

研究报告

棒状腐败乳杆菌 Lc7 对高脂血症仓鼠的降脂及其肠道菌群调节作用

王若诗^{1,2}, 张素平², 张舒惟^{1,2}, 徐明超², 林晓颖^{1,2}, 赵锐清^{1,2}, 陆瑶², 杨晶^{2,3}, 徐建国^{*1,2,3}, 刘丽云^{*2,3,4}

1 南京医科大学公共卫生学院, 江苏 南京 211166

2 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所 传染病溯源预警与智能决策全国重点实验室, 北京 102206

3 中国医学科学院未知细菌发现和功能研究创新单元, 北京 102206

4 石家庄市疾病预防控制中心 河北省疑难细菌研究重点实验室, 河北 石家庄 050010

王若诗, 张素平, 张舒惟, 徐明超, 林晓颖, 赵锐清, 陆瑶, 杨晶, 徐建国, 刘丽云. 棒状腐败乳杆菌 Lc7 对高脂血症仓鼠的降脂及其肠道菌群调节作用[J]. 微生物学通报, 2024, 51(3): 1002-1017.

WANG Ruoshi, ZHANG Suping, ZHANG Shuwei, XU Mingchao, LIN Xiaoying, ZHAO Ruiqing, LU Yao, YANG Jing, XU Jianguo, LIU Liyun. *Loigolactobacillus coryniformis* Lc7 reduces serum lipids and modulates gut microbiota in hyperlipidemic hamsters[J]. Microbiology China, 2024, 51(3): 1002-1017.

摘要:【背景】高脂血症是心血管疾病的主要危险因素, 其与肠道菌群的变化密切相关。乳酸菌等益生菌可通过调节肠道菌群结构发挥降脂功能。【目的】研究棒状腐败乳杆菌(*Loigolactobacillus coryniformis*) Lc7 对高脂血症仓鼠血脂和肠道菌群的影响。【方法】通过饲喂高脂饲料构建仓鼠高脂血症模型, 灌胃 *L. coryniformis* Lc7 菌悬液, 干预 6 周后检测仓鼠血脂水平、血清炎症因子和脂多糖水平, 观察肝组织和附睾脂肪组织的病理变化, 采用 16S rRNA 基因扩增子测序分析盲肠内容物中的肠道菌群。【结果】*L. coryniformis* Lc7 干预显著降低了高脂血症仓鼠血清总胆固醇 ($P<0.001$)、甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇 ($P<0.05$) 的水平、升高了血清高密度脂蛋白胆固醇的水平 ($P<0.001$)、降低了血清白细胞介素-1 β ($P<0.05$)、白细胞介素-6 ($P<0.01$) 和脂多糖 ($P<0.05$) 的水平, 减轻了高脂饮食引起的肝组织损伤和附睾脂肪组织脂肪堆积, 改善了肠道菌群的多样性和结构, 降低了厚壁菌门与拟杆菌门相对丰度的比值 ($P<0.05$), 升高了颤杆菌克属和拟杆菌属等肠道有益菌的相对丰度, 降低了螺杆菌属和 *Negativibacillus* 的相对丰度, 螺杆菌属的相对丰度与总胆固醇浓度呈正相关 ($P<0.01$)。【结论】*L. coryniformis* Lc7 可改善仓鼠脂质代谢紊乱, 调节肠道菌群, 缓解高脂血症。提示 *L. coryniformis* Lc7 可以作为预防和治疗高脂血症的候选菌株。

关键词: 棒状腐败乳杆菌; 高脂血症; 肠道菌群; 血脂

资助项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程(2018RU010)

This work was supported by the Chinese Academy of Medical Sciences Innovation Fund for Medical Sciences (2018RU010).

*Corresponding authors. E-mail: LIU Liyun, liuliyun@icdc.cn; XU Jianguo, xujianguo@icdc.cn

Received: 2023-09-18; Accepted: 2023-10-31; Published online: 2023-12-11

Loigolactobacillus coryniformis Lc7 reduces serum lipids and modulates gut microbiota in hyperlipidemic hamsters

WANG Ruoshi^{1,2}, ZHANG Suping², ZHANG Shuwei^{1,2}, XU Mingchao², LIN Xiaoying^{1,2}, ZHAO Ruiqing^{1,2}, LU Yao², YANG Jing^{2,3}, XU Jianguo^{*1,2,3}, LIU Liyun^{*2,3,4}

1 School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, Jiangsu, China

2 National Key Laboratory of Intelligent Tracking and Forecasting for Infectious Diseases, National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China

3 Research Units of Discovery of Unknown Bacteria and Function, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 102206, China

4 Hebei Key Laboratory of Intractable Pathogens, Shijiazhuang Center for Disease Control and Prevention, Shijiazhuang 050010, Hebei, China

Abstract: [Background] Hyperlipidemia, a key risk factor for cardiovascular diseases, is associated with gut microbiota. Lactic acid bacteria and other probiotics can lower the blood lipid levels by regulating gut microbiota. [Objective] To investigate the effects of *Loigolactobacillus coryniformis* Lc7 on the serum lipid levels and gut microbiota in hyperlipidemic hamsters. [Methods] The hyperlipidemic hamster model was established with a high-fat diet and then administrated with *L. coryniformis* Lc7 suspension or phosphate buffered saline by gavage for 6 weeks. The serum levels of lipids and inflammatory cytokines and the pathological changes of the liver and epididymal adipose tissues in hamsters were measured. Furthermore, 16S rRNA gene amplicon sequencing was employed to analyze the gut microbiota in cecal contents. [Results] Oral administration of *L. coryniformis* Lc7 in hyperlipidemic hamsters lowered the serum levels of total cholesterol ($P<0.001$), triglyceride, and low-density lipoprotein cholesterol ($P<0.05$) and elevated the serum level of high-density lipoprotein cholesterol ($P<0.001$). Moreover, it reduced the serum levels of interleukin-1 β ($P<0.05$), interleukin-6 ($P<0.01$), and lipopolysaccharide ($P<0.05$) and attenuated liver tissue injury and epididymal fat accumulation induced by the high-fat diet. Furthermore, the intervention improved the diversity and structure of gut microbiota, as manifested by the decreased ratio of *Firmicutes* to *Bacteroidota* ($P<0.05$), increased relative abundance of beneficial bacteria such as *Oscillibacter* and *Bacteroides*, and decreased relative abundance of *Helicobacter* and *Negativibacillus* in hyperlipidemic hamsters. The relative abundance of *Helicobacter* was positively correlated with the concentration of total cholesterol ($P<0.01$). [Conclusion] *L. coryniformis* Lc7 can ameliorate lipid metabolism disorder and modulate gut microbiota in hyperlipidemic hamsters, serving as a promising candidate for the prevention and treatment of hyperlipidaemia.

Keywords: *Loigolactobacillus coryniformis*; hyperlipidemia; gut microbiota; serum lipids

高脂血症是指脂质代谢紊乱引起的血脂水平异常, 通常表现为血清总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglycerides, TG)和低密度脂蛋

白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)水平升高以及高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)水

平降低^[1]。流行病学研究显示,高脂血症与动脉粥样硬化和冠心病等心血管疾病的发生和发展密切相关^[2]。控制血脂已经成为防治动脉粥样硬化性心血管疾病(atherosclerotic cardiovascular disease, ASCVD)的重要措施^[3]。

研究表明,高脂血症与肠道菌群的变化密切相关,肠道菌群多样性与 TG 呈负相关,与 HDL-C 呈正相关^[4]。动物实验证实,在高脂饮食喂养下,无菌小鼠的血脂水平与无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级小鼠相比更低^[5]。而且,高脂血症病人的粪便菌群移植到无菌小鼠,可以使无菌小鼠的血脂升高^[6]。多项人群试验结果显示,患有高脂血症等代谢性疾病的人群中,包括植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)和动物双歧杆菌(*Bifidobacterium animalis*)在内的一些益生菌相对丰度降低^[7]。当口服一些益生菌,如 *L. plantarum* Q180,可以明显降低血脂,而且其肠道菌群多样性和结构得到改善^[8]。说明益生菌可以作为预防和治疗高脂血症的手段。

棒状腐败乳杆菌(*Loigolactobacillus coryniformis*)原名棒状乳杆菌(*Lactobacillus coryniformis*),属于乳杆菌科,可分泌细菌素^[9]和胞外多糖^[10],具有抗菌、抗氧化和体外降胆固醇等益生功能^[11]。研究发现一株 *L. coryniformis* CECT5711 通过改善肠道通透性减轻了肥胖小鼠肝脏和脂肪组织的炎症反应,并改善了血管内皮功能^[12]。人群试验研究表明该菌株还具有免疫调节作用^[13-14]。此外,*L. coryniformis* MXJ32 可通过调节肠道菌群减轻肠道炎症,缓解小鼠结肠炎相关结直肠癌症状^[15]。尚无研究报道 *L. coryniformis* 的降脂作用。

本课题组前期从中国健康成人粪便样本中分离得到一株 *L. coryniformis* Lc7,通过对其体外益生特性和体内抗炎潜力评价,发现该菌株具有抗炎等益生特性^[16]。炎症反应参与高脂血

