKER DJ, ARITA M, ITOH H, KIMURA I. Gut microbiota confers host resistance to obesity by metabolizing dietary polyunsaturated fatty acids[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 4007.
- [32] CUI YL, ZHANG LS, WANG X, YI YL, SHAN YY, LIU BF, ZHOU Y, LÜ X. Roles of intestinal *Parabacteroides* in human health and diseases[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2022, 369(1): fnac072.
- [33] YANG QJ, ZHAO JR, HAO J, LI B, HUO Y, HAN YL, WAN LL, LI J, HUANG JL, LU J, YANG GJ, GUO C. Serum and urine metabolomics study reveals a distinct diagnostic model for cancer *Cachexia*[J]. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 2018, 9(1): 71-85.
- [34] CROST EH, COLETTI E, BELL A, JUGE N. *Ruminococcus gnavus*: friend or foe for human health[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2023, 47(2): fuad014.
- [35] MEKCHAY S, POTHAKAM N, NORSEEDA W, SUPAKANKUL P, TELTATHUM T, LIU GS, NARABALLOBH W, KHAMLOR T, SRINGARM K, KRUTMUANG P. Association of *IFNA16* and *TNFRSF19* polymorphisms with intramuscular fat content and fatty acid composition in pigs[J]. *Biology*, 2022, 11(1): 109.
- [36] GROZIO A, MILLS KF, YOSHINO J, BRUZZONE S, SOCIALI G, TOKIZANE K, LEI HC, CUNNINGHAM R, SASAKI Y, MIGAUD ME, IMAI SI. Slc12a8 is a nicotinamide mononucleotide transporter[J]. *Nature Metabolism*, 2019, 1(1): 47-57.