

· 论 著 ·

# 植物乳杆菌JX025073.1对小鼠血脂和肠道菌群的调节作用

张泽鹏, 郭展鹏, 倪钰玥, 富灿涯, 朱梦瑶, 付莹婕, 裘迪红

杭州医学院公共卫生学院, 浙江 杭州 310053

**摘要:** **目的** 了解植物乳杆菌JX025073.1对小鼠血脂及肠道菌群的调节作用, 为益生菌用于高脂血症患者营养干预提供依据。**方法** 30只ICR雄性小鼠随机分为对照组、模型组和干预组, 对照组喂基础饲料, 模型组和干预组喂高脂饲料, 干预组每天用0.4 mL植物乳杆菌JX025073.1发酵液灌胃, 对照组和模型组用0.4 mL生理盐水灌胃。称量小鼠体重及心、肝、脾和肾重量, 计算脏器指数; 检测血清总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C), 以及肝和粪便中TC、TG; 粪便双歧杆菌、乳杆菌和大肠杆菌培养和计数。**结果** 实验42 d后, 模型组小鼠体重, 血清TC、TG、LDL-C含量, 肝和粪便TC、TG含量, 以及大肠杆菌数量均高于对照组( $P < 0.05$ ); 粪便双歧杆菌、乳杆菌数量均低于对照组( $P < 0.05$ )。干预组小鼠体重, 血清TC、TG、LDL-C含量, 肝TC含量, 以及粪便大肠杆菌数量均低于模型组( $P < 0.05$ ); 粪便TC、双歧杆菌和乳杆菌数量均高于模型组( $P < 0.05$ )。**结论** 植物乳杆菌JX025073.1能有效改善高脂饮食小鼠的血脂水平及肠道菌群结构。

**关键词:** 植物乳杆菌; 高脂饮食; 肠道菌群; 血脂

**中图分类号:** R993 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-5087(2021)09-0893-04

## Effect of *Lactobacillus plantarum* JX025073.1 on intestinal flora and blood lipid in mice

ZHANG Zepeng, GUO Zhanpeng, NI Yuyue, FU Canya, ZHU Mengyao, FU Yingjie, QIU Dihong  
School of Public Health, Hangzhou Medical College, Hangzhou, Zhejiang 310053, China

**Abstract: Objective** To learn the regulatory effect of *Lactobacillus plantarum* JX025073.1 on intestinal flora and blood lipid in mice, so as to provide the basis for the nutritional intervention of probiotics in hyperlipidemia population.

**Methods** Thirty male ICR mice were randomly divided into a control group, a model group and a intervention group. The mice in the control group were fed with basic diet, and in the other two groups were fed with high fat diet. The mice in the intervention group was given 0.4 mL of *Lactobacillus plantarum* JX025073.1 fermentation liquid by gavage every day, and in the other two groups were given 0.4 mL of normal saline. The body weight of mice, the mass of heart, liver, spleen and kidney organs were weighed, and the organ index was calculated. The contents of total cholesterol (TC), triacylglycerol/triglyceride (TG), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) in serum, TC, TG in liver and in feces were determined by biochemical analyzer. *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and *Escherichia coli* in feces were cultured and counted. **Results** After 42 days, compared with the control group, The mice in the model group had higher body weights, higher levels of TC, TG and LDL-C in serum, higher levels of TC, TG in liver and in feces, more *Escherichia coli*, less *Bifidobacterium* and less *Lactobacillus* ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the mice in the intervention group had lower body weight, lower levels of TC, TG and LDL-C in serum, lower levels of TC in liver, less *Escherichia coli*, higher levels of TC in feces, more *Bifidobacterium* and more *Lactobacillus* ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** *Lactobacillus plantarum* JX025073.1 can effectively regulate the blood lipid and intestinal flora of mice fed with high fat diet.

