

· 基础研究 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2026.02.006

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20251127.1934.006\(2025-11-28\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20251127.1934.006(2025-11-28))

肥胖小鼠肠黏膜屏障功能变化的研究*

官旻丽¹ 高晓琳^{1,2△} 贾瑞贞³ 邓建军¹ 万朝敏¹

(1. 四川大学华西第二医院儿科, 成都 610041; 2. 出生缺陷与相关妇儿疾病教育部重点实验室, 成都 610041; 3. 西部妇幼研究院公共实验室, 成都 610041)

[摘要] **目的** 观察肥胖小鼠肠黏膜屏障功能的变化。**方法** 采用随机数字表法将 50 只 C57BL/6J 雄性健康小鼠分为肥胖组和对照组, 每组 25 只。肥胖组小鼠以高脂饲料(D12492 饲料)喂养 10 周进行肥胖造模, 对照组则以普通饲料喂养 10 周。比较两组小鼠实验第 1、10 周体重、体长、Lee 指数, 并采用 Illumina HiSeq 16S rDNA 高通量测序分析两组小鼠粪便标本 DNA 中肠道菌群分类、相对丰度及多样性。于实验第 10 周处死全部小鼠, 采用 ELISA 检测两组小鼠血浆二胺氧化酶(DAO)、D-乳酸、内毒素水平, 收集腹腔白色脂肪组织用于测定腹腔脂肪湿重, 收集回肠组织于光学显微镜下观察石蜡包埋切片 HE 染色情况。**结果** 肥胖组造模成功率为 100.0%, 实验期间无小鼠死亡。实验第 10 周肥胖组体重、体长、Lee 指数、腹腔脂肪湿重均大于对照组 ($P < 0.05$)。操作分类单元(OTU)分析结果显示, 肥胖组有效序列数、 $\alpha\beta$ 多样性和肠道菌门、菌属丰富均低于对照组, 两组有 17 菌门、401 菌属比较差异有统计学意义 ($FDR \leq 0.05, P < 0.05$), 肥胖组以变形菌门、克雷伯菌属为主, 对照组以拟杆菌门、未分类菌属为主。肥胖组血浆 DAO、D-乳酸、内毒素水平高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。肥胖组较对照组的回肠黏膜有更多肠绒毛顶端上皮脱落, 肠腺更丰富。**结论** 肥胖小鼠存在肠黏膜屏障功能损伤。

[关键词] 肠黏膜; 屏障功能; 肥胖; 小鼠; 肠道菌群

[中图分类号] R589.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2026)02-0272-06

Study on the changes of intestinal mucosal barrier function in obese mice*

GUAN Minli¹, GAO Xiaolin^{1,2△}, JIA Ruizhen³, DENG Jianjun¹, WAN Chaomin¹

(1. Department of Pediatrics, West China Second University Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China; 2. Key Laboratory of Birth Defects and Related Diseases of Women and Children, Ministry of Education, Chengdu, Sichuan 610041, China; 3. Public Laboratory, West China Women's and Children's Hospital Research Institute, Chengdu, Sichuan 610041, China)

[Abstract] **Objective** To observe the changes of intestinal mucosal barrier function in obese mice.

Methods A total of 50 healthy male C57BL/6J mice were randomly divided into the obese group and the control group with 25 mice in each group, according to the random number table method. Mice in the obese group were fed with a high-fat diet (D12492 diet) for 10 weeks to establish an obesity model, while those in the control group were fed with a normal diet for the same period. The body weight, body length and Lee index of the two groups were compared at the 1st and 10th weeks of the experiment. Illumina HiSeq 16S rDNA high-throughput sequencing was used to analyze the classification, relative abundance and diversity of intestinal flora in the fecal DNA samples of the two groups. All mice were sacrificed at the 10th week of the experiment. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was adopted to detect the plasma levels of diamine oxidase (DAO), D-lactic acid and endotoxin in both groups. Epididymal white adipose tissue was collected to measure its wet weight, and ileal tissue was collected to observe the hematoxylin-eosin (HE) staining of paraffin-embedded sections under a light microscope. **Results** The modeling success rate of the obese group was 100.0%, and no mice died during the experiment. At the 10th week, the body weight, body length, Lee index and wet weight of epididymal white adipose tissue in the obese group were all significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). Operational taxonomic unit (OTU) analysis showed that the number of effective sequences in the obese group was less than that in the control group, and the α and β diversity were