症和 ASCVD 的发生发展过程^[17],国际脂质专家小组(International Lipid Expert Panel, ILEP)建议补充具有抗炎特性的营养保健品以预防 ASCVD^[18]。因此,本研究旨在探索 *L. coryniformis* Lc7 对高脂血症仓鼠血脂和肠道菌群的影响。

1 材料与方法

1.1 样品

L. coryniformis Lc7 分离自健康成人粪便样本^[16];该菌株保藏于中国普通微生物菌种保藏管理中心(China General Microbiological Culture Collection Center, CGMCC)。

SPF 级 6-8 周龄雄性金色叙利亚仓鼠 [(125±15) g],北京维通利华实验动物技术有限公司[证书编号:SCXK(京)2021-0006];实验动物饲养于中国疾病预防控制中心实验动物中心[证书编号:SYXK(京)2022-0029],生长温度为(23±3) °C,相对湿度为 40%-50%,光照周期为 12 h 光照/12 h 黑暗。已通过中国疾病预防控制中心实验动物福利伦理委员会审查(Appl. No. 2022-036)。

1.2 培养基和主要试剂、仪器

MRS 琼脂培养基, Oxoid 公司。PBS, Invitrogen 公司;TC 检测试剂盒、TG 检测试剂盒、LDL-C 检测试剂盒、HDL-C 检测试剂盒,白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) ELISA 试剂盒、白细胞介素-6 (IL-6) ELISA 试剂盒、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) ELISA 试剂盒及脂多糖(lipopolysaccharide, LPS) ELISA 试剂盒, R&D SYSTEM 公司;标准饲料(D12102)和高脂饲料(D12108C),小泰有泰(北京)生物科技有限公司;TGuide S96 磁珠法粪便 DNA 提取试剂盒,天根生化科技(北京)有限公司;DNA 纯化试剂盒, Omega Bio-Tek 公司。

CO₂ 培养箱,深圳市易思高科技有限公

司; 麦氏浊度仪, 生物梅里埃公司; 4 °C 超速离心机, Sigma 公司; 生化分析仪, Omega Bio-Tek 公司; 酶标仪, Rayto 公司; Qsep-400 高通量生物片段分析仪, 光鼎生物科技股份有限公司。

1.3 高脂血症仓鼠模型建立、分组和处理

适应性喂养 1 周后将 24 只仓鼠随机分为 3 组, 每组 8 只(2 只/笼), 分别为正常对照组(NC 组)、高脂模型组(HFD 组)和 *L. coryniformis* Lc7 干预组(Lc7 干预组)。从健康成人粪便样本中分离得到 *L. coryniformis* Lc7^[16], 将 *L. coryniformis* Lc7 涂布于 MRS 琼脂培养基, 在 37 °C、5% CO₂ 环境下培养 24 h 后用 PBS 制成菌悬液。随后进行如下干预: NC 组给予标准饲料(D12102), HFD 组和 Lc7 干预组给予高脂饲料(D12108C); 对 NC 组和 HFD 组仓鼠每日灌胃 PBS 1 mL/只, Lc7 干预组仓鼠每日灌胃 *L. coryniformis* Lc7 菌悬液 1 mL/只(菌量约 3×10⁹ CFU), 连续灌胃 6 周。每天检查仓鼠的一般健康状况, 每周监测食物摄入情况和体重。试验结束时, 仓鼠禁食 12 h, 麻醉后进行腹主动脉取血; 采集盲肠内容物, 液氮速冻后置于-80 °C 冰箱保存; 收集肝脏和附睾脂肪组织, 浸泡于 4% 多聚甲醛溶液。

1.4 能量摄入量和饲料转化率计算

根据公式(1)和公式(2)计算每笼仓鼠的能量摄入量和饲料转化率。

$$\text{能量摄入量(kcal)} = \text{饲料摄入量(g)} \times \text{饲料能量密度(kcal/g)} \quad (1)$$

$$\text{饲料转化率(g/kcal)} = \text{仓鼠体重增量(g)} / \text{能量摄入量(kcal)} \quad (2)$$

1.5 血清生化指标检测

全血静置 2 h 后 4 °C、3 500 r/min 离心 10 min 收集血清。按照 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 检测试剂盒说明书操作, 使用生化分析仪测定血清中 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 的浓度; 分别

按照 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和 LPS ELISA 试剂盒说明书操作, 使用酶标仪测定血清中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和 LPS 的浓度。

1.6 组织病理学检测

参照温蕾等^[19]的研究稍作修改。肝脏和附睾脂肪组织用 4% 多聚甲醛固定过夜, 脱水浸蜡、包埋、切片, 获得 4 μ m 的组织薄片, 最后通过苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色在 25 倍和 200 倍光学显微镜下观察肝脏和附睾脂肪组织病理形态学变化。

1.7 16S rRNA 基因扩增子测序和生物信息分析

使用 TGuide S96 磁珠法粪便 DNA 提取试剂盒从盲肠内容物样本中提取微生物基因组 DNA。选择 16S rRNA 基因 V3-V4 可变区的通用引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 进行 PCR 扩增。PCR 反应体系(10 μ L): 基因组 DNA 50 ng, 正、反向引物(10 μ mol/L)各 0.3 μ L, KOD FX Neo Buffer 5 μ L, dNTPs (2 mmol/L) 2 μ L, KOD FX Neo (1 U/ μ L) 0.2 μ L, ddH₂O 补足 10 μ L。PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 95 °C 30 s, 50 °C 30 s, 72 °C 40 s, 25 个循环; 72 °C 7 min。扩增产物用 Omega DNA 纯化试剂盒纯化, 通过 Qsep-400 高通量生物片段分析仪定量分析, 将质检合格的文库在 Illumina NovaSeq 6000 平台上测序。以上测序工作由北京百迈客生物科技有限公司完成。

使用 BMKCloud (www.biocloud.net) 对测序数据进行分析。测序序列信息以 FASTQ 格式存储并进行质量过滤, 使用 QIIME 2^[20] 软件中的 DADA2^[21] 方法对序列进行去噪获得扩增子序列变异体(amplicon sequence variants, ASVs), 以 SILVA 138^[22] 为参考数据库使用朴素贝叶斯分类器对 ASVs 进行物种注释。使用 QIIME 2 软

件对样品 α 多样性指数进行评估；基于 Unweighted UniFrac 距离，采用主坐标分析法 (principal coordinates analysis, PCoA) 和非加权组平均法 (unweighted pair-group method with arithmetic mean, UPGMA) 评估样本 β 多样性；通过 line discriminant analysis (LDA) effect size (LEfSe) 分析判别组间在丰度上有统计学差异的物种 (LDA > 3.5, $P < 0.05$)，其中 LDA 值表示物种对差异效果影响的大小。

1.8 统计学分析

使用 GraphPad Prism 9.5.1 软件对数据进行统计分析，结果以均值 \pm 标准差表示。首先对各组数据进行正态性检验，对于正态分布的数据，若满足方差齐性，则采用单因素或双因素方差分析 (analysis of variance, ANOVA) 和 Dunnett- t 检验进行多组间比较和两两比较，若方差不齐，则采用 Welch and Brown-Forsythe ANOVA 进行组间差异检验；对于非正态分布的数据，采用非参数检验。使用 Spearman 相关系数分析肠道菌群组间差异菌属的丰度和血清生化指标的相关性，并通过基于控制错误发现率 (false discovery rate, FDR) 的 BH (Benjamini-Hochberg) 法进行多重假设检验校正。 $P < 0.05$ 时，认为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 *Loigolactobacillus coryniformis* Lc7 对高脂血症仓鼠体重和血清生化指标的影响

如图 1A–1C 所示，3 组间体重增长无明显差异 ($P > 0.05$)，HFD 组的能量摄入量显著高于 NC 组 ($P < 0.01$)，而饲料转化率无明显差异 ($P > 0.05$)；HFD 组和 Lc7 干预组的能量摄入量和饲料转化率均无明显差异 ($P > 0.05$)。

如图 1D–1G 所示，与 NC 组相比，HFD 组仓鼠血清 TC、TG 和 LDL-C 的浓度显著升高，

HDL-C 浓度显著降低 ($P < 0.001$)，提示高脂血症模型造模成功；Lc7 干预组仓鼠血清 TC ($P < 0.001$)、TG 和 LDL-C ($P < 0.05$) 的浓度显著低于 HFD 组，HDL-C 的浓度显著高于 HFD 组 ($P < 0.001$)，表明灌胃 *L. coryniformis* Lc7 有效改善了高脂血症仓鼠的血脂异常。

血脂异常和慢性炎症密切相关，血清中促炎细胞因子的水平可以反映脂质异常的严重程度^[23]。如图 1H–1K 所示，与 NC 组相比，HFD 组仓鼠血清 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和 LPS 的浓度显著升高 ($P < 0.001$)；与 HFD 组相比，Lc7 干预组仓鼠血清 IL-1 β ($P < 0.05$)、IL-6 ($P < 0.01$) 和 LPS ($P < 0.05$) 的浓度显著降低，TNF- α 浓度也有所降低，但无统计学意义 ($P > 0.05$)。结果表明，灌胃 *L. coryniformis* Lc7 能够降低仓鼠高脂饮食引起的血清炎症因子和 LPS 浓度的升高。

