

植物乳杆菌R-15对高脂饮食下小鼠体质量及血脂的影响研究

甘 涛, 曹海鹏*, 杨良恒, 袁雨雨, 姬邓红, 黄作芳, 辛健康

贵州师范大学生命科学学院, 贵州 贵阳

收稿日期: 2022年6月24日; 录用日期: 2022年8月3日; 发布日期: 2022年8月15日

摘 要

为研究植物乳杆菌R-15对高脂饮食小鼠体质量及血脂的影响, 将40只成年洁净级雄性昆明小鼠随机分为普通组、高脂组、R-15-7d组和R-15-35d组等四组, 其中普通组施喂基础饲料, 高脂组施喂高脂饲料, R-15-7d组和R-15-35d组(施喂高脂饲料和R-15菌悬液), 检测小鼠体质量、脏器指数、血脂和血糖。结果显示: R-15-35d组在采食量相近的情况下, 小鼠体质量增长最为缓慢($P < 0.05$)。R-15对肝脏和肾脏指数影响较小($P > 0.05$), 但可改善高脂饮食造成的脾脏指数增加($P < 0.05$); 能显著抑制高脂饮食下小鼠血清总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇的升高($P < 0.05$), 并降低小鼠动脉粥样硬化指数($P < 0.05$); 对小鼠血糖有一定抑制作用, 但差异不明显($P > 0.05$)。

关键词

植物乳杆菌, 血脂, 体质量, 胆固醇, 高脂饮食

The Effect of *Lactobacillus plantarum* R-15 on Body Weight and Blood Lipids of Mice with High-Fat Diet

Tao Gan, Haipeng Cao*, Liangheng Yang, Yuyu Yuan, Denghong Ji, Zuofang Huang, Jiankang Xin

College of Life Sciences, Guizhou Normal University, Guiyang Guizhou

Received: Jun. 24th, 2022; accepted: Aug. 3rd, 2022; published: Aug. 15th, 2022

Abstract

In order to study the effect of *Lactobacillus plantarum* R-15 on body weight and serum lipids of mice with high-fat diet, 40 adult clean grade male Kunming mice were randomly divided into four groups: control group, high-fat group, R-15-7d group and R-15-35d group. The control group was fed with basic feed, the high-fat group was fed with high-fat feed, the R-15-7d group and R-15-35d group (fed with high-fat feed and R-15 bacterial suspension). Body weight, organ index, blood lipids and blood glucose were detected. The results showed: R-15-35d group had the slowest body weight gain under similar intake conditions ($P < 0.05$). R-15 had little effect on liver and kidney index ($P > 0.05$), but could improve the increase of spleen index caused by high-fat diet ($P < 0.05$); it could significantly inhibit the increase of total cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol in the serum of mice with high-fat diet ($P < 0.05$), and reduce the atherosclerosis index of mice ($P < 0.05$); it had a certain inhibitory effect on mouse blood glucose, but the difference was not significant ($P > 0.05$).

*通讯作者。

文章引用: 甘涛, 曹海鹏, 杨良恒, 袁雨雨, 姬邓红, 黄作芳, 辛健康. 植物乳杆菌 R-15 对高脂饮食下小鼠体质量及血脂的影响研究[J]. 食品与营养科学, 2022, 11(3): 201-210. DOI: 10.12677/hjfn.2022.113024

mice fed with high-fat, forty clean grade adult male Kunming mice were equivalently divided into four groups randomly, named normal group, high-fat group, R-15-7d group, and R-15-35d group individually. Among of them, mice of normal group were fed with basic feed, high-fat group were fed with high-fat feed, R-15-7d group and R-15-35d group were fed with high-fat feed and suspension of strain R-15. Finally, the body mass, organ index, blood lipids and glucose levels of mice in each group were measured. The results indicate that the body mass of mice in R-15-35d group increased most slowly under the condition of similar feed intake with other groups ($P < 0.05$). The strain R-15 had little effect on liver and kidney index ($P > 0.05$), but it could improve the increase of spleen index caused by high-fat diet ($P < 0.05$), and significantly inhibit the increase of serum total cholesterol and low density lipoprotein cholesterol in mice under high-fat diet ($P < 0.05$), and reduce the atherosclerosis index of mice ($P < 0.05$), had a certain inhibitory effect on blood glucose in mice, but the difference is not obvious ($P > 0.05$).

Keywords

Lactobacillus plantarum, Blood Lipids, Body Mass, Cholesterol, High-Fat Diet

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

随着社会生活水平的提高,因营养过剩导致的心血管疾病和肥胖严重危害人类健康[1][2]。其中,心血管疾病在全球每年因其造成的死亡人数约占29%,其死亡人数超过所有癌症的总和,更是我国居民死亡的首要原因[2][3]。血清胆固醇过高是引起心血管疾病的首要因素,而我国成年人高胆固醇血症患者高达8.2%[4][5]。据报道,胆固醇水平每高出正常水平1 mmol/L,则心血管疾病的风险便约增加35%,每降低1%,则心血管疾病发病率减少2%~3%[5]。传统降血清胆固醇的方法是服用他汀类、依泽替米贝和胆汁酸螯合剂等药物,抑制胆固醇的吸收与合成[6][7][8]。但是这些药物昂贵,加重病人经济负担,并会造成横纹肌溶解、肾功能受损及潮红等无法逆转的副作用[9][10][11]。2013~2016年间,全球45.4%以上的成年人存在超重或肥胖问题,其中肥胖症患者更是高达6.5亿人,且占比在逐年上升[12]。肥胖易诱发心血管疾病、II型糖尿病、非酒精性脂肪肝、乳腺癌和肝癌等,并造成患者易衰老、抑郁和焦虑等,严重危害人类健康[1][13]。传统药物治疗具有一定减肥效果,但同时具有易造成患者代谢紊乱、维生素吸收减少、腹泻、低血压、嗜睡和乏力等问题[1]。因此,寻找新的、安全有效的药物替代品具有重要意义。