* 基金项目: 四川省科技厅重点研发项目(2023YFS0224)。△ 通信作者, E-mail: gaoxiaolin@scu.edu.cn.

lower than those in the control group. In addition, the intestinal phyla and genera in the control group were more abundant than those in the obese group, with statistically significant differences found in 17 phyla and 401 genera between the two groups ($FDR \leq 0.05, P < 0.05$). The obese group was dominated by the phylum Proteobacteria and the genus Klebsiella, while the control group was dominated by the phylum Bacteroidetes and unclassified genera. The plasma levels of DAO, D-lactic acid and endotoxin in the obese group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). Compared with the control group, the ileal mucosa of the obese group showed more epithelial shedding at the top of intestinal villi and more abundant intestinal glands. **Conclusion** Intestinal mucosal barrier function damage exists in obese mice.

[Key words] intestinal mucosa; barrier function; obesity; mice; intestinal flora

肥胖症是一种由多种因素引起的全身性疾病,表现为脂肪组织的过度堆积,对机体内分泌、心血管及代谢等多系统产生广泛影响,同时也是糖尿病、高血压、心脑血管疾病等重要疾病的主要致病因素之一^[1-2]。目前,肥胖已被视为一个重大的公共卫生问题,日益受到国内外研究者的广泛关注^[3-4]。近年来的多项研究显示,肥胖症伴随肠道菌群的变化,后者是肠黏膜屏障中生物屏障的重要组成部分^[5-6]。然而,目前国内外仍缺乏关于肥胖状态下肠黏膜屏障功能变化的系统报道。因此,本研究旨在比较高脂饮食与常规饮食小鼠血浆二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)、D-乳酸、内毒素水平差异,以及粪便肠道菌群特征、肠黏膜形态学结构,系统评估肥胖小鼠肠黏膜屏障的整体功能变化,为肥胖症的发生机制及防治策略提供实验依据,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

6 周龄、体重 23~28 g 的 50 只 SPF 级雄性健康小鼠(C57BL/6J)购自成都全析生物技术有限公司,实验前适应性喂养 1 周,保持 12 h/12 h 明暗周期,控制环境 50%~70% 湿度和 20~24 °C 温度,小鼠自由摄取食物和水。本研究已通过四川大学华西第二医院实验动物伦理委员会批准(审批号:2020008),所有操作在符合实验动物保护相关指南和规定的情况下进行。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与饲养

采用随机数字表法将小鼠分为肥胖组和对照组,每组 25 只。肥胖组小鼠以高脂饲料(D12492 饲料)喂养进行肥胖造模,饲料中含脂肪 60%,蛋白质 20%,碳水化合物 20%,热量为 5.2 kcal/g,喂养 10 周,以喂养后小鼠体重与对照组比较差异有统计学意义即判定为造模成功。对照组以普通饲料喂养,饲料中含脂肪 10%,蛋白质 20%,碳水化合物 70%,热量为 3.5 kcal/g,喂养 10 周。两组小鼠生活环境相同。

1.2.2 标本采集与处理

分别于第 1、10 周固定时间点测量两组小鼠体重、体长,计算 Lee 指数。同时收集两组小鼠实验第 1、10 周固定时间点新鲜粪便 2 g,于超低温冰箱保存,采用 Illumina HiSeq 16S rDNA 高通量测序技术(欧