**Keywords:** *Lactobacillus plantarum*; high fat diet; intestinal flora; dyslipidemia

**DOI:** 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2021.09.007

**基金项目:** 杭州医学院创新创业项目

**作者简介:** 张泽鹏, 本科在读

**通信作者:** 裘迪红, E-mail: 371515334@qq.com

植物乳杆菌可生存于乳制品、肉制品及蔬菜发酵制品中,被认为是新一代益生菌,广泛应用于食品和保健品中<sup>[1]</sup>。植物乳杆菌 JX025073.1 是一种从泡菜中分离出的产蛋白酶乳杆菌,具有降胆固醇能力。有研究表明,肠道菌群与血脂关系密切,乳酸杆菌和双歧杆菌均与胆固醇代谢有直接关系<sup>[2-4]</sup>。正常肠道菌群具有调节人体免疫、改善肝功能和营养等作用,但肠道菌群失调会导致脂质代谢紊乱;益生菌可通过调节肠道菌群平衡改善血脂异常,预防和控制高脂血症<sup>[5]</sup>。本实验给予高脂饮食诱发的血脂异常小鼠植物乳杆菌 JX025073.1 灌胃,观察小鼠血脂指标及主要肠道菌的变化情况,为益生菌用于高脂血症人群营养干预提供依据。

## 1 材料与方法

**1.1 材料与仪器** 日立 7020 全自动生化分析仪(上海曼普生物科技有限公司); PL4002 电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; H-205R 台式高速冷冻离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司); QHZ-12A 组合式恒温震荡培养箱(上海泸西分析仪器厂有限公司); HWS 恒温恒湿培养箱(宁波江南仪器厂); LDZX-50KB 立式高压灭菌锅(上海申安医疗器械厂); DK-8D 型电热恒温水浴锅(上海-恒温科技有限公司)。总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)测定试剂盒(德赛诊断系统有限公司); 甲醇、氯仿为分析纯; LBS, BBS、EMB 培养基(航景生物科技有限公司); 植物乳杆菌 JX025073.1, 实验室分离, 菌种专利保藏号 CGMCC20190。

**1.2 实验动物** ICR 清洁级雄性小鼠, 生产许可证号 SCXK(浙)2019-0002, 由杭州医学院实验动物中心提供, 6 周龄, 体重 18~20 g, 实验动物处于屏障环境中, 温度 20~24 ℃, 相对湿度 40%~70%, 实验前适应饲养 4 d, 使用许可证号 SCXK(浙)2019-0011。实验动物饲料由浙江省实验动物中心提供, 执行 GB 14924.1—2001《实验动物配合饲料通用质量标准》。基础饲料配方: 20% 面粉、10% 米粉、20% 玉米、25% 麸皮、20% 豆料、2% 骨粉和鱼粉; 高脂饲料配方: 83.8% 基础饲料、1% 胆固醇、10% 猪油、0.2% 牛胆盐和 5% 蛋黄。

### 1.3 方法

**1.3.1 发酵液制备** 将保存的植物乳杆菌 JX025073.1 菌种活化, 活化的菌液加入牛乳培养基, 牛乳培养基与活化菌液的体积比为 1:0.04, 40 ℃培

养至菌体浓度为  $10^8 \sim 10^9$  CFU/mL 的发酵液。

**1.3.2 分组与处理** 小鼠自由饮水, 喂基础饲料 4 d 后, 随机纳入对照组、模型组和干预组, 每组 10 只。对照组喂基础饲料, 模型组和干预组喂高脂饲料。干预组每天用 0.4 mL 植物乳杆菌 JX025073.1 发酵液灌胃, 对照组和模型组用 0.4 mL 生理盐水灌胃。

**1.3.3 测量体重和脏器重量** 小鼠饲养期间, 每天定时用天平称量摄食量, 每周称一次体重。末次灌胃 24 h 后, 摘取心、肝、脾和肾, 生理盐水冲洗, 滤纸吸干后称重。各脏器重量与小鼠实验第 42 天体重的比值为脏器指数。

**1.3.4 测定血清 TC、TG 和 LDL-C 含量** 42 d 后小鼠禁食 12 h, 眼眶静脉丛采血, 4 ℃冰箱静置 3 h,  $3\ 000\times g$  低速离心 15 min, 取血清, 按试剂盒说明书步骤, 采用日立 7020 全自动生化分析仪测定 TC、TG 和 LDL-C 含量。

**1.3.5 测定肝 TC 和 TG 含量** 取小鼠 0.5 g 肝加入 5 mL 甲醇和氯仿的混合液(甲醇与氯仿体积比为 2:1)研磨, 收集至带刻度的试管中, 再用甲醇和氯仿的混合液定容至 10 mL, 45 ℃水浴 1 h 后,  $8\ 000\times g$  离心 10 min, 取 30  $\mu$ L, 按试剂盒说明书步骤, 采用日立 7020 全自动生化分析仪测定 TC 和 TG 含量。