大量研究表明,部分乳酸菌可以有效改善机体脂代谢,降低血清胆固醇水平,并具有抗肥胖功效。研究人员陆续从健康人的粪便、发酵乳制品、泡菜和健康动物肠道等中分离出多种具有降胆固醇和抗肥胖功能的乳酸菌,主要包括植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)、发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*)、嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)、干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*)、罗伊氏乳杆菌(*Lactobacillus reuteri*)、双歧杆菌(*Bifidobacterium*)粪肠球菌(*Enterococcus faecium*)等[1][3][6][8][14]-[24]。其中,关于降胆固醇、抗肥胖研究最多的乳酸菌种类是植物乳杆菌[1][3][4][8][19][24]-[39]。植物乳杆菌降胆固醇机制比较多,主要是通过胆盐共沉淀、菌体吸附和同化、促进胆固醇分解代谢和抑制胆固醇合成代谢等途径。植物乳杆菌还可以通过改善肠道菌群结构,调节脂代谢路径相关基因,促进短链脂肪酸排出,抑制脂肪的吸收等机制,抑制试验对象体重的增加,具有一定的抗肥胖功效[1][21]。陆倩倩(2019)、朱婕旭等(2020)和王苗等(2021)研究发现试验植物乳杆菌菌株能同时抑制高脂饮食诱导下小鼠血清降胆固醇

的升高和体质量的增加,具有双重功效[24] [26] [27]。姚泽晨(2019)和赵茂臻等(2021)则称试验植物乳杆菌菌株只能抑制试验对象体质量的增长,对血清胆固醇水平影响不大[19] [20]。杨动听(2021)研究称,试验植物乳杆菌菌株只能降低高脂试验小鼠的血清胆固醇,对小鼠采食量和体重没有影响[4]。和以上研究表明,不同的植物乳杆菌菌株对试验对象的体质量和血清胆固醇水平影响不同。对于具体的植物乳杆菌菌株开发时,有必要对作用特征进行研究。

本研究前期从猪肠道黏膜内容物中筛选出一株具有强吸附胆固醇能力的植物乳杆菌 R-15,该菌株样品能在 4 h 内将溶液中胆固醇降低 70%以上,且菌株具有较强的耐酸、耐胆盐和耐模拟胃肠液的益生特性,具有一定的研究价值[39]。为进一步弄清 R-15 的体内降胆固醇和抗肥胖效果,本研究拟以其为出发菌株,以雄性成年昆明小鼠为研究对象,研究该菌株在高脂饲料喂养条件对小鼠体质量、脏器指数、血糖及血脂的影响,评价其在降胆固醇、抗肥胖应用中的潜力,为其产品开发提供数据支持。

2. 材料与amp;方法

2.1. 材料、试剂与培养基

菌株:植物乳杆菌 R-15 (-80℃保存),本实验室保存,菌株编号为 CCTCC: M2018010 [39]。

试验动物:40 只六周龄洁净级成年雄性昆明小鼠(初始体重约 23 ± 2.1 g/只),购自重庆腾鑫比尔试验动物销售有限公司,许可证号:SCXK(渝)2007-0003。

基础饲料:能量类谷物 60% (玉米、小麦、苜蓿草和碎米),蛋白类原料 33% (鱼粉、鸡肉粉和豆粕),油脂类 3% (豆油和葵花籽油),其它 4% (氨基酸、维生素和矿物质),购自江苏省协同医药生物工程有限公司。高脂饲料:基础饲料 88.8%,猪油 10%,胆固醇 1%,胆盐 0.2%,混匀造粒。洁净木屑垫料:购自重庆腾鑫比尔试验动物销售有限公司。

试剂盒:总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)及血糖检测试剂盒均购自韩国五常医疗保健有限公司。

MRS 液体培养基[39]:蛋白胨 10.0 g,牛肉膏 3 g,吐温 80 1.0 mL,葡萄糖 20.0 g,柠檬酸氢二铵 2.0 g,乙酸钠 5.0 g,磷酸氢二钾 2.0 g,七水硫酸镁 0.58 g,硫酸锰 0.25 g,蒸馏水 1000 mL, pH 6.2~6.6, 121℃高压灭菌 20 min。

2.2. 仪器与设备

JA1003 电子天平:力辰科技有限公司;DH6000B 电热恒温培养箱:天津市泰斯特仪器有限公司;XMTA-7000 智能恒温干燥箱:上海景迈仪器设备有限公司;THZ-82A 双数显旋转气浴震荡器:金坛市城东新瑞仪器厂;TGL-16A 高速离心机:金坛市城东新瑞仪器厂;SW-CJ-1G 单人净化工作台:上海苏净净化工作台;HVE-50 高压蒸汽灭菌锅:日本 HIRAYAMA 公司;721 可见分光光度计:上海佑科仪器仪表有限公司;LipidPro 血脂与血糖检测仪:民康医疗科技(天津)有限公司。