易生物技术有限公司)检测两组小鼠粪便标本 DNA,采用 Heatmap、主成分分析(principal component analysis, PCA)、聚类分析(Cluster)、Metastats 等生物信息学软件分析肠道菌群分类、相对丰度及多样性。实验第 10 周处死全部小鼠,收集血液标本离心,−20 °C 冰箱保存待测,采用 ELISA(试剂盒购自成都基预科技有限公司)检测血浆 DAO、D-乳酸、内毒素水平;收集两组小鼠腹腔白色脂肪组织用于测定腹腔脂肪湿重,收集回肠组织于光学显微镜下观察石蜡包埋切片 HE 染色情况。

1.3 统计学处理

采用 SPSS19.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组小鼠基础生理指标比较

肥胖组造模成功率为 100.0%,实验期间无小鼠死亡。第 1 周两组小鼠体重、体长、Lee 指数比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。第 10 周肥胖组体重、体长、Lee 指数、腹腔脂肪湿重均大于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 两组小鼠基础生理指标比较($\bar{x} \pm s$)

项目	肥胖组($n=25$)	对照组($n=25$)	t	P
体重(g)				
第 1 周	20.41±0.89	20.24±1.02	0.79	0.51
第 10 周	34.69±3.05	26.59±1.03	12.59	<0.01
体长(cm)				
第 1 周	7.83±0.33	7.84±0.24	−1.10	0.77
第 10 周	9.74±0.13	9.26±0.23	9.14	0.02
Lee 指数				
第 1 周	349.59±1.65	346.94±1.37	1.13	0.67
第 10 周	334.39±6.52	321.66±3.33	8.69	<0.01
腹腔脂肪湿重(g)				
第 10 周	0.77±0.11	0.41±0.05	14.84	<0.01

2.2 生物信息学分析

2.2.1 两组粪便标本 DNA 测序结果比较

操作分类单元(operational taxonomic units,

OTU)分析结果显示,第1周两组小鼠粪便标本 DNA 测序结果比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);第10周两组小鼠粪便标本 DNA 测序后获得有效序列 21 773 条,肥胖组有效序列数少于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 1。

2.2.2 α 多样性分析

第10周肥胖组 Chao 指数、Observed species 指数、Shannon 指数及 Simpson 指数相对丰度低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 2。

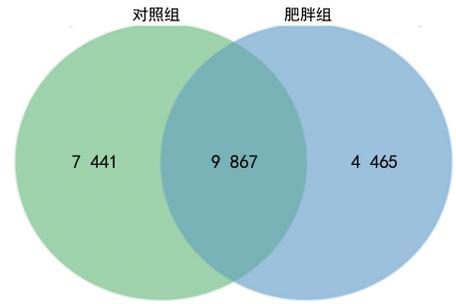
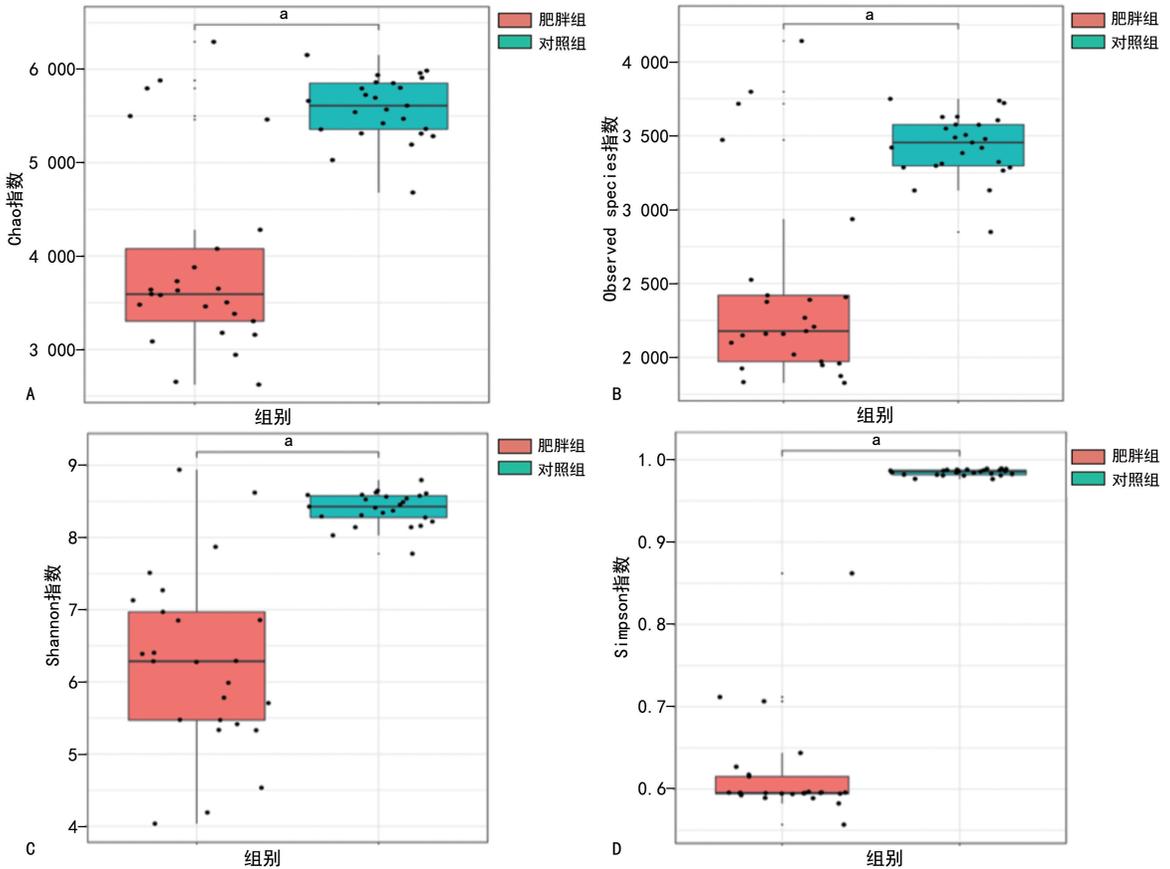


