doi:10.12301/spxb202200980　　文章编号:2095-6002(2024)02-0120-11
引用格式:王涛,季珊珊,汤鑫磊,等. 大豆和猪肉来源的高蛋白饮食对小鼠肥胖及肠道菌群的影响[J]. 食品科学技术学报,2024,42(2):120-130.
WANG Tao, JI Shanshan, TANG Xinlei, et al. Effects of soybean and pork high protein diets on mice obesity and intestinal microflora[J]. Journal of Food Science and Technology, 2024,42(2):120-130.

# 大豆和猪肉来源的高蛋白饮食对小鼠肥胖及肠道菌群的影响

王　涛[1]，　季珊珊[1]，　汤鑫磊[1]，　李　倩[1]，　王恒鹏[1]，　孟祥忍[1,2,*]，　姜松松[1,*]
(1. 扬州大学 旅游烹饪学院/中餐非遗技艺传承文化和旅游部重点实验室，江苏 扬州　225127；
2. 扬州大学 中餐繁荣基地，江苏 扬州　225127)

**摘　要**：肥胖是一种复杂的代谢性疾病,与肠道菌群有一定的联系。为分析大豆和猪肉来源的高蛋白饮食对小鼠肥胖的干预作用及对肠道菌群结构的影响,采用高脂膳食诱导构建 C57BL/6J 小鼠肥胖模型,随后将肥胖小鼠按体质量随机分为 4 组,高脂饮食(HF)组、普通恢复(NR)组、高大豆蛋白饮食(HSP)组和高猪肉蛋白饮食(HPP)组,进行为期 12 周的膳食干预,同时设置空白对照(NC)组,通过对炎症因子及脂肪结构等指标的检测,分析大豆和猪肉来源的高蛋白饮食对肥胖小鼠的干预作用;同时,取盲肠内容物通过 16S rRNA 高通量测序技术分析各组小鼠肠道菌群的差异性。与 NR 组相比,HSP 组及 HPP 组小鼠体质量和血清脂多糖水平、肿瘤坏死因子 α 质量浓度均有不同程度的下降;同时,肝脏苏木精-伊红染色和油红 O 染色结果显示,HSP 组和 HPP 组小鼠肝脏脂肪沉积明显减轻($P<0.05$)。高脂饮食和高蛋白饮食显著降低了小鼠肠道菌群物种丰富度及进化关系的多样性,而对物种多样性与均匀度无显著影响($P>0.05$)。高蛋白饮食改善了小鼠的肥胖,并改变了肥胖小鼠的肠道菌群结构。研究旨在为通过饮食干预调控肠道菌群预防和改善肥胖提供新的见解。

**关键词**：高蛋白饮食；16S rRNA 基因测序；肥胖；小鼠；肠道菌群
**中图分类号**：TS201.4　　**文献标志码**：A

近年来,肥胖已经成为中国乃至全球的重大公共健康问题[1],肥胖症的患病率在全球范围内持续上升。最新的数据显示,中国有 50% 以上的成年人和约 20% 的学龄儿童超重或肥胖[2]。肥胖和超重不仅会使机体血脂发生异常,氧化应激增强,诱导多种慢性代谢性疾病的发生,甚至会使机体产生消极的心理状态,从而导致更加严重的健康后果[3-4]。虽然肥胖是由遗传因素和环境因素的相互作用共同造成的,但饮食仍然被认为是影响全球人群肥胖发生率的最重要因素[5]。目前,调节膳食蛋白质摄入成为减轻肥胖和控制体重的潜在策略,增加饮食中的蛋白质含量被认为是改善饮食诱导肥胖的有效方法[6]。高蛋白膳食作为一种宏量营养素调节方式,可通过提高饱腹感、减少能量摄入、增加机体能量消耗形成能量负平衡,进而达到减重和改善代谢机能的作用[7],但其作用是否受蛋白质来源的影响仍有待研究。植物蛋白和动物蛋白之间以及不同物种来源的动物蛋白之间的蛋白质和氨基酸组成不同,摄食后可能会对机体生

收稿日期：2022-10-26
基金项目：烹饪科学四川省高等学校重点实验室资助项目(PRKX2021Z01)。
Foundation: Sichuan Province College and University Key Laboratory of Culinary Science (PRKX2021Z01).
第一作者：王　涛,男,硕士研究生,主要从事食品营养与加工、食物过敏方面的研究。
*通信作者：孟祥忍,男,教授,博士,主要从事中式菜肴工业化技术、动物源食品营养加工方面的研究；
姜松松,男,讲师,博士,主要从事食品营养与加工、食物过敏方面的研究。