**1.3.6 测定粪便 TC 和 TG 含量** 取 0.3 g 研磨成粉末的小鼠粪便于试管中, 用甲醇和氯仿的混合液定容至 3 mL, 45 ℃水浴 1 h 后离心,  $8\ 000\times g$  离心 10 min, 取 25  $\mu$ L, 按试剂盒说明书步骤, 采用日立 7020 全自动生化分析仪测定 TC 和 TG 含量。

**1.3.7 测定粪便中细菌数量** 小鼠饲养 40 d, 无菌采集小鼠粪便, 按 10 的倍数稀释, 取  $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$  三个稀释度倒平皿, 分别用 BBS、LBS 培养基厌氧 37 ℃培养 48 h, 对双歧杆菌和乳杆菌进行活菌计数; 取  $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$  三个稀释度倒平皿, 用 EMB 培养基 37 ℃培养 48 h, 对大肠杆菌进行活菌计数。

**1.4 统计分析** 采用 SPSS 23.0 软件统计分析。定量资料服从正态分布, 采用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )描述, 组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

**2.1 3 组小鼠体重和脏器指数比较** 饲养 42 d 后, 各组小鼠体重差异有统计学意义( $P<0.05$ )。两两比

较结果显示,模型组小鼠体重高于对照组和干预组(均  $P < 0.05$ );干预组与对照组小鼠体重差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。各组小鼠心、肝、肾和脾的脏器指数差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 1。

表 1 3组小鼠体重和脏器指数比较 ( $n=10$ )

组别	体重 (g)		脏器指数 (%)			
	实验前	饲养42 d	心	肝	肾	脾
对照组	23.31±0.31	30.82±0.63	0.44±0.03	4.34±0.41	1.58±0.10	0.26±0.03
模型组	23.55±0.24	34.22±0.60 <sup>a</sup>	0.45±0.05	4.35±0.50	1.59±0.28	0.31±0.09
干预组	23.63±0.18	31.83±0.62 <sup>b</sup>	0.45±0.05	4.36±0.21	1.50±0.07	0.32±0.03
F值	6.539		2.818	2.394	3.192	2.747
P值	0.007		0.099	0.133	0.077	0.104

注: a表示与对照组比较  $P < 0.05$ ; b表示与模型组比较  $P < 0.05$ 。

2.2 3组小鼠血清 TC、TG 和 LDL-C 含量比较 3组小鼠血清 TC、TG 和 LDL-C 含量差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。两两比较结果显示,模型组小鼠血清 TC、TG 和 LDL-C 含量均高于对照组 ( $P < 0.05$ );干预组小鼠血清 TC 和 LDL-C 含量高于对照组 ( $P < 0.05$ ),TG 含量与对照组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ );干预组小鼠血清 TC、TG 和 LDL-C 含量均低于模型组 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 3组小鼠血清 TC、TG 和 LDL-C 含量比较 ( $n=10$ , mmol/L)

组别	血清TC	血清TG	血清LDL-C
对照组	2.55±0.30	0.67±0.10	0.26±0.06
模型组	4.47±0.24 <sup>a</sup>	1.31±0.19 <sup>a</sup>	0.60±0.12 <sup>a</sup>
干预组	3.71±0.30 <sup>ab</sup>	0.69±0.12 <sup>b</sup>	0.46±0.10 <sup>ab</sup>
F值	92.546	28.082	45.682
P值	<0.001	<0.001	<0.001

注: a表示与对照组比较  $P < 0.05$ ; b表示与模型组比较  $P < 0.05$ 。

2.3 3组小鼠肝和粪便 TC、TG 含量比较 3组小鼠肝和粪便 TC、TG 含量差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。两两比较结果显示,模型组和干预组小鼠肝 TC、TG 含量均高于对照组 ( $P < 0.05$ );干预组小鼠肝 TC 含量低于模型组 ( $P < 0.05$ ),TG 含量与模型组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ );模型组小鼠粪便 TC、TG 含量高于对照组 ( $P < 0.05$ );干预组小鼠粪便 TC 含量高于模型组 ( $P < 0.05$ ),TG 含量与模型组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 3。