2.3. 方法

2.3.1. 植物乳杆菌 R-15 菌种活化

取-80℃冰冻保存的植物乳杆菌 R-15 甘油种子,划线接种于 MRS 固体平板中,37℃下培养 48 h。挑取单菌落接于配置好的 MRS 斜面,37℃过夜培养。

2.3.2. 菌悬液制备

挑取活化好的斜面菌种接种于 10 mL 液体 MRS 培养基中,37℃、150 rpm 培养 24 h 制备液体种子。取 1%液体种子转接于 100 mL MRS 液体培养基,37℃、150 rpm 培养 12 h 收获菌液。将菌液离心 2 min

(8000 rpm), 弃上清液, 沉淀使用生理盐水洗涤 3 次。最后采用梯度稀释、平板涂布培养的方法, 检测活性菌体数量, 并使用生理盐水将菌液稀释至 1.0×10^9 CFU/mL, 置于 4℃ 保藏备用。

2.3.3. 小鼠分组及处理

将 40 只昆明小鼠置于动物房饲养。动物房保持通风、清洁卫生, 室温(12.0~25.0)℃, 相对湿度(60~70)%。试验前小鼠自由采食与饮水, 适应性饲养 1 w 以平衡体内各项指标。而后将小鼠随机分成四组(10 只/组), 分别为正常组、高脂组、R-15-7 组和 R-15-35 组, 饲养 5 w。具体饲养与乳酸菌灌胃方式见表 1, 试验期间, 保证小鼠自由采食、饮水, 定期更换垫料, 保持鼠笼内干燥、清洁。每周记录小鼠的体质量、采食量。

Table 1. Experimental grouping and gavage treatments

表 1. 试验分组及灌胃方式

组别	饲料	灌胃方式
对照组	基础饲料 + 无菌水	生理盐水 20 μL/只/d
高脂组	高脂饲料 + 无菌水	生理盐水 20 μL/只/d
R15-7 组	高脂饲料 + 无菌水	稀释菌悬液 20 μL/只/d, 连续 7 d, 而后改为生理盐水 20 μL/只/d
R15-35 组	高脂饲料 + 无菌水	稀释菌悬液 20 μL/只/d

2.3.4. 小鼠的体重变化与采食量、饲料利用率

实验期间, 各组小鼠饲养 5 周, 每周记录小鼠的体重、采食量及剩余饲料量, 计算小鼠的日均增重量和饲料利用率。其中, 日均增重量按公式(1)计算, 饲料利用率按公式(2)计算。

$$\text{日均增重(g/d)} = \frac{\text{终了小鼠均重(g)} - \text{起始小鼠均重(g)}}{\text{饲养时间(d)}} \quad (1)$$

$$\text{饲料利用率(\%)} = \frac{\text{终了体重(g)} - \text{起始体重(g)}}{\text{采食量(g)}} \times 100\% \quad (2)$$

2.3.5. 血糖和血脂四项检测

小鼠饲料 5 周后, 称量体重后禁食 12 h, 摘除眼球取血, 并脱臼处死。其中, 取少量血液直接用血糖检测仪检测血糖, 余下血液置 4℃、5000 rpm 离心 10 min, 收集上层血清, 取 300 μL 血清用血脂检测仪测定血清 TC、HDL-C、LDL-C 和 TG 浓度, 并按式(3)计算动脉粥样硬化指数(atherosclerosis index, AI)。

$$\text{AI} = \frac{\text{TC(mg/L)} - \text{HDL-C(mg/L)}}{\text{HDL-C(mg/L)}} \quad (3)$$