理、代谢、基因及蛋白质表达产生不同的影响[8]。

饮食也是影响机体肠道菌群结构的主要因素[9]。人类微生物组研究揭示了细菌对人类健康及疾病的关键作用[10]。肠道菌群可以调节宿主脂肪吸收、运输、存储和代谢等过程[11-13]，通过有益的膳食干预调节肠道菌群可以增强肠道屏障的完整性，从而改善机体慢性炎症和肥胖相关的代谢障碍[14]，如明串珠菌、假单胞菌已被证明可以改善高脂饮食诱导的肥胖小鼠的肠道菌群失调及肝代谢失衡[15]。研究肠道菌群在脂质代谢中的作用机制，可以为预防和治疗肥胖及相关代谢性疾病提供新靶点[16]。因此，高膳食蛋白质摄入是否能够通过改变肥胖机体内紊乱的微生物群，重塑或平衡其组成，达到控制或改善肥胖的作用有待研究。

本研究通过分析喂食大豆蛋白和猪肉蛋白来源的高蛋白饮食后的 C57BL/6J 小鼠肥胖症状的变化及肠道菌群结构的变化，探索不同的膳食结构对肥胖的影响及可能的机制，希望为肥胖症人群的膳食干预提供更加合理有效的指导。

## 1　材料与方法

### 1.1　材料与试剂

大豆分离蛋白（纯度 90%），山东齐鲁生物科技有限公司；猪肉蛋白（纯度 95%），西安国豪生物科技有限公司。

48 只 3 ~ 4 周龄 C57BL/6J 雄性小鼠（13 ~ 16 g），苏州卡文斯实验动物有限公司［许可证号：SCXK（苏）2018 - 0002］。

酶联免疫吸附实验（enzyme-linked immunosorbent assay，ELISA）试剂盒，赛默飞世尔科技（中国）有限公司；粪便基因组提取试剂盒，天根生化（北京）有限公司；油红 O 染色液、苏木精，国药集团化学试剂有限公司；多聚甲醛，苏州晓东宜健仪器设备有限公司。实验所用的日粮均为颗粒料，基础饲料、高脂饲料、高蛋白饲料均由江苏省协同医药生物工程有限责任公司配制，各饲料配方参考文献［17］，除高脂饲料外单位质量的热量基本相等。

### 1.2　仪器与设备

GHP-9160 型培养箱，上海一恒科学仪器有限公司；Multiskan FC 型酶标仪，赛默飞世尔科技（中国）有限公司；YP6002B 型电子天平，上海力辰邦西仪器科技有限公司；TGL-16M 型台式高速冷冻离心机，上海卢湘仪离心机仪器有限公司；Mastercycler pro 型 PCR 仪，德国 Eppendorf 公司。

### 1.3　实验方法

#### 1.3.1　动物饲养与处理

实验小鼠饲养于扬州大学特定病原体（SPF）级动物房，室内温度控制在（22 ± 2）℃，相对湿度为 50% ~ 60%，室内通风良好，光照 12 h（8:00—20:00），小鼠自由采食和饮水。

C57BL/6J 小鼠在适应性喂养 1 周后被随机分为高脂模型组（Model 组，40 只）与空白对照组（NC 组，8 只），分别喂以高脂饲料和基础饲料，喂养 16 周，以 Model 组中小鼠体质量超过 NC 组平均体质量的 20% 为依据[18]，筛选出肥胖小鼠 32 只，随后按体质量随机分为 4 组，高脂饮食组（HF 组，8 只）、普通恢复组（NR 组，8 只）、高大豆蛋白饮食组（HSP 组，8 只）和高猪肉蛋白饮食组（HPP 组，8 只）。其中，高蛋白组饮食的蛋白质质量分数为 40%，干预喂养 12 周；NC 组饲喂基础饲料直至实验结束。所有实验程序均经扬州大学动物伦理与使用委员会批准（No. YXYLL-2021-56）。