2.2 *Loigolactobacillus coryniformis* Lc7 对高脂血症仓鼠肝组织和附睾脂肪组织形态的影响

高脂饮食的摄入会引起肝脏脂肪变性和炎症反应。如图 2A 所示，NC 组仓鼠肝脏细胞形态正常，排列整齐，无脂肪变性。HFD 组仓鼠肝脏细胞排列无序，体积增大，可见弥漫性肝细胞脂肪变性，胞质中出现泡沫状微泡和散在小脂滴 (蓝色箭头)；部分肝细胞呈气球样变性，胞质疏松淡染 (青色箭头)；肝小叶内可见散在肝细胞小灶性坏死伴淋巴细胞浸润 (绿色箭头)；肝血窦周围可见纤维组织增生 (红色箭头)。与 HFD 组相比，Lc7 干预组仓鼠显示出较轻的病理症状，肝细胞形态改善，细胞排列较整齐，脂肪变性程度较轻，仍可见散在小脂滴 (蓝色箭头)；炎症反应较轻，肝细胞气球样变性减少，肝小叶内可见少量肝细胞点状坏死伴淋巴细胞浸润，说明 *L. coryniformis* Lc7 缓解了仓鼠高脂饮食引起的肝脏组织损伤。

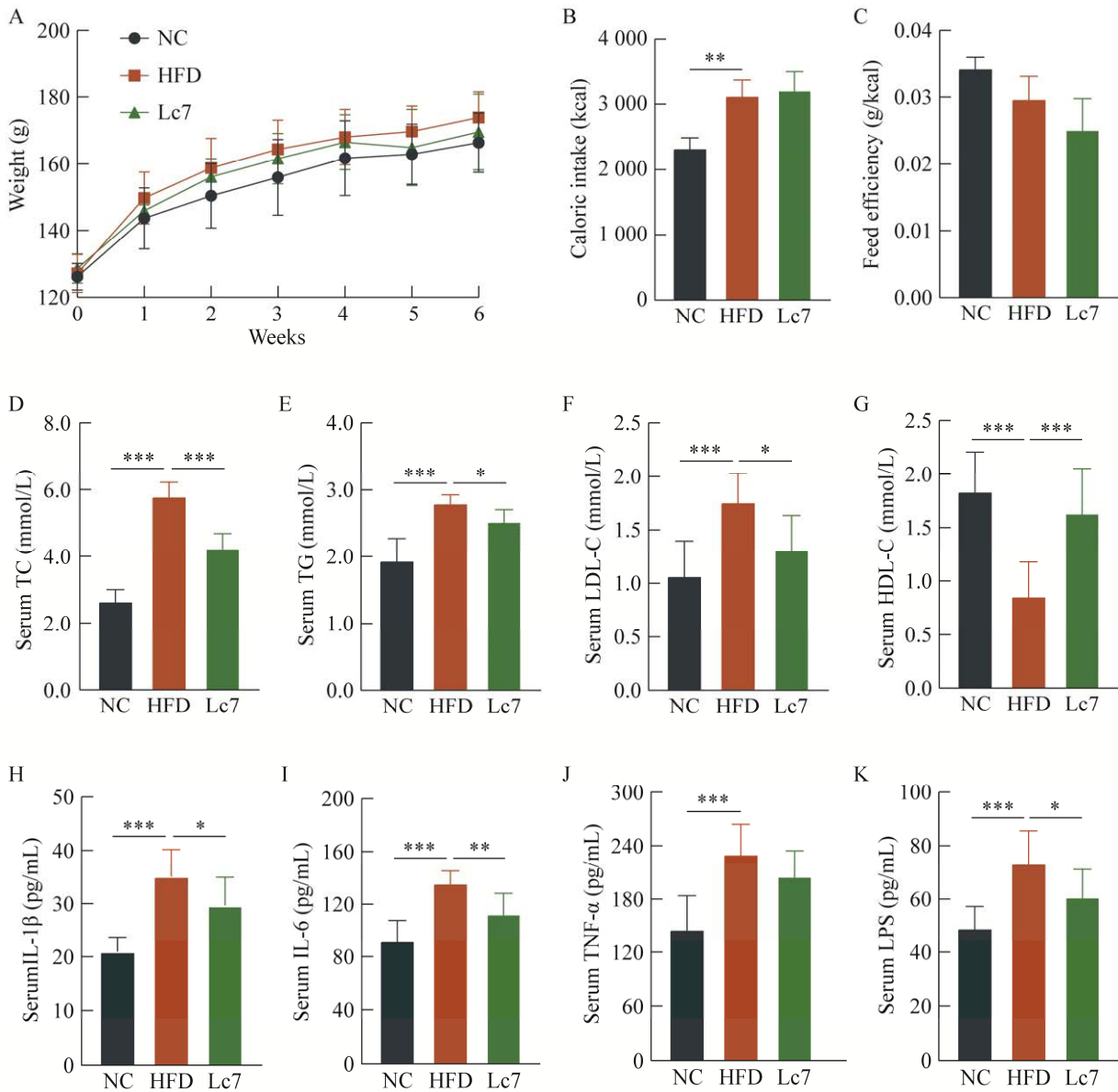


图1 *Loigolactobacillus coryniformis* Lc7 对高脂血症仓鼠体重、摄食、血脂水平、血清炎症因子和脂多糖水平的影响 A: 体重. B: 能量摄入量. C: 饲料转化率. D: 血清总胆固醇(TC). E: 血清甘油三酯(TG). F: 血清低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C). G: 血清高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C). H: 血清白细胞介素-1 β (IL-1 β). I: 血清白细胞介素-6 (IL-6). J: 血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α). K: 血清脂多糖(LPS). NC: 正常对照组; HFD: 高脂模型组; Lc7: *L. coryniformis* Lc7 干预组. 数据为均值 \pm 标准差($n=8$)

Figure 1 Effects of *Loigolactobacillus coryniformis* Lc7 on weight, food intake, and the serum levels of lipids, inflammatory cytokines, and lipopolysaccharide in hyperlipidemic hamsters. A: Weight. B: Caloric intake. C: Feed efficiency. D: Serum TC. E: Serum TG. F: Serum LDL-C. G: Serum HDL-C. H: Serum IL-1 β . I: Serum IL-6. J: Serum TNF- α . K: Serum LPS. NC: Normal control group; HFD: High-fat diet group; Lc7: *L. coryniformis* Lc7 administrated group. Values represent the mean \pm standard deviation ($n=8$). *: $P<0.05$; **: $P<0.01$; ***: $P<0.001$.