图 1 OTU 维恩图



A: 两组 Chao 指数相对丰度差异箱形图; B: 两组 Observed species 指数相对丰度差异箱形图; C: 两组 Shannon 指数多样性差异箱形图; D: 两组 Simpson 指数多样性差异箱形图; ^a: $P < 0.05$ 。

图 2 两组 α 多样性箱形图

2.2.3 β 多样性分析

第一主成分总体菌群代表性为 19.41%,第二主成分总体菌群代表性为 3.22%。肥胖组总体菌群有聚类现象但存在散在分布,对照组聚类现象明显,说明两组总体菌群存在差异,且肥胖组个体间的菌群差异大于对照组,见图 3。

2.2.4 菌群门属相对丰度及差异分析

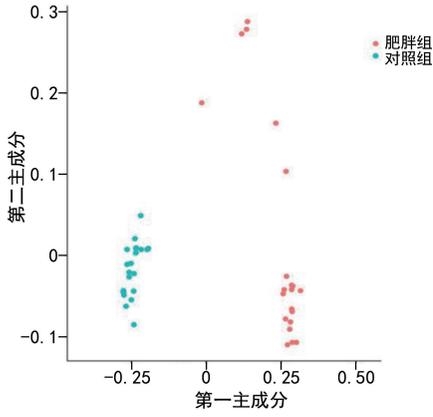
从门分类水平上共检测出 36 门细菌,对照组菌门较肥胖组更丰富,两组有 17 个菌门比较差异有统计学意义($FDR \leq 0.05, P < 0.05$)。肥胖组变形菌门较多,相对丰度占 38.4%,且放线菌门、梭杆菌门和芽单胞菌门相对丰度高于对照组。对照组以拟杆菌门为主,相对丰度占 68.87%,且螺旋体门、纤维杆菌门、