#### 1.3.2　体质量的测定

在实验开始时，给已经禁食 12 h 的小鼠空腹称重，作为其初始体质量；干预 12 周后，禁食 12 h，处死之前称量小鼠空腹体质量，作为体质量，根据式（1）计算其体质量增长量（g）。

$$\text{体质量增长量} = m(\text{最终}) - m(\text{初始})。\quad (1)$$

#### 1.3.3　Lee's 指数及体重指数的测定

干预 12 周，禁食 12 h 后，测量小鼠最终体质量和体长。根据式（2）、式（3）分别计算 Lee's 指数和体重指数（body mass index，BMI）（kg/m$^2$）。

$$\text{Lee's 指数} = \frac{\sqrt[3]{m(\text{最终})} \times 1\,000}{\text{体长}}\quad ;\qquad (2)$$

$$\text{BMI} = \frac{m(\text{最终})}{\text{体长}^2}\quad 。\qquad (3)$$

#### 1.3.4　血清脂多糖水平和肿瘤坏死因子 α 质量浓度的测定

小鼠禁食 12 h 后摘取眼球采血，血样室温静置 60 min，3 000 r/min 离心 15 min，吸取血清置于小试管内，按照 ELISA 试剂盒说明测定血清脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）水平和肿瘤坏死因子 α（tumor necrosis factor，TNF-α）质量浓度。

#### 1.3.5　组织苏木精-伊红染色和油红 O 染色

苏木精-伊红（hematoxylin-eosin，HE）染色：小鼠

处死后,无菌条件下取部分肝脏和附睾脂肪。经体积分数为4%的多聚甲醛固定后,脱水包埋在石蜡中,然后将肝组织和脂肪组织切成5 μm厚的切片,固定在载玻片上并烘干。随后将组织切片分别浸泡在二甲苯、梯度浓度的乙醇和苏木精中,并用树脂密封。

油红O染色:肝组织固定后,加入最佳切割温度包埋剂(optimal cutting temperature compound, OCT包埋剂)包埋。将组织冷冻成块并切成5 μm厚的切片,冷冻切片在室温下干燥,并用体积分数为10%的多聚甲醛固定。洗涤、浸泡和脱水后,加入油红O染色液进行染色,并将切片浸入体积分数为85%的异丙醇中。苏木精用于复染以显示细胞核。最后,在光学显微镜下观察染色切片,分析组织病理学的差异。

#### 1.3.6 小鼠肠道内容物菌群分析

实验结束后,各组小鼠空腹12 h被处死并立即解剖,取盲肠末端内容物置于无菌EP管内,并迅速保存至-80 ℃备用。参照说明采用粪便基因组提取试剂盒,提取HF组、NR组、HSP组、HPP组和NC组小鼠盲肠内容物的细菌DNA,对提取的DNA进行精确定量检测,采用通用引物(上游引物338F:ACTCCTACGGGAGGCAGCAG,下游引物806R:GGACTACHVGGGTWTCTAAT)对细菌16S rRNA的V3~V4区域进行扩增,扩增程序为95℃持续3 min变性,继续95 ℃保持30 s,然后57 ℃保持30 s,72 ℃持续45 s扩增,共30个循环,72 ℃持续10 min终止。PCR结束后,对产物进行琼脂糖电泳和凝胶回收,经过精确定量后根据标准方案在Illumina MiSeq平台上进行配对末端测序。

16S rRNA高通量测序的原始数据首先通过fastqc软件进行质量分析,确保数据符合质量标准后再进行多样性及相对丰度的分析。采用Qiime2软件对原始下机数据进行接头的去除,得到OTU表和OTU特征序列,并根据OTU表和OUT特征序列计算α稀疏曲线、α多样性、β多样性以及物种注释。使用R软件对各分类单位进行统计分析并绘制热图,基于Unweighted Unifrac距离的主坐标分析(principal coordinates analysis,PCoA)图、稀释曲线、物种累积箱式图通过Qiime2软件绘制。

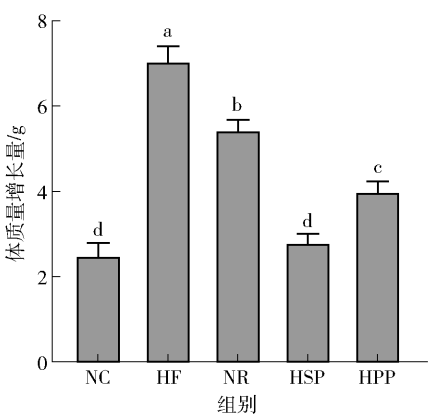
### 1.4 数据处理

采用SPSS 26.0对所有数据进行分析,2组数据间的比较运用独立样本$t$检验,多组数据进行比较运用单因素方差分析(one-way ANOVA),不同组间丰度差异使用ANCOM的方法进行分析,$P<0.05$表示差异具有显著性。