2.4 3组小鼠主要肠道细菌数量比较 3组小鼠粪

便中双歧杆菌、乳杆菌和大肠杆菌数量差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ );两两比较结果显示,模型组小鼠双歧杆菌、乳杆菌数量少于对照组,大肠杆菌数量多于对照组 ( $P < 0.05$ );干预组小鼠双歧杆菌和大肠杆菌数量多于对照组 ( $P < 0.05$ ),乳杆菌数量与对照组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ );干预组小鼠双歧杆菌、乳杆菌数量多于模型组 ( $P < 0.05$ ),大肠杆菌数量少于模型组 ( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 3 3组小鼠肝和粪便 TC、TG 含量比较 ( $n=10$ , mg/L)

组别	肝TC	肝TG	粪便TC	粪便TG
对照组	2.69±0.32	11.72±2.07	1.98±0.69	1.53±0.97
模型组	12.76±1.82 <sup>a</sup>	21.28±7.56 <sup>a</sup>	11.50±1.29 <sup>a</sup>	2.85±0.35 <sup>a</sup>
干预组	8.40±2.36 <sup>ab</sup>	13.35±4.64 <sup>b</sup>	14.91±2.93 <sup>ab</sup>	2.12±0.58
F值	20.227	4.882	150.810	4.672
P值	<0.001	0.028	<0.001	0.032

注: a表示与对照组比较  $P < 0.05$ ; b表示与模型组比较  $P < 0.05$ 。

表 4 3组小鼠主要肠道细菌数量比较 ( $n=10$ , lg CFU/g)

组别	双歧杆菌	乳杆菌	大肠杆菌
对照组	7.45±0.30	8.12±0.53	1.12±0.65
模型组	6.67±0.57 <sup>a</sup>	7.09±0.67 <sup>a</sup>	4.64±0.54 <sup>a</sup>
干预组	7.84±0.37 <sup>ab</sup>	8.04±0.07 <sup>b</sup>	2.24±0.54 <sup>ab</sup>
F值	32.271	326.973	354.549
P值	<0.001	<0.001	<0.001

注: a表示与对照组比较  $P < 0.05$ ; b表示与模型组比较  $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

实验结果显示,高脂饮食使小鼠体重增加,血清 TC、TG 和 LDL-C 含量升高,而用植物乳杆菌 JX025073.1 灌胃的小鼠体重和血清 TC、TG 和 LDL-C 含量均有所下降,与于平等<sup>[6]</sup>研究结果一致。高脂饮食使小鼠体内积累大量脂肪,过量的胆固醇在转运蛋白作用下穿过肠上皮细胞的刷状缘进入肠上皮细胞,继而进入小肠间质液,流入血液;高脂饮食同时促进胆汁分泌,脂肪的水解产物有利于形成混合微胶粒,并促进 TC 形成乳糜微粒和 TG 转运入血,使血清 TC 和 TG 含量增加。高脂饮食还能使小鼠相关基因表达发生变化,导致血脂水平异常。有研究发现,高脂饮食小鼠的低密度脂蛋白 (LDL) 受体基因表达水平显著降低,使血清 LDL-C 水平升高<sup>[7]</sup>。LDL 受体广泛分布于肝细胞表面,通过转录调节机制控制 LDL-C 水平。另一项研究也发现,胆固醇调节元件结合蛋白在高脂饮食中受到抑制,它是一种表达调控

胆固醇摄入和排出平衡的基因<sup>[8]</sup>。益生菌可通过调节 LDL 受体基因、胆固醇调节元件结合蛋白基因的表达,增加机体对胆固醇水平的调节能力,降低血清 TC 含量<sup>[9]</sup>。

高脂饮食使羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶 (HMG-CoA) 活性增加,从而使 TC 合成增加,同时过多的外源 TC 积累在肝脏中不能及时转化成胆汁酸排出体外,使肝脏中 TC 增加。大量肝脏中合成的脂肪不能形成极低密度脂蛋白分泌入血,使肝脏 TG 增加。益生菌能通过胆盐水解酶的共沉淀作用使胆固醇和游离胆酸一起被排出体外;还能使胆固醇合成酶活性降低,抑制内源性胆固醇的合成,使体内胆固醇含量下降<sup>[10-11]</sup>。本实验结果显示,干预组小鼠肝 TC 含量明显低于模型组,而粪便 TC 含量明显高于模型组,与相关研究结果<sup>[12-13]</sup>一致,提示植物乳杆菌 JX025073.1 可以减少肝脏中 TG、TC 的积累,部分 TC 通过粪便排出体外。