脱铁杆菌门、其他菌门相对丰度高于肥胖组,见图 4。

从属分类水平上共检测出 1 054 属细菌,对照组菌属较肥胖组更丰富,两组有 401 个菌属比较差异有统计学意义($FDR \leq 0.05, P < 0.05$)。肥胖组以克雷伯菌属较多,相对丰度占 8.45%,且未命名菌属、拟杆菌属、埃希杆菌-志贺菌属相对丰度高于对照组,对照组以未分类菌属为主,相对丰度占 52.31%,且毛螺旋菌属_NK4A136、拟普雷沃菌属、理研菌属_RC9、另枝菌属、肠杆菌属、疣微菌属_UCG-014、沙门菌属相对丰度高于肥胖组,见图 5。

2.3 两组肠黏膜屏障功能指标比较

第10周肥胖组小鼠血浆 DAO、D-乳酸、内毒素水平高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。



点表示标本。

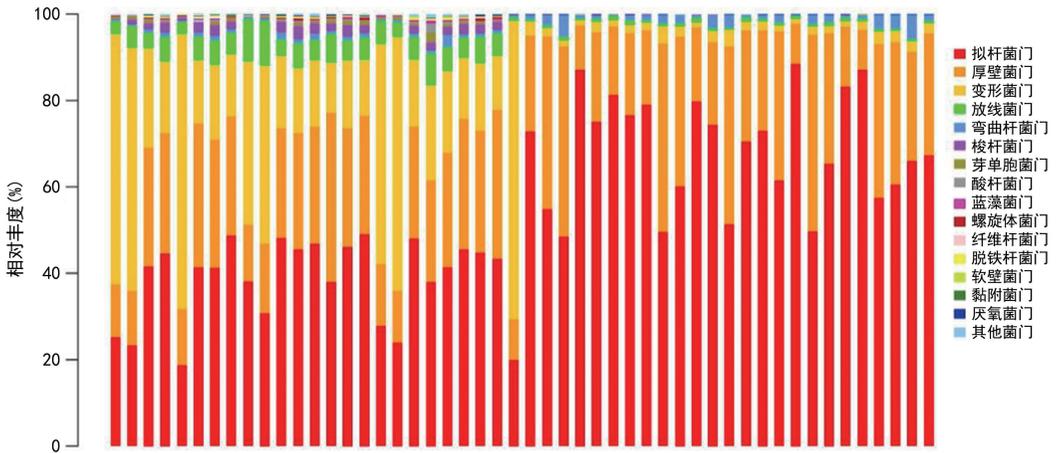
图 3 两组 PCA 图

2.4 两组回肠黏膜形态改变

光学显微镜下,肥胖组回肠黏膜较多肠绒毛顶端上皮脱落、稀疏,肠腺较丰富,肌层完整;对照组回肠组织各层结构清晰,肠绒毛排列规则,肠腺数量丰富排列紧密,未见其他异常,见图 6。

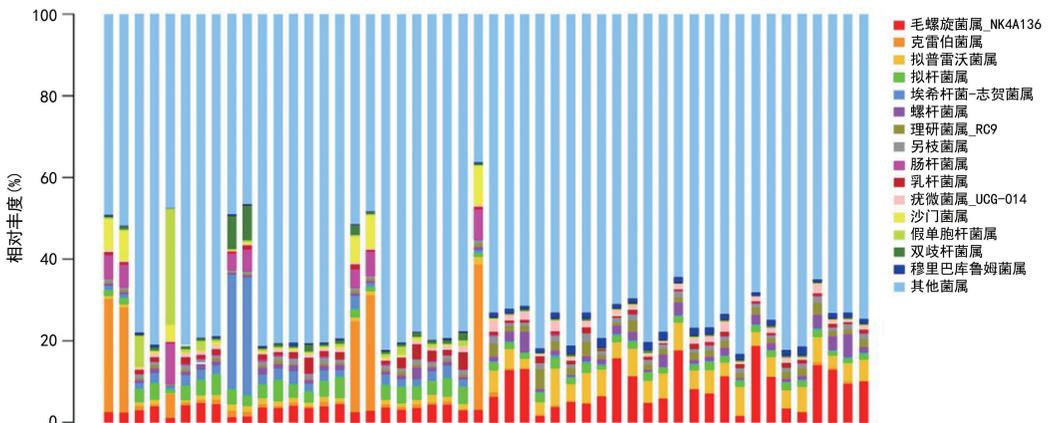
表 2 两组肠黏膜屏障功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	肥胖组 (n=25)	对照组 (n=25)	t	P
DAO(pg/mL)	997.17±35.24	888.48±43.95	9.647	<0.01
D-乳酸(mmol/L)	5.92±0.88	5.06±0.91	3.389	0.01
内毒素(pg/mL)	14.13±0.98	12.90±0.26	3.760	<0.01