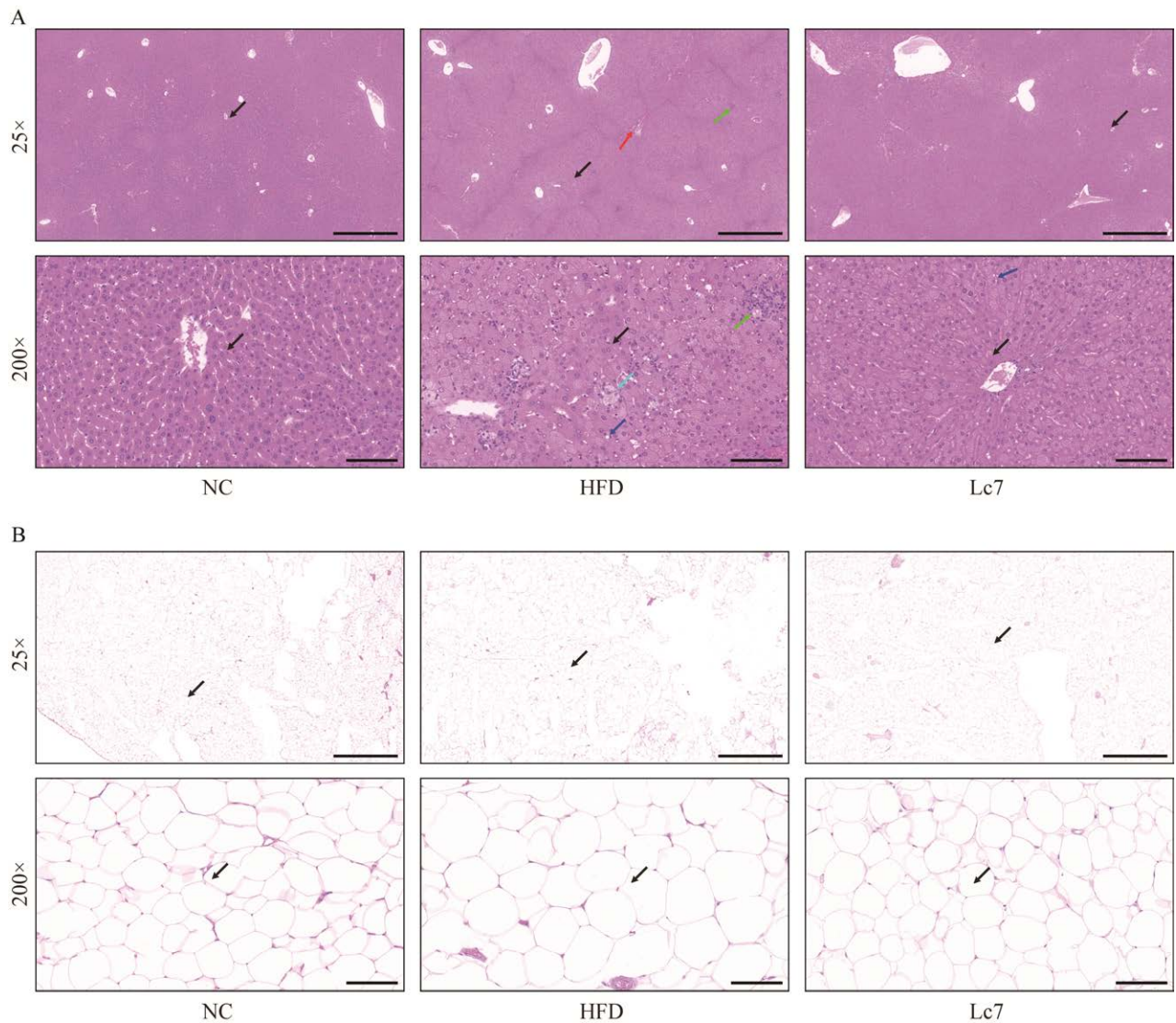


图2 *Loigolactobacillus coryniformis* Lc7对高脂血症仓鼠肝组织和附睾脂肪组织形态的影响 A: 肝组织 HE 染色切片图. B: 附睾脂肪组织 HE 染色切片图. NC: 正常对照组; HFD: 高脂模型组; Lc7: *L. coryniformis* Lc7 干预组. 蓝色箭头: 小脂滴; 青色箭头: 气球样变性; 绿色箭头: 淋巴细胞浸润; 红色箭头: 纤维组织增生; 黑色箭头: 不同放大倍数的显微镜下的同一视野位置. 标尺: 1 000 μm (25 \times), 100 μm (200 \times)

Figure 2 Effects of *Loigolactobacillus coryniformis* Lc7 on the morphology of the liver and epididymal adipose tissue in hyperlipidemic hamsters. A: Representative images of the liver tissue stained with HE. B: Representative images of the epididymal adipose tissue stained with HE. Blue arrow: Small fat droplet; Cyan arrow: Ballooning degeneration; Green arrow: Lymphocytic infiltrate; Red arrow: Fibrosis; Black arrow: A same position in visual field under the microscope of different magnification. NC: Normal control group; HFD: High-fat diet group; Lc7: *L. coryniformis* Lc7 administrated group. Scale bar: 1 000 μm (25 \times), 100 μm (200 \times).

高脂饮食还会加速脂肪细胞储存能量,使其体积扩大。如图 2B 所示,NC 组仓鼠附睾脂肪细胞大小正常,HFD 组仓鼠附睾脂肪细胞体积明显增大;与 HFD 组相比,Lc7 干预组仓鼠附睾脂肪细胞体积减小,趋于正常,说明灌胃 *L. coryniformis* Lc7 减轻了高脂血症仓鼠附睾脂肪组织的脂肪堆积。

2.3 *Loigolactobacillus coryniformis* Lc7 对高脂血症仓鼠肠道菌群的影响

2.3.1 *Loigolactobacillus coryniformis* Lc7 对高脂血症仓鼠肠道菌群多样性和结构的影响

本研究采用 Chao1 指数和 Shannon 指数衡量仓鼠盲肠内容物菌群的 α 多样性。如图 3A 所示,3 组间 Chao1 指数无显著性差异($P>0.05$)。如图 3B 所示,HFD 组 Shannon 指数与 NC 组相比无显著性差异($P>0.05$);Lc7 干预组 Shannon 指数显著高于 HFD 组($P<0.01$),说明在 *L. coryniformis* Lc7 的干预下,高脂血症仓鼠肠道菌群的物种多样性明显增加。

通过 PCoA 和 UPGMA 对高脂血症仓鼠肠道菌群的 β 多样性进行分析。PCoA 分析结果如图 3C 所示,各组内样本点聚集在一起,各组间样本点明显分离,相应地,相似性分析 (analysis of similarities, Anosim) 结果显示,各组间仓鼠肠道菌群结构存在显著性差异 ($P=0.001$);与 HFD 组相比,Lc7 干预组和 NC 组之间样本分布距离较近,说明 Lc7 干预组和 NC 组物种组成相似性更高。此外,本研究使用 UPGMA 基于物种多样性对样本进行层次聚类,以聚类树的形式展现了各样本的相似性,结果如图 3D 所示,HFD 组样本聚类到一个单独分支,Lc7 干预组和 NC 组样本则聚集为一大簇,即 Lc7 干预组和 NC 组仓鼠肠道菌群结构更为相似,与 PCoA 分析结果相符。以上分析表明,*L. coryniformis* Lc7 干预可改变高脂血

症仓鼠肠道菌群的结构,并使其趋于正常。

图 3E 展示了相对丰度前 10 位的菌门,各组仓鼠肠道菌群在门水平上以厚壁菌门 (*Firmicutes*)、拟杆菌门 (*Bacteroidota*) 和脱硫菌门 (*Desulfobacterota*) 为主。图 3F 展示了相对丰度前 10 位的菌属,NC 组的优势菌属为毛螺菌属 NK4A136 群 (*Lachnospiraceae*_NK4A136_group) 和啮齿真杆菌群 (*Eubacterium_ruminantium_group*) 等,HFD 组的优势菌属为瘤胃球菌属 (*Ruminococcus*) 和啮齿真杆菌群等,Lc7 干预组丰度较高的菌属为瘤胃球菌属、毛螺菌属 NK4A136 群、结肠杆菌属 (*Colidextribacter*) 和惰性真杆菌群 (*Eubacterium_siraeum_group*) 等。结果表明,*L. coryniformis* Lc7 干预对高脂血症仓鼠肠道菌群的微生物群落分布有一定的影响。

2.3.2 *Loigolactobacillus coryniformis* Lc7 对高脂血症仓鼠肠道菌群丰度变化的影响

本研究采用方差分析在门水平比较各组间肠道微生物群落丰度的差异,如图 4A 所示,NC 组和 HFD 组厚壁菌门与拟杆菌门相对丰度的比值无显著性差异 ($P>0.05$),而 Lc7 干预组厚壁菌门与拟杆菌门的比值显著低于 HFD 组 ($P<0.05$)。如图 4B 所示,与 NC 组相比,HFD 组弯曲杆菌门 (*Campylobacterota*) 相对丰度显著升高;Lc7 干预明显降低了由于高脂饮食造成的弯曲杆菌门相对丰度的升高 ($P<0.01$)。此外,如图 4C 所示,Lc7 干预组酸杆菌门 (*Acidobacteriota*) 相对丰度显著高于 HFD 组 ($P<0.05$)。

通过 LEfSe 分析筛选各组仓鼠肠道菌群在科水平和属水平有统计学差异的分类单元,结果如图 4D 所示,在科水平上,毛螺菌科 (*Lachnospiraceae*) 和黏液球菌科 (*Myxococcaceae*) 在 NC 组中显著富集,螺杆菌科 (*Helicobacteraceae*)