正常的肠道菌群通过产生胆固醇氧化酶,抑制肝脏脂肪合成酶活性,调节胆固醇在血与肝脏中再分配,发挥调节血脂作用。高脂饮食造成肠道内养料来源减少,改变氧化还原状态,破坏菌群赖以生存的微环境,使有益菌减少,有害菌增加,破坏肠道菌群平衡<sup>[14-15]</sup>,导致血脂异常。本实验中,模型组小鼠粪便中的双歧杆菌、乳杆菌数量比对照组少,大肠杆菌数量比对照组多;干预组双歧杆菌、乳杆菌数量比模型组多,大肠杆菌数量比模型组少。这与张娟等<sup>[16]</sup>研究结果一致,表明植物乳杆菌 JX025073.1 具有调节肠道菌群平衡的作用。

综上所述,植物乳杆菌 JX025073.1 有效改善了高脂饮食小鼠脂代谢和肠道菌群结构紊乱。喂养期间,小鼠毛色均光洁,食欲正常,未出现异常体征,未发生自然死亡,说明植物乳杆菌 JX025073.1 对小鼠无毒副作用,值得进一步研究与应用。

#### 参考文献

[1] 裘迪红,黄丽华,陈哲科,等.植物乳杆菌发酵乳对小鼠降胆

固醇作用[J].食品工业科技,2018,39(15):313-316.

- [2] PHIMISTER E G, LYNCH S V, PEDERSEN O. The human intestinal microbiome in health and disease [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375 (24): 2369-2379.
- [3] 杨凤啸,卢敏莹.高脂饮食诱发小鼠肥胖及其对肠道菌群结构影响的研究[J].现代医院,2017,17(6):863-866.
- [4] 马宁,刘希望,孔晓军,等.长期饲喂高脂饲料对大鼠血脂、肝及肠道菌群的影响[J].畜牧兽医学报,2017,48(7):1271-1280.
- [5] LIANG X, ZHANG Z, ZHOU X H, et al. Probiotics improved hyperlipidemia in mice induced by a high cholesterol diet via down-regulating FXR [J]. *Food Funct*, 2020, 11 (11): 9903-9911.
- [6] 于平,汪晓辉.植物乳杆菌对大鼠体内血清胆固醇含量的影响[J].中国食品学报,2016,16(8):45-52.
- [7] GOLDSTEIN J L, BROWN M S. The LDL receptor [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29 (4): 431-438.
- [8] WONG J, QUINN C, BROWN A. SREBP-2 positively regulates transcription of the cholesterol efflux gene, ABCA1, by generating oxysterol ligands for LXR [J]. *Biochem J*, 2006, 400 (3): 485-491.
- [9] MA J, ZHOU Q, LI H. Gut microbiota and nonalcoholic fatty liver disease: insights on mechanisms and therapy [J/OL]. *Nutrients*, 2017, 9 (2017-10-16) [2021-05-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5691740>. DOI: 10.3390/nu9101124.
- [10] 黄燕燕,郭均,黎恒希,等.降胆固醇乳酸菌的体外筛选及其降胆固醇机理探讨[J].食品科学,2018,39(6):88-94.
- [11] TAHRI K, GRILL J P, SCHNEIDER F. Bifidobacteria strain behavior toward cholesterol: coprecipitation with bile salts and assimilation [J]. *Curr Microbiol*, 1996, 33 (3): 187-193.
- [12] 靳姐,于上富,李柏良,等.植物乳杆菌 KLDS 1.0386 对 C57BL/6 小鼠胆固醇代谢的影响[J].食品工业科技,2017,38(23):275-279.
- [13] 郭均,黄燕燕,刘冬梅,等.植物乳杆菌 DMDL9010 制剂调控 SD 大鼠脂质水平的研究[J].食品工业科技,2018,39(8):285-290.
- [14] 何旭云,贺姣姣,郑宁宁,等.黄芪多糖对肥胖小鼠的减肥作用与调节肠道菌群的关系研究[J].世界中医药,2016,11(11):2379-2384.
- [15] 朱俊瑶,郑佳琦,黄慧君,等.高脂饮食引起小鼠皮下脂肪组织形态和功能异常的机制研究[J].预防医学,2019,31(12):1254-1257.
- [16] 张娟,石超,王丽娜,等.一株植物乳杆菌 Lp3 对高脂模型大鼠的益生作用[J].微生物学报,2017,57(10):1481-1492.

收稿日期:2021-02-07 修回日期:2021-05-23 本文编辑:田田