标本分布 (左起第1~25个为肥胖组,第26~50个为对照组)

图 4 肠道菌门相对丰度分布柱状图 (Top15)

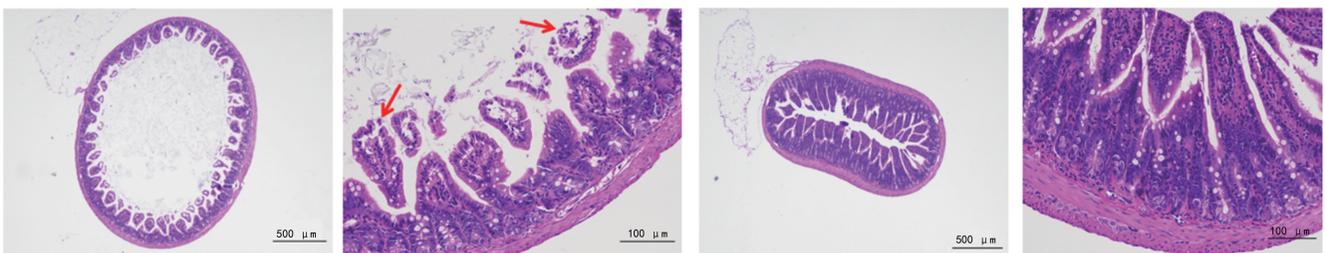


标本分布 (左起第1~25个为肥胖组,第26~50个为对照组)

图 5 肠道菌属相对丰度分布柱状图 (Top15)

肥胖组

对照组



红色箭头示肠绒毛脱落。

图 6 小鼠回肠黏膜切片 HE 染色结果

3 讨 论

肠道不仅承担消化吸收功能,还具备重要的屏障功能,包括机械屏障、化学屏障、生物屏障和免疫屏障,这些屏障共同作用保护机体免受肠道内有害物质的侵入^[7-10]。本研究 OTU 结果显示,肥胖组有效序列数较对照组更少,OTU 相对丰度较对照组更低,两组肠道菌群门、属水平存在差异($P < 0.05$),提示肥胖小鼠肠黏膜的生物屏障功能可能有所减弱。

通过 α 多样性分析评估标本复杂度,可见测序量足以覆盖标本中的细菌种属。两组在物种丰富度与均匀度上存在差异,进一步证实肥胖组与对照组小鼠的物种多样性差异有统计学意义($P < 0.05$)。BLIESNER 等^[11]、LE ROY 等^[12] 采用不同方法同样证实,肥胖个体的肠道菌群相对丰度较健康对照个体减少,且益生菌干预可预防饮食诱导的小鼠肥胖及代谢紊乱。

本研究还发现,肥胖组中变形菌门和克雷伯菌属的相对丰度较高,该结果与 JEONG 等^[13]、KUMAR 等^[14] 报道一致。JEONG 等^[13] 指出高脂饮食可增加肥胖大鼠肠道菌群中变形菌门的相对丰度,并提升粪便及血液中的脂多糖水平。KUMAR 等^[14] 研究发现,大鼠感染肺炎克雷伯菌 8 周后,其体重明显高于对照组(增加约 50%, $P < 0.011$);而经口服特定噬菌体鸡尾酒疗法清除该菌后,肥胖大鼠体重至第 12 周时降至接近对照组水平。该研究者认为,克雷伯菌属作为代谢活跃的腐生菌,可能通过分解肠道中的多糖、有机酸等物质,增加宿主能量获取,从而促进肥胖。变形菌门及克雷伯菌属等菌群与机体炎症反应密切相关,肥胖的发生是否与肠道菌群改变及其介导的炎症反应通路相关,值得深入探讨。