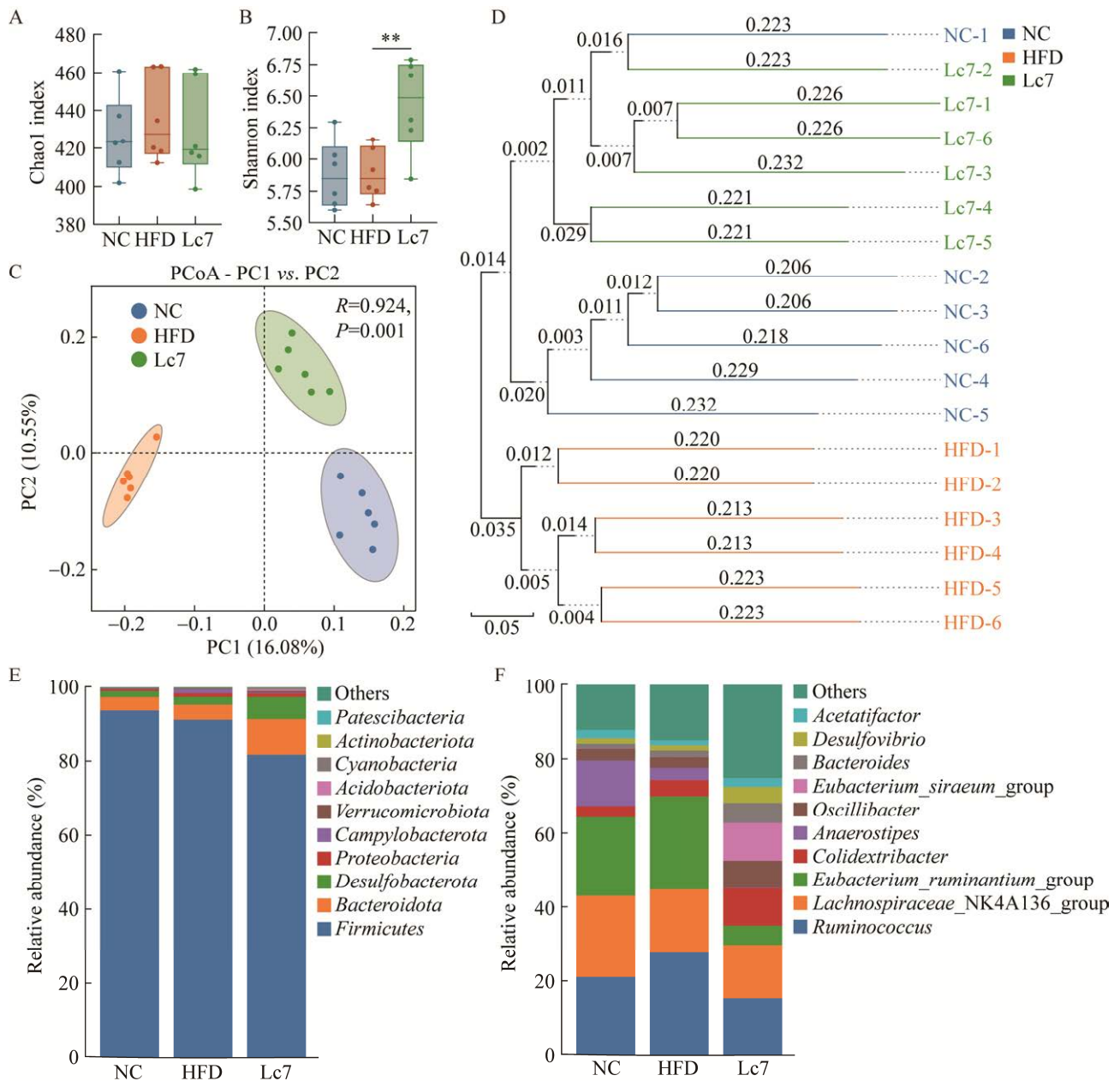


图3 *Loigolactobacillus coryniformis* Lc7 对高脂血症仓鼠肠道菌群 α 多样性、 β 多样性和微生物群落分布的影响 A: Chao1 指数. B: Shannon 指数. C: 基于 Unweighted UniFrac 距离的 PCoA 分析(相似性分析检验). D: 基于 Unweighted UniFrac 距离的 UPGMA 分析. E: 门水平分类群分布(相对丰度前 10). F: 属水平分类群分布(相对丰度前 10). NC: 正常对照组; HFD: 高脂模型组; Lc7: *L. coryniformis* Lc7 干预组

Figure 3 Effects of *Loigolactobacillus coryniformis* Lc7 on alpha diversity, beta diversity and the microflora distribution of gut microbiota in hyperlipidemic hamsters. A: Chao1 index. B: Shannon index. C: PCoA analysis based on Unweighted UniFrac distance. D: UPGMA analysis based on Unweighted UniFrac distance. E: Taxonomic distribution of phylum level (top 10). F: Taxonomic distribution of genus level (top 10). NC: Normal control group; HFD: High-fat diet group; Lc7: *L. coryniformis* Lc7 administered group. $n=6$. **: $P<0.01$.

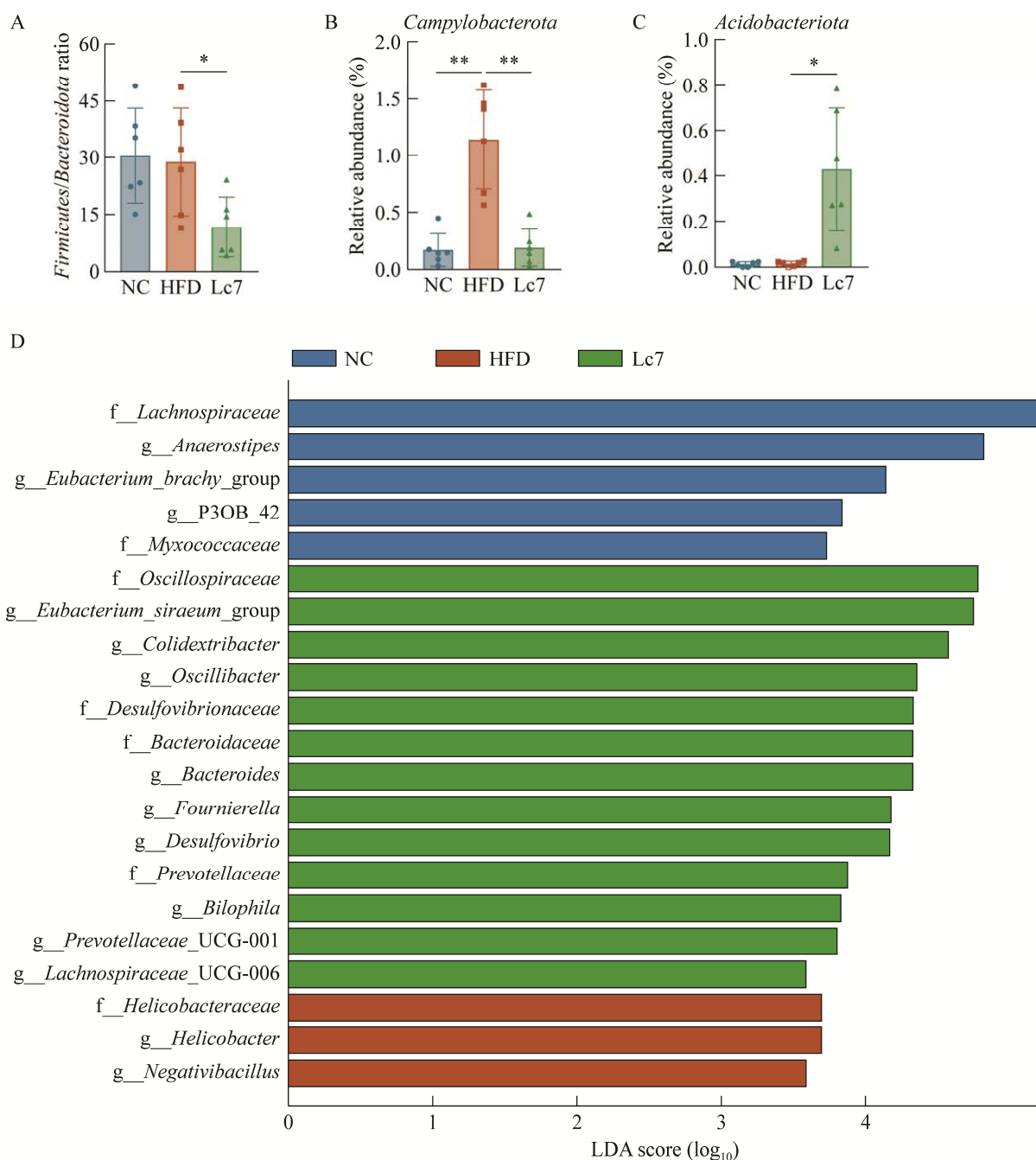


图 4 *Loigolactobacillus coryniformis* Lc7 对高脂血症仓鼠肠道菌群组间差异性的影响 A: 厚壁菌门/拟杆菌门比值. B: 弯曲杆菌门相对丰度. C: 酸杆菌门相对丰度. D: 科水平和属水平 LEfSe 分析(LDA>3.5). NC: 正常对照组; HFD: 高脂模型组; Lc7: *L. coryniformis* Lc7 干预组

Figure 4 Effects of *Loigolactobacillus coryniformis* Lc7 on the differences between groups of gut microbiota in hyperlipidemic hamsters. A: *Firmicutes/Bacteroidota* ratio. B: The relative abundance of *Campylobacterota*. C: The relative abundance of *Acidobacteriota*. D: LEfSe analysis from family to genus levels (LDA>3.5). NC: Normal control group; HFD: High-fat diet group; Lc7: *L. coryniformis* Lc7 administrated group. $n=6$. *: $P<0.05$; **: $P<0.01$.

的相对丰度在 HFD 组中显著升高, Lc7 干预组颤螺旋菌科 (*Oscillospiraceae*)、脱硫弧菌科 (*Desulfovibrionaceae*)、拟杆菌科 (*Bacteroidaceae*) 和普雷沃氏菌科 (*Prevotellaceae*) 的相对丰度显著高于 NC 组和 HFD 组。在属水平上, NC 组厌氧棒杆菌属 (*Anaerostipes*) 和短真杆菌群 (*Eubacterium_brachy_group*) 显著富集, HFD 组螺杆菌属 (*Helicobacter*) 和 *Negativibacillus* 的相对丰度显著升高, 与 NC 组和 HFD 组相比, Lc7 干预组惰性真杆菌群、结肠杆菌属、颤杆菌属 (*Oscillibacter*)、拟杆菌属 (*Bacteroides*)、福涅拉氏菌属 (*Fournierella*)、脱硫弧菌属 (*Desulfovibrio*)、嗜胆菌属 (*Bilophila*)、普雷沃氏菌科 UCG-001 (*Prevotellaceae_UCG-001*) 和毛螺菌科 UCG-006 (*Lachnospiraceae_UCG-006*) 的相对丰度显著增加。

2.4 仓鼠肠道菌群差异菌属丰度与血清生化指标的相关性分析

为进一步探讨肠道菌群的变化对高脂血症仓鼠的影响, 本研究对各组间差异菌属的相对丰度与血清脂质、炎症因子和 LPS 水平进行相关性分析。结果如图 5 所示, NC 组中富集的厌氧棒杆菌属和短真杆菌群的相对丰度与 TG 浓度呈负相关 ($P<0.05$), 其中, 厌氧棒杆菌属的相对丰度还与 LPS 浓度呈负相关 ($P<0.01$)。HFD 组中富集的螺杆菌属的相对丰度与 TC 浓度的变化趋势一致, 存在正相关关系 ($P<0.01$)。