2.3.6. 脏器指数测定

取 1.3.5 中处理的小鼠, 解剖后取肝脏、脾脏、肾脏和心脏, 用冷的生理盐水冲洗干净后用滤纸吸干水分, 分别称质量, 按式(4)计算脏器指数。

$$\text{脏器指数(mg/g)} = \frac{\text{脏器质量(mg)}}{\text{体质量(g)}} \quad (4)$$

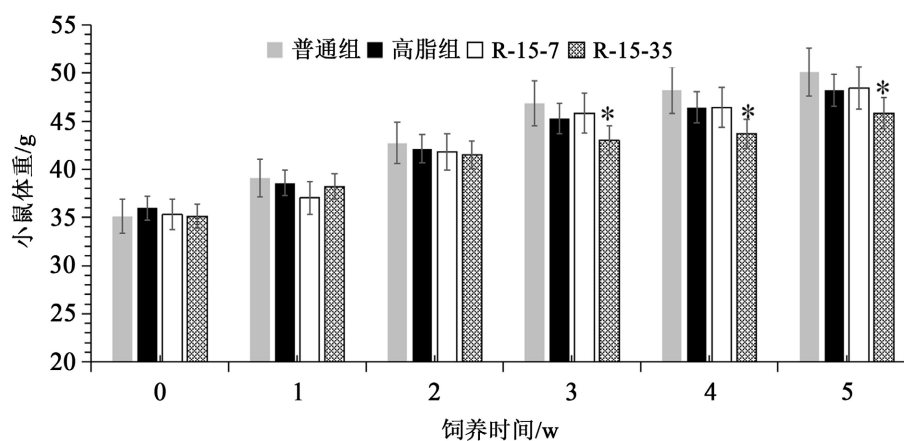
2.3.7. 数据分析

以上数据采用 Excel 2017 文档进行分析、处理与制图。SPSS 19.0 统计软件进行单因素方差分析显著性差异, $P < 0.05$ 时表示差异显著。

3. 结果与分析

3.1. 小鼠体重随时间的变化

经过连续 5 w 饲养, 各组小鼠均重变化如图 1。由图所示, 各组小鼠均重在区别饲喂前(0 w)基本一致, 说明小鼠分组差异性小。第 1 周后普通组小鼠体重增长明显快于其它组, 且在各时间点均维持最高, 这与朱婕旭等(2020)、王苗等(2021)研究结果明显不一致, 可能与所用基础饲料营养成份过高有关, 本研究所用基础饲料含有 60%淀粉质原料和 33%的蛋白类原料[24] [26]。连续灌胃小鼠植物乳杆菌 R-15 1 周后, 小鼠体重开始低于普通组和高脂组, 说明 R-15 能够抑制小鼠体重的增长。但是停喂 R-15 之后, R-15-7 组小鼠体重迅速恢复增长, 至 3 周后与高脂组体重基本一致, 低于普通组而高于 R-15-35 组, 说明 R-15 对小鼠体重增长的抑制效应依赖于菌种的浓度和灌胃持续性, 也说明其在体内滞留或存活时间有限。3 周之后, R-15-35 组小鼠体重与其它几组差距变化较小, 这可能与本试验所用 R-15 菌液浓度过低或后期冷藏时活菌数大幅降低有关。大量试验表明, 乳酸菌抗肥胖效果与其灌胃的剂量呈正相关[26]。本试验 R-15 的饲喂量仅为 2.0×10^7 CFU/只/d, 为陆婧婧等(2019)设计剂量的 1/10 [27], 为王苗等设计最低剂量的 1/40、高剂量的 1/40 [26]。且试验结束后, 对剩余 R-15 菌悬液鉴定时, 发现其残留活菌数仅为 1.8×10^8 CFU/mL, 约为初始值的 18%。活菌数大幅减少可能是试验后期菌株-15 抗肥胖效果减弱的原因之一, 这也从侧面反应低剂量的 R-15 可以起到一定的抗肥胖效果。



*表示与高脂组相比, R-15-35 组体质量差异显著($P < 0.05$)。

Figure 1. The changes of mice body weight with time

图 1. 小鼠体重随时间变化结果

3.2. 小鼠体质量增加量、采食量和饲料利用率

饲喂试验结束后, 检测各组小鼠的平均体质量增加量、采食量和饲料利用率, 结果如表 2 所示。在体质量增加方面, 普通组小鼠的体质量增加量和采食量显著高于其他 3 组($P < 0.05$), 其中采食量更是比其它组至少高出 23.8%, 说明饲料中加入大量脂肪可以大幅降低小鼠的采食量。而朱婕旭等(2020)研究称普通组采食量仅比乳酸菌灌胃组高 9.7% [24]; 陆婧婧(2019)、颜旭等(2021)在研究植物乳杆菌抗肥胖效果时, 称试验各组小鼠采食量无明显区别[6] [27]; 郭晶晶等(2019)则报道称普通组采食量比高脂组和乳酸菌灌胃组都低[3]。这种差距可能与基础饲料中营养成分不同有关, 本研究所用基础饲料中含有 60%淀粉类原料、33%蛋白类原料及 3%油脂, 营养成份高于朱婕旭等(2020)和张静等(2021)所用基础饲料[22] [24]。在饲料利用率方面, R-15-35 组的饲料利用率显著低于其它 3 组, 尤其是低于高脂组和 R-15-7 组($P < 0.05$),

表明 R-15 可以在采食量相近的情况下,抑制小鼠对饲料的吸收和利用率,进而起到抗肥胖的功效,这一现象与朱婕旭等(2020)研究结果一致[24]。而郭晶晶等(2019)研究中,发现试验菌株抗肥胖的机制主要是抑制试验对象的采食量[3]。

Table 2. Body mass gain and feed intake per day, and feed utilization rates of each group
表 2. 各组小鼠体质增加量、日均采食量和饲料利用率

组别	体质增加量(g)	采食量(g)	饲料利用(%)
普通组	14.97 ± 1.92 ^a	299.95 ^a	4.99 ± 0.64 ^a
高脂组	12.24 ± 1.46 ^b	235.55 ^b	5.19 ± 0.62 ^a
R-15-7 组	13.13 ± 1.77 ^b	242.20 ^b	5.42 ± 0.73 ^b
R-15-35 组	10.70 ± 1.12 ^c	228.55 ^b	4.68 ± 0.49 ^c

注: 同列肩标小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。下同。

3.3. 小鼠的脏器指数

试验期间各组小鼠食欲、行为正常,毛色光洁,无异常死亡。解剖后称量小鼠肝脏、脾脏及肾脏等,并计算脏器指数,结果如表 3。R-15-35 组小鼠的肝脏指数和肾脏指数均略低于其它三组,但差异不显著($P > 0.05$);脾脏指数高于普通组($P < 0.05$),低于高脂组和 R-15-7 组($P < 0.05$)。说明植物乳杆菌 R-15 对小鼠肝脏和肾脏指数基本无影响,具有高度的安全性;三组高脂饲料组的脾脏指数均高于普通饲料组,可能与小鼠的饮食结构有关;而 R-15-35 的脾脏指数低于其它两组,表明连续灌胃 R-15 可以降低高脂饮食对小鼠脾脏指数的影响。