此外,本课题组既往报道学龄期肥胖儿童肠道菌群以拟杆菌门为主,而对照组则以厚壁菌门为优势菌门^[5],该结果与其他国家肥胖人群的菌群结构存在差异^[6,15],也与本研究中小鼠的菌群组成不同,可能与地域、物种、性别、饮食结构及实验条件等因素有关^[16-18]。未来可通过多中心研究进一步控制混杂因素,以明确相关机制。

目前,肠黏膜屏障功能的综合评价指标尚存争议,较公认的包括血浆 DAO、D-乳酸及内毒素水平测定^[14-15,19]。DAO 主要存在于小肠黏膜绒毛上皮细胞,以空肠和回肠活性最高,血浆 DAO 升高提示肠屏障功能受损^[15,20-21]。D-乳酸是肠道细菌发酵产生的代谢产物,哺乳动物缺乏快速代谢该物质的酶系统。当肠黏膜受损、通透性增加时,血液中的 D-乳酸水平升高,可反映肠黏膜损伤程度^[15,22-23]。内毒素为革兰氏阴性菌细胞壁的脂多糖成分,肠屏障损伤时易发生易位,导致血浆内毒素水平短暂上升,可作为肠道通

透性改变的参考指标^[15,24-25]。

本研究中,肥胖组小鼠血浆 DAO、D-乳酸及内毒素水平均高于对照组($P < 0.05$),进一步证实高脂饮食诱导的肥胖小鼠存在肠黏膜通透性增高和屏障功能损伤。光镜下观察可见肥胖组小鼠回肠黏膜部分绒毛顶端上皮脱落、排列稀疏,提示其肠黏膜紧密连接可能受损,机械屏障亦受影响^[26]。

综上所述,本研究初步揭示肥胖小鼠存在肠黏膜生物屏障减弱、机械屏障损伤及整体屏障功能下降的现象。肠道菌群及其代谢产物可能通过受损的肠黏膜屏障参与肥胖发生、发展,具体机制、作用途径、影响因素及干预策略值得进一步探索。本研究通过对肥胖小鼠肠黏膜屏障功能变化进行观察,为进一步阐明肥胖机制及防治策略提供了实验依据。

利益冲突:所有作者声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] IBRAHIM M, BA-ESSA E M, ALVAREZ J A, et al. Obesity and its management in primary care setting[J]. *J Diabetes Complications*, 2025, 39(7):109045.
- [2] SAAVEDRA R, RAMIREZ B, JAY B. Strategies to manage obesity: lifestyle[J]. *Methodist Debakey Cardiovasc J*, 2025, 21(2):53-61.
- [3] KANKOWSKI L, ARDISSINO M, MCCracken C, et al. The impact of maternal obesity on offspring cardiovascular health: a systematic literature review[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 868441.
- [4] 严紫绫, 汪雪. 性别差异对小鼠体重体脂影响的研究[J]. *重庆医学*, 2024, 53(16):2408-2413.
- [5] GAO X, JIA R, XIE L, et al. A study of the correlation between obesity and intestinal flora in school-age children[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 14511.
- [6] JARDON K M, UMANETS A, GIJBELS A, et al. Distinct gut microbiota and metabolome features of tissue-specific insulin resistance in overweight and obesity[J]. *Gut Microbes*, 2025, 17(1):2501185.
- [7] HUANG L, HE F, WU B. Mechanism of effects of nickel or nickel compounds on intestinal mucosal barrier [J]. *Chemosphere*, 2022, 305: 135429.
- [8] AN J, LIU Y, WANG Y, et al. The role of intestinal mucosal barrier in autoimmune disease;