3 讨论与结论

研究表明 *L. coryniformis* 具有抗炎^[15-16]、增强免疫应答^[13-14]和改善肥胖所致血管病变的功效^[12]。本研究通过对高脂血症仓鼠进行

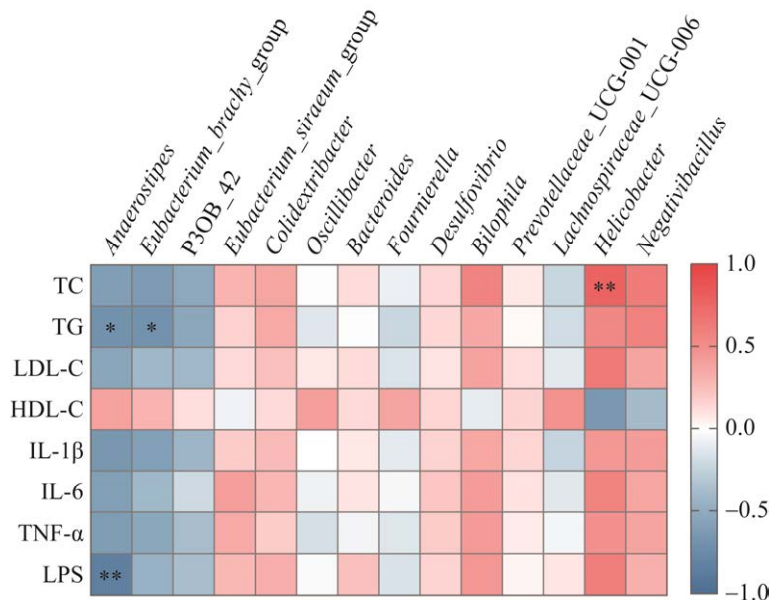


图 5 肠道菌群组间差异菌属相对丰度与血清脂质、炎症因子和 LPS 浓度相关性分析 红色代表正相关; 蓝色代表负相关; 颜色越深, 则相关性越强

Figure 5 Correlation between the relative abundance of significant different genera of gut microbiota and the concentration of serum lipid, inflammatory cytokines and lipopolysaccharide. Red indicates a positive correlation, and blue indicates a negative correlation. The intensity of the color represents the degree of correlation. $n=6$. *: $P<0.05$; **: $P<0.01$.

灌胃干预,发现分离自健康成人粪便样本的 *L. coryniformis* Lc7 具有降低血脂和调节肠道菌群的作用。

高脂饮食可引起机体血脂升高和异位脂肪沉积,进而导致肝脏脂肪变性^[24]。此前研究发现,灌胃罗伊氏乳杆菌(*Lactobacillus reuteri*) 263 可以显著降低高脂血症仓鼠的血脂水平,并减轻仓鼠肝脏脂质蓄积及脂肪变性^[25]。*L. coryniformis* 属于乳杆菌科,体外试验表明该菌种具有降胆固醇功能^[11]。本研究发现灌胃 *L. coryniformis* Lc7 显著降低了高脂血症仓鼠的血清 TC、TG 和 LDL-C 浓度,升高了 HDL-C 浓度,并减缓了肝脏组织脂肪变性和炎症细胞浸润,附睾脂肪细胞体积也明显减小。

高脂饮食还可引起肠道微生态失调和肠道屏障受损,导致肠道中 LPS 透过肠上皮屏障进入体循环,引发代谢性内毒素血症^[26],LPS 进而激活单核细胞中 I κ B 激酶(IkappaB kinase, IKK)-核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)等信号转导通路,诱导 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 等炎症因子基因的表达^[27]。Li 等^[28]研究发现灌胃格式乳杆菌(*Lactobacillus gasseri*) RW2014 5 周后,高脂血症大鼠血清中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF α 等炎症因子以及 LPS 的水平显著下降。与 Li 等^[28]结果类似,本研究发现灌胃 *L. coryniformis* Lc7 可以显著降低高脂血症仓鼠血清 IL-1 β 、IL-6 和 LPS 的水平,从而减轻仓鼠的炎症症状。

肠道菌群在调节宿主脂质代谢中起着至关重要的作用,高脂饮食通过改变肠道菌群结构和肠道通透性,促进高脂血症的发生和发展^[29-30]。近年来,多项研究证实乳酸菌等益生菌可靶向调节肠道菌群,进而降低宿主血脂水平^[31-33]。例如,戊糖片球菌(*Pediococcus*

pentosaceus) JQI-7、*L. plantarum* LLY-606 和 *L. plantarum* PC-26 均可通过调节仓鼠肠道菌群的结构改善高脂血症,并且都在门水平上升高了拟杆菌门的相对丰度并降低了厚壁菌门的相对丰度^[31]。本研究结果显示,*L. coryniformis* Lc7 可使厚壁菌门与拟杆菌门的比值显著降低,该比值在高脂血症患者中呈增高趋势^[34]。在科水平上,颤螺旋菌科和普雷沃氏菌科的相对丰度在 *L. coryniformis* Lc7 干预后显著升高。颤螺旋菌科和普雷沃氏菌科的成员可在肠道中产生丁酸,丁酸是一种短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs),具有抗炎和抗肿瘤的作用^[35-36]。

在属水平上,*L. coryniformis* Lc7 干预显著提高了高脂血症仓鼠肠道中惰性真杆菌群、颤杆菌克属、拟杆菌属和脱硫弧菌属的相对丰度。惰性真杆菌属于真杆菌科,一项基于宏基因组学的研究表明惰性真杆菌的丰度与血浆 HDL-C 的水平呈正相关^[37],Devillard 等^[38]发现惰性真杆菌参与肠道中亚油酸(linoleic acid, LA)转化为共轭亚油酸(conjugated linoleic acids, CLA)的代谢过程,CLA 可发挥减肥和抗动脉粥样硬化等多种健康益处^[39]。颤杆菌克属隶属于颤螺旋菌科,研究显示,与健康人群相比,肥胖人群颤杆菌克属的相对丰度较低^[40]。此外,一项孟德尔随机化研究提出人粪便颤杆菌克属相对丰度的增加与血清 TG 浓度的降低存在因果关系^[41],与本研究结果相符。既往研究发现拟杆菌属和脱硫弧菌属的一些菌株可调节宿主脂质代谢,改善代谢性疾病^[42-44]。拟杆菌属是肠道中主要的 SCFAs 生产者,其产生的 SCFAs 包括乙酸、丙酸和丁酸,对结肠炎、肿瘤和心血管疾病具有保护作用^[45]。动物实验研究表明普通拟杆菌(*Bacteroides vulgatus*) Bv46 和单形拟杆菌(*Bacteroides uniformis*) CECT

7771 干预降低了血清 TC 和 TG 水平, 并减少肝脏脂质沉积^[42-43]。脱硫弧菌属是硫酸盐还原菌, 在肠道中可产生 H₂S, H₂S 虽然是有毒气体, 但是肠道微生物来源的 H₂S 作为除 NO、CO 以外的第三大气体介质, 参与调节宿主生理功能^[46], 维持脂质代谢稳态, 减少氧化应激^[47]。例如, 普通脱硫弧菌 (*Desulfovibrio vulgaris*) ATCC 29579 可通过抑制脂肪酸从头合成途径和刺激脂肪酸 β 氧化改善高脂饮食喂养小鼠的非酒精性脂肪性肝病^[44]。

研究显示螺杆菌属与多种胃肠道疾病和肝脏疾病的发生发展有关^[48-49]。已有研究报道, 高脂饮食引起小鼠肠道中螺杆菌属丰度升高, 且螺杆菌属在高脂饮食喂养的小鼠灌服益生菌发酵的芹菜汁后丰度明显降低^[50]。一项针对高脂饮食诱导的肥胖小鼠的研究表明, 螺杆菌属的丰度与体重和其他肥胖相关指标呈正相关^[51]。本研究也发现螺杆菌属的相对丰度在高脂血症仓鼠中显著升高, 且相关性分析结果显示其丰度与 TC 浓度呈正相关, 而灌胃 *L. coryniformis* Lc7 降低了高脂血症仓鼠肠道中螺杆菌属的相对丰度。*Negativibacillus* 隶属于 *Clostridiales* cluster IV, 是近年来新发现的菌属^[52], 研究显示其丰度在溃疡性结肠炎患者和小鼠急性结肠炎模型中明显升高^[53-54]。Luo 等^[55]发现一种具有抗炎特性的覆盆子多糖能够减少高脂饮食喂养的小鼠肠道中 *Negativibacillus* 的丰度, 本研究也发现 *L. coryniformis* Lc7 干预减少了高脂血症仓鼠 *Negativibacillus* 的相对丰度。

综上所述, *L. coryniformis* Lc7 干预可以降低高脂血症仓鼠的血脂水平, 抑制炎症因子的产生, 减轻高脂饮食引起的肝组织损伤和附睾脂肪组织脂肪沉积, 改善肠道菌群的多样性和结构, 其具体分子机制有待进一步证明。*L. coryniformis* Lc7 作为益生菌株, 具有预防和