Table 3. Organ indexes of mice in each group
表 3. 各组小鼠脏器指数

组别	肝脏指数(mg/g)	脾脏指数(mg/g)	肾脏指数(mg/g)
普通组	46.18 ± 5.32 ^a	2.46 ± 0.31 ^a	18.17 ± 2.27 ^a
高脂组	45.29 ± 4.93 ^a	3.46 ± 0.44 ^b	17.50 ± 2.11 ^a
R-15-7 组	45.82 ± 5.22 ^a	3.83 ± 0.36 ^b	17.88 ± 2.72 ^a
R-15-35 组	44.89 ± 4.56 ^a	2.96 ± 0.33 ^c	17.22 ± 2.45 ^a

3.4. 血脂四项及血糖检测结果

饲喂 5 周后,对试验组小鼠摘除眼球取血,分别检测血清 TC、HDL-C、LDL-C、TG 及血糖,各指标结果如表 4。由表可知,普通组 TC、HDL-C 和 LDL-C 水平均显著低于高脂组($P < 0.05$),说明长期饲喂高脂饲料可以诱发小鼠形成高血脂症。R-15-35 组小鼠血清 TC 和 LDL-C 显著低于高脂组($P < 0.05$),表明植物乳杆菌 R-15 可以抑制高脂饮食诱导的高血脂症,与 Bosch *et al.* (2014) [28]、Lim *et al.* (2017) [29]、Aminlari *et al.* (2019) [32]、Yu *et al.* (2019) [31]、郭晶晶等(2019) [3]和王苗等(2021) [26]研究结果相似。但本研究试验菌株降 TG 效果较弱($P > 0.05$),这可能是本研究所用乳酸菌剂量较低所致(小鼠灌胃剂量为 2×10^7 CFU/只/d)。王苗等(2021)在对两株不同乳酸菌在不同剂量下对小鼠血脂影响研究时(高剂量约 4×10^9 CFU/只/d,低剂量约为 4×10^8 CFU/只/d),发现高剂量饲喂下小鼠的血清 TC、LDL-C 和 TG 水平均低于低剂量和高脂组[26]。Gan *et al.* (2020)同样研究发现,高剂量植物乳杆菌处理的小鼠血清 TC 和 LDL-C

均低于低剂量组[33]。结合本研究数据分析,植物乳杆菌 R-15 降血脂性能在剂量设计方面有一定的提升空间。此外,数据还显示普通组的血糖水平显著高于其它三组($P < 0.05$),这可能与普通组小鼠采食量显著高于其它组别(如 2.2 所示),及基础饲料中含有大量的淀粉质原料(约 60%)和脂肪(约 3%)等有关。R-15-35 组血糖水平略低于高脂组和 R-15-7 组,表明低剂量 R-15 可以抑制小鼠血糖升高,但效果不显著($P > 0.05$)。后期可以通过提高 R-15 的灌胃剂量,以进一步评价其在抑制小鼠体内血脂和血糖增加的效果。

Table 4. The level change of blood lipids and blood glucose in mice

表 4. 小鼠血脂和血糖指标变化

分组	TC/ (mg/L)	HDL-C/ (mg/L)	LDL-C/ (mg/L)	TG (mg/L)	血糖/ (mg/L)
普通组	100.42 ± 17.36 ^a	59.86 ± 7.82 ^a	47.83 ± 7.33 ^a	86.14 ± 15.32 ^a	162.68 ± 28.01 ^a
高脂组	124.30 ± 22.53 ^b	70.71 ± 10.82 ^b	56.25 ± 9.97 ^b	89.00 ± 21.06 ^a	123.07 ± 26.32 ^b
R-15-7 组	111.52 ± 21.32 ^a	67.33 ± 11.34 ^b	43.80 ± 9.19 ^a	81.33 ± 18.17 ^a	120.22 ± 21.99 ^b
R-15-35 组	105.65 ± 18.43 ^a	69.86 ± 12.57 ^b	37.14 ± 7.06 ^b	89.42 ± 20.09 ^a	112.58 ± 23.71 ^b

3.5. 动脉粥样硬化指数(AI)

按照式(3)计算各组小鼠 AI 值,结果如图 2 所示。R-15-35 的 AI 值显著低于其它组,尤其是低于高脂组($P < 0.05$),说明连续灌胃 R-15 可以改善高脂饮食引起的血脂症状。AI 值更多反应的是 LDL-C 与 HDL-C 之间的比例,一般 LDL-C 水平越高, AI 值越大,动脉粥样硬化的风险越高,并发症如冠心病、脑梗死、动脉硬化性闭塞症、动静脉血栓和动脉瘤等发生几率也越高[40] [41] [42]。连续灌胃 R-15 对 AI 值的显著影响,表明其在预防及治疗高脂饮食诱导的食心血管疾病中具有重要的研究和应用价值。