- a potential target[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 871713.
- [9] ZHANG R, TANG Y, FENG X, et al. Targeted modulation of intestinal barrier and mucosal immune-related microbiota attenuates IgA nephropathy progression[J]. *Gut Microbes*, 2025, 17(1): 2458184.
- [10] NEURATH M F, ARTIS D, BECKER C. The intestinal barrier: a pivotal role in health, inflammation, and cancer [J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2025, 10(6): 573-592.
- [11] BLIESNER A, ECCLES-SMITH J, BATES C, et al. Impact of food-based weight loss interventions on gut microbiome in individuals with obesity: a systematic review [J]. *Nutrients*, 2022, 14(9): 1953.
- [12] LE ROY T, MOENS DE HASE E, VAN HUL M, et al. *Dysosmobacter welbionis* is a newly isolated human commensal bacterium preventing diet-induced obesity and metabolic disorders in mice[J]. *Gut*, 2022, 71(3): 534-543.
- [13] JEONG M Y, JANG H M, KIM D H. High-fat diet causes psychiatric disorders in mice by increasing Proteobacteria population[J]. *Neurosci Lett*, 2019, 698: 51-57.
- [14] KUMAR R, SINGH S, NATH G. Does overcolonization of *Klebsiella pneumoniae* in the gut cause obesity? [J]. *J Gastro Infections*, 2022, 11(1): 3-8.
- [15] CARRIZALES-SÁNCHEZ AK, GARCÍA-CAYUELA T, HERNÁNDEZ-BRENES C, et al. Gut microbiota associations with metabolic syndrome and relevance of its study in pediatric subjects[J]. *Gut Microbes*, 2021, 13(1): 1960135.
- [16] GENG J, NI Q, SUN W, et al. The links between gut microbiota and obesity and obesity related diseases [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 147: 112678.
- [17] ANGELINI G, RUSSO S, MINGRONE G. Incretin hormones, obesity and gut microbiota [J]. *Peptides*, 2024, 178: 171216.
- [18] SAAD M J A, SANTOS A. The microbiota and evolution of obesity [J]. *Endocr Rev*, 2025, 46(2): 300-316.
- [19] YANG J, XIONG P, BAI L, et al. The association of altered gut microbiota and intestinal mucosal barrier integrity in mice with heroin dependence [J]. *Front Nutr*, 2021, 8: 765414.
- [20] DIERYCK I, DE BACKERE J, PAESHUYSE J. Effect of hatching system and prophylactic antibiotic use on serum levels of intestinal health biomarker diamine oxidase in broilers at an early age [J]. *Animal*, 2022, 16(4): 100493.
- [21] 张小彬, 刘丹, 王妍柏, 等. 血清肠型脂肪酸结合蛋白和 D-乳酸水平在脓毒症患者早期肠道损伤中的临床意义 [J]. *中华危重病急救医学*, 2019, 31(5): 545-550.
- [22] GAO X, MIAO R, TAO Y, et al. Effect of Montmorillonite powder on intestinal mucosal barrier in children with abdominal Henoch-Schönlein purpura: a randomized controlled study [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(39): e12577.
- [23] LI K Y, HUANG D L, WEN B, et al. Effect of different minimally invasive gastric cancer surgical approaches on postoperative intestinal mucosal barrier function [J]. *J Nutr Oncol*, 2024, 9(3): 98-102.
- [24] HUANG J, GUAN B, LIN L, et al. Improvement of intestinal barrier function, gut microbiota, and metabolic endotoxemia in type 2 diabetes rats by curcumin [J]. *Bioengineered*, 2021, 12(2): 11947-11958.
- [25] DI VINCENZO F, DEL GAUDIO A, PETITO V, et al. Gut microbiota, intestinal permeability, and systemic inflammation: a narrative review [J]. *Intern Emerg Med*, 2024, 19(2): 275-293.
- [26] PAONE P, CANI P D. Mucus barrier, mucins and gut microbiota: the expected slimy partners? [J]. *Gut*, 2020, 69(12): 2232-2243.

(收稿日期: 2025-08-28 修回日期: 2025-10-22)

(编辑: 袁皓伟)