治疗高脂血症的潜能, 本研究为开发和制备具有降脂功效的益生菌产品提供了新的理论依据。

REFERENCES

- [1] DENG XL, MA J, SONG MT, JIN Y, JI C, GE WH, GUO CR. Effects of products designed to modulate the gut microbiota on hyperlipidaemia[J]. *European Journal of Nutrition*, 2019, 58(7): 2713-2729.
- [2] BOZKURT B, AGUILAR D, DESWAL A, DUNBAR SB, FRANCIS GS, HORWICH T, JESSUP M, KOSIBOROD M, PRITCHETT AM, RAMASUBBU K, ROSENDORFF C, YANCY C. Contributory risk and management of comorbidities of hypertension, obesity, diabetes mellitus, hyperlipidemia, and metabolic syndrome in chronic heart failure: a scientific statement from the American heart association[J]. *Circulation*, 2016, 134(23): e535-e578.
- [3] GRUNDY SM, STONE NJ, BAILEY AL, BEAM C, BIRTCHER KK, BLUMENTHAL RS, BRAUN LT, de FERRANTI S, FAIELLA-TOMMASINO J, FORMAN DE, GOLDBERG R, HEIDENREICH PA, HLATKY MA, JONES DW, LLOYD-JONES D, LOPEZ-PAJARES N, NDUMELE CE, ORRINGER CE, PERALTA CA, SASEEN JJ, et al. 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APHA/ASPC/NLA/PCNA guideline on the management of blood cholesterol: a report of the American college of cardiology/American heart association task force on clinical practice guidelines[J]. *Circulation*, 2019, 139(25): e1082-e1143.
- [4] FU JY, BONDER MJ, CENIT MC, TIGCHELAAR EF, MAATMAN A, DEKENS JAM, BRANDSMA E, MARCZYNSKA J, IMHANN F, WEERSMA RK, FRANKE L, POON TW, XAVIER RJ, GEVERS D, HOFKER MH, WIJMENGA C, ZHERNAKOVA A. The gut microbiome contributes to a substantial proportion of the variation in blood lipids[J]. *Circulation Research*, 2015, 117(9): 817-824.
- [5] RABOT S, MEMBREZ M, BRUNEAU A, GÉRARD P, HARACH T, MOSER M, RAYMOND F, MANSOURIAN R, CHOU CJ. Germ-free C57BL/6J mice are resistant to high-fat-diet-induced insulin resistance and have altered cholesterol metabolism[J]. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2010, 24(12): 4948-4959.

- [6] Le ROY T, LÉCUYER E, CHASSAING B, RHIMI M, LHOMME M, BOUDEBBOUZE S, ICHOU F, HARO BARCELÓ J, HUBY T, GUERIN M, GIRAL P, MAGUIN E, KAPEL N, GÉRARD P, CLÉMENT K, LESNIK P. The intestinal microbiota regulates host cholesterol homeostasis[J]. *BMC Biology*, 2019, 17(1): 94.
- [7] MICHELS N, ZOUIOUICH S, VANDERBAUWHEDE B, VANACKER J, INDAVE RUIZ BI, HUYBRECHTS I. Human microbiome and metabolic health: an overview of systematic reviews[J]. *Obesity Reviews*, 2022, 23(4): e13409.
- [8] PARK YE, KIM MS, SHIM KW, KIM YI, CHU J, KIM BK, CHOI IS, KIM JY. Effects of *Lactobacillus plantarum* Q180 on postprandial lipid levels and intestinal environment: a double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel trial[J]. *Nutrients*, 2020, 12(1): 255.
- [9] HAN JZ, MENG XJ, SHEN H, LUO WB, YAO SY, YANG J, ZHU QX, TIAN YQ, WANG SY. Purification, molecular characterization of Lactocin 63 produced by *Lactobacillus coryniformis* FZU63 and its antimicrobial mode of action against *Shewanella putrefaciens*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2021, 105(18): 6921-6930.
- [10] XU XQ, PENG Q, ZHANG YW, TIAN DD, ZHANG PB, HUANG Y, MA L, QIAO Y, SHI B. A novel exopolysaccharide produced by *Lactobacillus coryniformis* NA-3 exhibits antioxidant and biofilm-inhibiting properties *in vitro*[J]. *Food & Nutrition Research*, 2020, 64.
- [11] XU XQ, QIAO Y, PENG Q, SHI B. Probiotic properties of *Loigolactobacillus coryniformis* NA-3 and *in vitro* comparative evaluation of live and heat-killed cells for antioxidant, anticancer and immunoregulatory activities[J]. *Foods (Basel, Switzerland)*, 2023, 12(5): 1118.
- [12] TORAL M, GÓMEZ-GUZMÁN M, JIMÉNEZ R, ROMERO M, SÁNCHEZ M, UTRILLA MP, GARRIDO-MESA N, ELENA RODRÍGUEZ-CABEZAS M, OLIVARES M, GÁLVEZ J, DUARTE J. The probiotic *Lactobacillus coryniformis* CECT5711 reduces the vascular pro-oxidant and pro-inflammatory status in obese mice[J]. *Clinical Science*, 2014, 127(1): 33-45.
- [13] REDONDO N, NOVA E, GHEORGHE A, DÍAZ LE, HERNÁNDEZ A, MARCOS A. Evaluation of *Lactobacillus coryniformis* CECT5711 strain as a coadjuvant in a vaccination process: a randomised clinical trial in healthy adults[J]. *Nutrition & Metabolism*, 2017, 14(1): 2.
- [14] FONOLLÁ J, GRACIÁN C, MALDONADO-LOBÓN JA, ROMERO C, BÉDMAR A, CARRILLO JC, MARTÍN-CASTRO C, CABRERA AL, GARCÍA-CURIEL JM, RODRÍGUEZ C, SANBONMATSU S, PÉREZ-RUIZ M, NAVARRO JM, OLIVARES M. Effects of *Lactobacillus coryniformis* K8 CECT5711 on the immune response to influenza vaccination and the assessment of common respiratory symptoms in elderly subjects: a randomized controlled trial[J]. *European Journal of Nutrition*, 2019, 58(1): 83-90.
- [15] WANG T, ZHANG LS, WANG PP, LIU YL, WANG GT, SHAN YY, YI YL, ZHOU Y, LIU BF, WANG X, LÜ X. *Lactobacillus coryniformis* MXJ32 administration ameliorates azoxymethane/dextran sulfate sodium-induced colitis-associated colorectal cancer via reshaping intestinal microenvironment and alleviating inflammatory response[J]. *European Journal of Nutrition*, 2022, 61(1): 85-99.
- [16] 张素平, 林晓颖, 徐明超, 乔蕾, 杨晶, 孙晖, 张桂, 刘丽云, 徐建国. 棒状腐败乳杆菌 Lc7 的生物学特性及益生作用[J]. *微生物学报*, 2023, 63(1): 319-332.
- [17] ZHANG SP, LIN XY, XU MC, QIAO L, YANG J, SUN H, ZHANG G, LIU LY, XU JG. Biological characteristics and probiotic effect of *Loigolactobacillus coryniformis* Lc7[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(1): 319-332 (in Chinese).
- [18] SOEHNLEIN O, SWIRSKI FK. Hypercholesterolemia links hematopoiesis with atherosclerosis[J]. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 2013, 24(3): 129-136.
- [19] SURMA S, SAHEBKAR A, BANACH M. Coffee or tea: anti-inflammatory properties in the context of atherosclerotic cardiovascular disease prevention[J]. *Pharmacological Research*, 2023, 187: 106596.
- [20] 温蕾, 陈肇源, 陈桂霞, 袁镜乐. 石蜡切片的制作及其免疫组化染色技术[J]. *畜牧兽医科技信息*, 2018(5): 36.
- [21] WEN L, CHEN ZY, CHEN GX, YUAN JL. Preparation of paraffin section and its immunohistochemical staining technique[J]. *Chinese Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2018(5): 36 (in Chinese).
- [22] BOLYEN E, RIDEOUT JR, DILLON MR, BOKULICH NA, ABNET CC, AL-GHALITH GA,