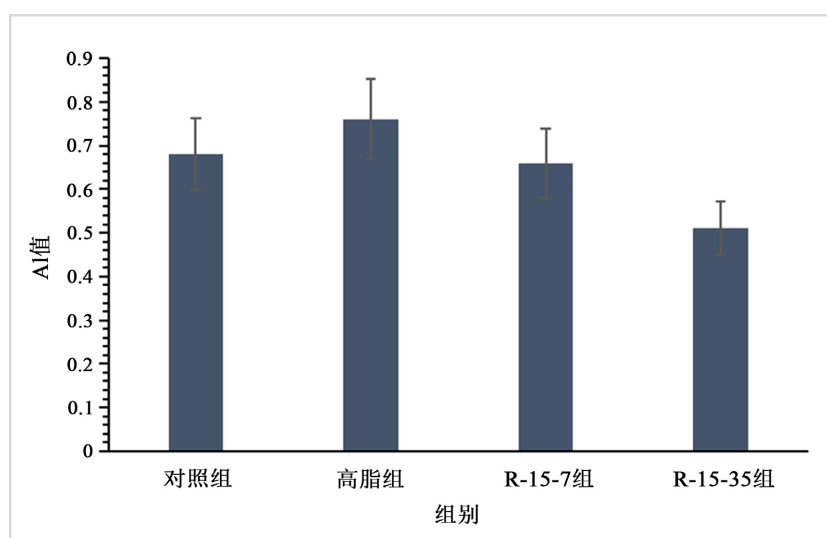


Figure 2. The AI value of mice in each group

图 2. 各组小鼠的 AI 值

4. 讨论

随着生活水平的提高,因营养过剩、饮食结构不合理或代谢紊乱导致的肥胖和高血脂类心血管疾病严重危害人类健康。常见的药物或手术治疗虽可以改善这一症状,但也会带来严重的副作用,并给患者

带来一定的经济和精神负担[1]。因此,寻找新的、安全有效的药物替代品非常有意义。近年,研究者发现部分乳酸菌具有降胆固醇和抗肥胖的功能,并开展了大量的研究工作,表明乳酸菌在降胆固醇和抗肥胖中具有重要的研究和应用价值[1][4]。

本研究前期从健康成年黔北黑猪的肠道黏膜内容物中分离筛选出一株具有强吸附胆固醇能力的乳酸菌,植物乳杆菌 R-15。该菌株具有较强的耐酸、耐胆盐和耐模拟胃肠液的能力,具备作为益生菌的潜力。本研究以该菌株为出发菌株,研究连续低剂量灌胃下其对高脂饮食的小鼠体重、采食量、脏器指数及体内血脂和血糖的影响。结果显示:连续灌胃情况下,植物乳杆菌 R-15 能够在不影响采食量的情况下抑制高脂饮食下的小鼠体质量增长,降低饲料利用,具有一定的抗肥胖能力;对小鼠脏器肝脏和肾脏指数基本无影响,并可改善因高脂饮食造成的脾脏指数变化,具有高度的安全性;降低高脂饮食小鼠血清 TC 和 LDL-C 的增量,并显著降低小鼠的 AI 指数;对高脂饮食小鼠血糖增长有一定抑制作用,但差异不显著。研究结果与陆婧婧等(2019)、郭晶晶等(2019)、刘尧尧等(2020)、Kim *et al.* (2017; 2018; 2020)、Jeung *et al.* (2019)、Choi *et al.* (2020)和 Huang *et al.* (2020)关于植物乳杆菌降胆固醇和抗肥胖特征基本一致[1][3][25][34][35][36][37][38],再次证实植物乳杆菌具有降胆固醇和抗肥胖的能力,为其产品开发进一步提供了数据支持。

但本实验仍有不足之处,如所用基础饲料中含有较高的淀粉质原料和脂肪,这可能是普通组小鼠体质增长量和血糖偏高的重要原因,需在后续试验中更换较低淀粉和脂肪含量的饲料;使用单一的低剂量乳酸菌悬液,不能充分反映植物乳杆菌 R-15 在降胆固醇和抗肥胖应用中的潜力,需在后续试验中进一步优化灌胃剂量;实验过程中没有适时检测 R-15 菌悬液的存活率,菌悬液在低温存放过程有较大的活力损失,不能准确反应该剂量下的试验效果,需在后续试验中适时检测活菌数,为实验提供精准的灌胃剂量。虽然如此,低剂量的植物乳杆菌 R-15 仍具有一定的降胆固醇和抗肥胖效果,表明菌株 R-15 具有重要的研究和应用价值。

5. 结论

在高脂饮食下,各组小鼠采食量相近,连续灌胃植物乳杆菌 R-15 显著显著抑制高脂饮食小鼠体质量增长($P < 0.05$),降低饲料利用率($P < 0.05$);R-15 对肝脏和肾脏指数影响较小($P > 0.05$),但可改善高脂饮食造成的脾脏指数增加($P < 0.05$);能显著抑制高脂饮食下小鼠血清总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇的升高($P < 0.05$),并降低小鼠动脉粥样硬化指数($P < 0.05$);对小鼠血糖有一定抑制作用,但差异不明显($P > 0.05$)。较高营养成分的基础饲料会显著降低高脂组小鼠的采食量($P < 0.05$),对肥胖模型组的构建有影响。

基金项目

贵州省自然科学基金(黔科合 J 字[2015]2119);贵州师范大学博士科研启动金(11904-0514013);研究方向为资源微生物学。

参考文献

- [1] 陆婧婧. 植物乳杆菌调节抑制高脂诱导小鼠肥胖的形成[D]: [硕士学位论文]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2019: 2-5.
- [2] 田建军, 张开屏, 李权威, 等. 乳酸菌调控胆固醇代谢的物质基础研究进展[J]. 食品科学, 2019, 40(19): 334-339.
- [3] 郭晶晶, 乌日娜, 安飞宇, 等. 植物乳杆菌 WW 对高脂血症大鼠体脂的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(9): 139-145.
- [4] 杨动听. 发酵乳杆菌 ZJUIDS06 与植物乳杆菌 ZY08 降胆固醇机制初探及其在 Monterey Jack 干酪中的应用[D]: [硕士学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2021: 1-7.
- [5] 郑佳, 何腊平, 陈翠翠, 等. 降胆固醇益生菌对马铃薯酸奶发酵的影响与品质分析[J]. 食品科学, 2020, 41(10): 145-151.