- ALEXANDER H, ALM EJ, ARUMUGAM M, ASNICAR F, BAI Y, BISANZ JE, BITTINGER K, BREJNROD A, BRISLAWN CJ, BROWN CT, CALLAHAN BJ, CARABALLO-RODRÍGUEZ AM, CHASE J, COPE EK, et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2[J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37(8): 852-857.
- [21] CALLAHAN BJ, McMURDIE PJ, ROSEN MJ, HAN AW, JOHNSON AJA, HOLMES SP. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data[J]. *Nature Methods*, 2016, 13(7): 581-583.
- [22] QUAST C, PRUESSE E, YILMAZ P, GERKEN J, SCHWEER T, YARZA P, PEPLIES J, GLÖCKNER FO. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools[J]. *Nucleic Acids Research*, 2013, 41(D1): D590-D596.
- [23] HONG NJ, LIN YJ, YE ZR, YANG C, HUANG YL, DUAN Q, XIE SX. The relationship between dyslipidemia and inflammation among adults in east coast China: a cross-sectional study[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 937201.
- [24] 于金慧, 王瑜, 彭振英, 边斐, 贾文斌, 刘园园, 石帅, 丁汉凤, 毕玉平. 裂殖壶藻藻油 DHA 对高脂饮食诱导肥胖小鼠的影响[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(11): 2679-2688.
- YU JH, WANG Y, PENG ZY, BIAN F, JIA WB, LIU YY, SHI S, DING HF, BI YP. Effects of docosahexaenoic acid from *Schizochytrium* sp. on high fat diet induced obesity in mice[J]. *Microbiology China*, 2017, 44(11): 2679-2688 (in Chinese).
- [25] HUANG WC, CHEN YM, KAN NW, HO CS, WEI L, CHAN CH, HUANG HY, HUANG CC. Hypolipidemic effects and safety of *Lactobacillus reuteri* 263 in a hamster model of hyperlipidemia[J]. *Nutrients*, 2015, 7(5): 3767-3782.
- [26] CANI PD, BIBILONI R, KNAUF C, WAGET A, NEYRINCK AM, DELZENNE NM, BURCELIN R. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice[J]. *Diabetes*, 2008, 57(6): 1470-1481.
- [27] GUHA M, MACKMAN N. LPS induction of gene expression in human monocytes[J]. *Cellular Signalling*, 2001, 13(2): 85-94.
- [28] LI XP, XIAO YC, HUANG YM, SONG LQ, LI MD, REN ZH. *Lactobacillus gasseri* RW2014 ameliorates hyperlipidemia by modulating bile acid metabolism and gut microbiota composition in rats[J]. *Nutrients*, 2022, 14(23): 4945.
- [29] JIA XK, XU W, ZHANG L, LI XY, WANG RR, WU SS. Impact of gut microbiota and microbiota-related metabolites on hyperlipidemia[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2021, 11: 634780.
- [30] PENG C, XU XB, LI YS, LI XY, YANG XY, CHEN HY, ZHU Y, LU NH, HE C. Sex-specific association between the gut microbiome and high-fat diet-induced metabolic disorders in mice[J]. *Biology of Sex Differences*, 2020, 11(1): 5.
- [31] SUDUN, LIU SL, XIAO C, PENG C, LIANG LF, HE XF, ZHAO SC, ZHANG GY. Probiotic strains improve high-fat diet-induced hypercholesterolemia through modulating gut microbiota in ways different from atorvastatin[J]. *Food & Function*, 2019, 10(9): 6098-6109.
- [32] LYE HS, KATO T, LOW WY, TAYLOR TD, PRAKASH T, LEW LC, OHNO H, LIONG MT. *Lactobacillus fermentum* FTDC 8312 combats hypercholesterolemia via alteration of gut microbiota[J]. *Journal of Biotechnology*, 2017, 262: 75-83.
- [33] YANG DT, LYU WT, HU ZY, GAO JT, ZHENG ZY, WANG WJ, FIRMAN J, REN DX. Probiotic effects of *Lactobacillus fermentum* ZJUIDS06 and *Lactobacillus plantarum* ZY08 on hypercholesteremic golden hamsters[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2021, 8: 705763.
- [34] KAPPEL BA, de ANGELIS L, PUETZ A, BALLANTI M, MENGHINI R, MARX N, FEDERICI M. Antibiotic-induced gut microbiota depletion exacerbates host hypercholesterolemia[J]. *Pharmacological Research*, 2023, 187: 106570.
- [35] LETH ML, PICHLER MJ, ABOU HACHEM M. Butyrate-producing colonic clostridia: picky glycan utilization specialists[J]. *Essays in Biochemistry*, 2023, 67(3): 415-428.
- [36] CHEN YX, LIU YZ, WANG Y, CHEN XW, WANG CL, CHEN XH, YUAN X, LIU LL, YANG J, ZHOU XY. *Prevotellaceae* produces butyrate to alleviate PD-1/PD-L1 inhibitor-related cardiotoxicity via PPAR α -CYP4X1 axis in colonic macrophages[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research: CR*, 2022, 41(1): 1.
- [37] NEWMAN TM, SHIVELY CA, REGISTER TC, APPT SE, YADAV H, COLWELL RR, FANELLI B, DADLANI M, GRAUBICS K, NGUYEN UT,

- RAMAMOORTHY S, UBERSEDER B, CLEAR KYJ, WILSON AS, REEVES KD, CHAPPELL MC, TOOZE JA, COOK KL. Diet, obesity, and the gut microbiome as determinants modulating metabolic outcomes in a non-human primate model[J]. *Microbiome*, 2021, 9(1): 100.
- [38] DEVILLARD E, McINTOSH FM, DUNCAN SH, WALLACE RJ. Metabolism of linoleic acid by human gut bacteria: different routes for biosynthesis of conjugated linoleic acid[J]. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189(6): 2566-2570.
- [39] WAHLE KWJ, HEYS SD, ROTONDO D. Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health?[J]. *Progress in Lipid Research*, 2004, 43(6): 553-587.
- [40] HU HJ, PARK SG, JANG HB, CHOI MK, PARK KH, KANG JH, PARK SI, LEE HJ, CHO SH. Obesity alters the microbial community profile in Korean adolescents[J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0134333.
- [41] LIU XM, TONG X, ZOU YQ, LIN XQ, ZHAO H, TIAN L, JIE ZY, WANG Q, ZHANG Z, LU HR, XIAO L, QIU XM, ZI J, WANG R, XU X, YANG HM, WANG J, ZONG Y, LIU WB, HOU Y, ZHU SD, JIA HJ, ZHANG T. Mendelian randomization analyses support causal relationships between blood metabolites and the gut microbiome[J]. *Nature Genetics*, 2022, 54(1): 52-61.
- [42] XU MC, LAN RT, QIAO L, LIN XY, HU DL, ZHANG SP, YANG J, ZHOU J, REN ZH, LI XP, LIU GX, LIU LY, XU JG. *Bacteroides vulgatus* ameliorates lipid metabolic disorders and modulates gut microbial composition in hyperlipidemic rats[J]. *Microbiology Spectrum*, 2023, 11(1): e02517-22.
- [43] GAUFFIN CANO P, SANTACRUZ A, MOYA Á, SANZ Y. *Bacteroides uniformis* CECT 7771 ameliorates metabolic and immunological dysfunction in mice with high-fat-diet induced obesity[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e41079.
- [44] HONG Y, SHENG LL, ZHONG J, TAO X, ZHU WZ, MA JL, YAN J, ZHAO AH, ZHENG XJ, WU GS, LI BB, HAN BX, DING K, ZHENG NN, JIA W, LI HK. *Desulfovibrio vulgaris*, a potent acetic acid-producing bacterium, attenuates nonalcoholic fatty liver disease in mice[J]. *Gut Microbes*, 2021, 13(1): 1-20.
- [45] TAN H, ZHAI Q, CHEN W. Investigations of *Bacteroides* spp. towards next-generation probiotics[J]. *Food Research International*, 2019, 116: 637-644.
- [46] SINGH SB, LIN HC. Hydrogen sulfide in physiology and diseases of the digestive tract[J]. *Microorganisms*, 2015, 3(4): 866-889.
- [47] WALLACE JL, WANG R. Hydrogen sulfide-based therapeutics: exploiting a unique but ubiquitous gasotransmitter[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2015, 14(5): 329-345.
- [48] MLADENOVA-HRISTOVA I, GREKOVA O, PATEL A. Zoonotic potential of *Helicobacter* spp.[J]. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 2017, 50(3): 265-269.
- [49] PELLICANO R, MÉNARD A, RIZZETTO M, MÉGRAUD F. *Helicobacter* species and liver diseases: association or causation?[J]. *The Lancet Infectious Diseases*, 2008, 8(4): 254-260.
- [50] ZHAO D, CAO JH, JIN HQ, SHAN YK, FANG J, LIU F. Beneficial impacts of fermented celery (*Apium graveolens* L.) juice on obesity prevention and gut microbiota modulation in high-fat diet fed mice[J]. *Food & Function*, 2021, 12(19): 9151-9164.
- [51] WANG WW, PAN YO, WANG L, ZHOU H, SONG G, WANG YW, LIU JX, LI AK. Optimal dietary ferulic acid for suppressing the obesity-related disorders in leptin-deficient obese C57BL/6J-*ob/ob* mice[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(15): 4250-4258.
- [52] RICABONI D, MAILHE M, VITTON V, ANDRIEU C, FOURNIER PE, RAOULT D. *Negativibacillus massiliensis* Gen. nov., sp. nov., isolated from human left colon[J]. *New Microbes and New Infections*, 2016, 17: 36-38.
- [53] GRYAZNOVA MV, SOLODSKIKH SA, PANEVINA AV, SYROMYATNIKOV MY, DVORETSKAYA YD, SVIRIDOVA TN, POPOV ES, POPOV VN. Study of microbiome changes in patients with ulcerative colitis in the Central European part of Russia[J]. *Heliyon*, 2021, 7(3): e06432.
- [54] WANG JL, HAN X, LI JX, SHI R, LIU LL, WANG K, LIAO YT, JIANG H, ZHANG Y, HU JC, ZHANG LM, SHI L. Differential analysis of intestinal microbiota and metabolites in mice with dextran sulfate sodium-induced colitis[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2022, 28(43): 6109-6130.
- [55] LUO H, YING N, ZHAO Q, CHEN J, XU H, JIANG W, WU Y, WU Y, GAO H, ZHENG H. A novel polysaccharide from *Rubus chingii* Hu unripe fruits: extraction optimization, structural characterization and amelioration of colonic inflammation and oxidative stress[J]. *Food Chemistry*, 2023, 421: 136152.