- [6] 颜旭, 王方杰, 吴祖芳. 乳酸菌发酵胡柚汁对小鼠肥胖的调节作用[J]. 食品科学, 2021(15): 167-173.
- [7] Pei, S.L., Loke, C.F., Yin, W.H., *et al.* (2020) Cholesterol Homeostasis Associated with Probiotic Supplementation *in Vivo*. *Journal of Applied Microbiology*, **129**, 1374-1388. <https://doi.org/10.1111/jam.14678>
- [8] Ding, Z., Hani, A., Li, W., *et al.* (2020) Influence of a Cholesterol-Lowering Strain *Lactobacillus plantarum* LP3 Isolated from Traditional Fermented Yak Milk on Gut Bacterial Microbiota and Metabolome of Rats Fed with a High-Fat Diet. *Food & Function*, **11**, 8342-8353. <https://doi.org/10.1039/D0FO01939A>
- [9] Bellosta, S. (2004) Safety of Statins: Focus on Clinical Pharmacokinetics and Drug Interactions. *Circulation*, **109**, III50-III70.
- [10] Tosteson, H. and Ridker, P.M. (2010) The Primary Prevention of Myocardial Infarction. *European Journal of Haematology*, **25**, 38-44.
- [11] Knopp, R.H. (1999) Drug Treatment of Lipid Disorders. *New England Journal of Medicine*, **341**, 498-511. <https://doi.org/10.1056/NEJM199908123410707>
- [12] Hsiao, Y.H., Wang, Y.H., Lin, W.S., *et al.* (2021) Molecular Mechanisms of the Anti-Obesity Properties of *Agardhiella subulata* in Mice Fed a High-Fat Diet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **69**, 4745-4754. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c01117>
- [13] An, M., Park, Y.H. and Lim, Y.H. (2021) Antiobesity and Antidiabetic Effects of the Dairy Bacterium *Propionibacterium freudenreichii* MJ2 in High-Fat Diet-Induced Obese Mice by Modulating Lipid Metabolism. *Scientific Reports*, **11**, 2481-2494. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82282-5>
- [14] Palaniyandi, S.A., Damodharan, K., Suh, J.W., *et al.* (2020) Probiotic Characterization of Cholesterol-Lowering *Lactobacillus fermentum* MJM60397. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, **12**, 1161-1172. <https://doi.org/10.1007/s12602-019-09585-y>
- [15] Klaver, F. and van der Meer, R. (1993) The Assumed Assimilation of Cholesterol by Lactobacilli and *Bifidobacterium bifidum* Is Due to Their Bile Salt-Deconjugating Activity. *Applied and Environmental Microbiology*, **59**, 1120-1124. <https://doi.org/10.1128/aem.59.4.1120-1124.1993>
- [16] Gilliland, S.E. and Speck, M.L. (1977) Deconjugation of Bile Acids by Intestinal Lactobacilli. *Applied and Environmental Microbiology*, **33**, 15-18. <https://doi.org/10.1128/aem.33.1.15-18.1977>
- [17] Rai, J.L., Vujii, I.F., Krinjar, M., *et al.* (1992) Assimilation of Cholesterol by Some Cultures of Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria. *Biotechnology Letters*, **14**, 39-44. <https://doi.org/10.1007/BF01030911>
- [18] Liong, M.T. and Shah, N.P. (2005) Bile Salt Deconjugation and BSH Activity of Five Bifidobacterial Strains and Their Cholesterol Co-Precipitating Properties. *Food Research International*, **38**, 135-142. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.08.003>
- [19] 姚泽晨. 植物乳杆菌微胶囊及其壁材对小鼠肥胖的预防作用[D]: [硕士学位论文]. 无锡: 江南大学, 2019: 1-5.
- [20] 赵茂臻, 梁曦, 张喆, 等. 植物乳杆菌 F3-2 联合甘露低聚糖通过上调短链脂肪酸水平抑制 PPAR γ 改善小鼠肥胖[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(23): 78-82.
- [21] 李杰. 降胆固醇乳酸菌的筛选及其对高脂模型大鼠的影响[D]: [硕士学位论文]. 太原: 山西大学, 2020: 3-13.
- [22] 张静, 仇伟, 黄月, 等. 植物乳杆菌 KFY02 发酵柠檬汁对高脂饮食小鼠肥胖的抑制作用及肠道菌群调节作用[J]. 食品工业科技, 2021, 42(24): 344-353.
- [23] 陈仪婷, 张红星, 谢远红, 等. 降胆固醇乳酸菌的筛选鉴定及其耐酸耐胆盐性能研究[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(5): 29-33.
- [24] 朱婕旭, 高利娥, 黄文康, 等. 两株乳酸菌对高脂模型大鼠的益生作用[J]. 食品科学, 2020, 41(1): 196-202.
- [25] 刘尧尧, 李璐, 柳婷婷, 等. 植物乳杆菌菌粉对肥胖大鼠肠道黏膜屏障功能的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(17): 153-160.
- [26] 王苗, 张保杰, 文佳嘉, 等. 两种乳酸杆菌对肥胖小鼠的干预作用[J]. 食品科学, 2021, 42(5): 152-159.
- [27] 陆婧婧, 宋月, 岳莹雪, 等. 两株植物乳杆菌联合抑制高脂诱导小鼠肥胖的形成[J]. 食品工业科技, 2019, 40(19): 286-290.
- [28] Bosch, M., Fuentes, M.C., Audivert, S., *et al.* (2014) *Lactobacillus plantarum* CECT 7527, 7528 and 7529: Probiotic Candidates to Reduce Cholesterol Levels. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **94**, 803-809. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6467>
- [29] Lim, F.T., Lim, S.M. and Ramasamy, K. (2017) *Pediococcus acidilactici* LAB4 and *Lactobacillus plantarum* LAB12 Assimilate Cholesterol and Modulate ABCA1, CD36, NPC1L1 and SCARB1 *in Vitro*. *Beneficial Microbes*, **8**, 97-109
- [30] Jeung, W.H., Nam, W., Kim, H.J., *et al.* (2019) Oral Administration of *Lactobacillus curvatus* HY7601 and *Lactobacillus plantarum* KY1032 with *Cinnamomi ramulus* Extract Reduces Diet-Induced Obesity and Modulates Gut Microbiota. *Preventive Nutrition and Food Science*, **24**, 136-143. <https://doi.org/10.3746/pnf.2019.24.2.136>

- [31] Yu, B.J., Lee, J. and Chang, H.C. (2019) Characterization of Juice Fermented with *Lactobacillus plantarum* EM and Its Cholesterol-Lowering Effects on Rats Fed a High-Fat and High Cholesterol Diet. *Food Science & Nutrition*, **7**, 3622-3634. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1217>
- [32] Aminlari, L., Shekarforoush, S.S., Hosseinzadeh, S., et al. (2019) Effect of Probiotics *Bacillus coagulans* and *Lactobacillus plantarum* on Lipid Profile and Feces Bacteria of Rats Fed Cholesterol-Enriched Diet. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, **11**, 1163-1171.
- [33] Gan, Y., Tang, M., Tan, F., et al. (2020) Anti-Obesity Effect of *Lactobacillus plantarum* CQPC01 by Modulating Lipid Metabolism in High-Fat Diet Induced C57BL/6 Mice. *Journal of Food Biochemistry*, **44**, 1-11. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13491>
- [34] Kim, S. and Lim, S.D. (2017) Physiological Characteristics and Anti-Obesity Effect of *Lactobacillus plantarum* K6 Isolated from Kimchi. *Journal of Milk Science and Biotechnology*, **35**, 221-231. <https://doi.org/10.22424/jmsb.2017.35.4.221>
- [35] Kim, S., Huang, E., Park, S., et al. (2018) Physiological Characteristics and Anti-Obesity Effect of *Lactobacillus plantarum* K10. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, **38**, 554-569.
- [36] Kim, S. and Lim, S.D. (2020) Physiological Characteristics and Anti-Obesity Effect of Milk Fermented by *Lactobacillus plantarum* K1134. *Journal of Dairy Science and Biotechnology*, **38**, 207-221. <https://doi.org/10.22424/jdsb.2020.38.4.207>
- [37] Choi, W.J., Dong, H.J., Jeong, H.U., et al. (2020) *Lactobacillus plantarum* LMT1-48 Exerts Anti-Obesity Effect in High-Fat Diet-Induced Obese Mice by Regulating Expression of Lipogenic Genes. *Scientific Reports*, **10**, 869-878. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-57615-5>
- [38] Huang, E., Kim, S.P., Ar, K.H., et al. (2020) Modulation of the Gut Microbiome and Obesity Biomarkers by *Lactobacillus plantarum* KC28 in a Diet-Induced Obesity Murine Model. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, **13**, 1-21.
- [39] 曹海鹏, 姬邓红, 黄作芳, 等. 一株强吸附胆固醇乳酸菌的分离鉴定及益生特性研究[J]. 中国酿造, 2022, 41(3): 110-116.
- [40] Mishra, A.K., Kumar, S.S. and Ghosh, A.R. (2019) Probiotic *Enterococcus faecalis* AG5 Effectively Assimilates Cholesterol and Produces Fatty Acids Including Propionate. *FEMS Microbiology Letters*, **366**, fnz039.
- [41] Zhang, Y., Wu, N.Q., Li, S., et al. (2016) Non-HDL-C Is a Better Predictor for the Severity of Coronary Atherosclerosis Compared with LDL-C. *Heart Lung & Circulation*, **25**, 975-981. <https://doi.org/10.1016/j.hlc.2016.04.025>
- [42] Stoekenbroek, R.M., Boekholdt, S.M., Fayyad, R., et al. (2015) High-Dose Atorvastatin Is Superior to Moderate-Dose Simvastatin in Preventing Peripheral Arterial Disease. *Heart*, **101**, 356-362. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2014-306906>