## 2 结果与分析

### 2.1 大豆和猪肉来源高蛋白饮食对肥胖小鼠体质量的影响

大豆和猪肉来源高蛋白饮食对肥胖小鼠体质量增长量的影响见图1。由图1可知,与NC组相比,HF组小鼠体质量增长迅速,体质量增长量显著高于NC组($P<0.05$);与HF组相比,NR、HSP、HPP组小鼠的体质量增量均降低($P<0.05$),尤其是HSP和HPP组;与NR组相比,HSP组和HPP组小鼠的体质量增量均降低($P<0.05$)。由此可见,大豆和猪肉来源高蛋白饮食对于肥胖小鼠的体质量增长量有较好的控制效果。




不同字母表示组间数据差异显著($P<0.05$)。

图1 肥胖小鼠体质量增长量变化

Fig. 1 Changes of body weight growth of obese mice

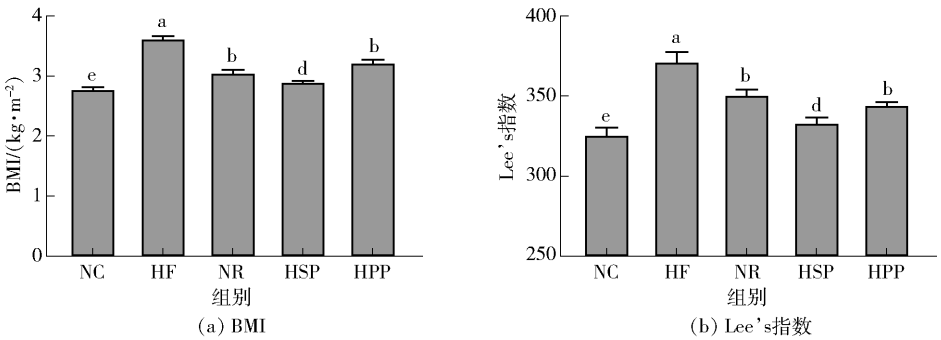
### 2.2 大豆和猪肉高蛋白饮食对肥胖小鼠BMI和Lee's指数的影响

大豆和猪肉高蛋白饮食对肥胖小鼠BMI和Lee's指数的影响见图2。由图2可知,与NC组相比,HF组的BMI和Lee's指数均显著升高($P<0.05$),提示高脂饮食成功诱导小鼠肥胖。与HF组相比,HSP组和HPP组BMI和Lee's指数显著下降($P<0.05$),其中HSP组的下降最为明显;与NR组相比,HSP组BMI和Lee's指数均显著下降($P<0.05$),HPP组Lee's指数则无明显差异,可见大豆和猪肉高蛋白饮食均能在一定程度上改善肥胖小鼠的BMI和Lee's指数。

### 2.3 大豆和猪肉高蛋白饮食对肥胖小鼠血清炎症因子的影响

大豆和猪肉高蛋白饮食对肥胖小鼠血清炎症因

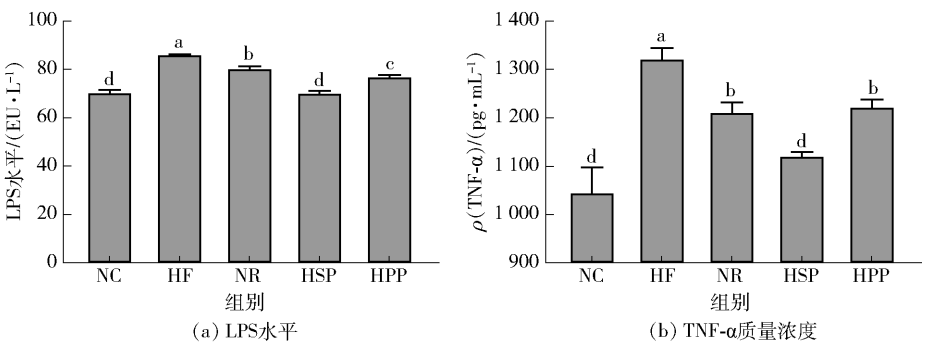
子的影响见图 3。与 NC 组相比，HF 组小鼠血清 LPS 水平和 TNF-α 质量浓度均显著升高（$P<0.05$）。经大豆和猪肉高蛋白膳食干预后，HSP 组肥胖小鼠血清中的 LPS 水平和 TNF-α 质量浓度均显著低于 HF 组和 NR 组（$P<0.05$）。HPP 组的肥胖小鼠血清中的 LPS 水平也显著低于 HF 组和 NR 组（$P<0.05$），但 TNF-α 质量浓度则与 NR 组无明显差异。




不同字母表示组间数据差异显著（$P<0.05$）。

图 2　肥胖小鼠 BMI 和 Lee's 指数分析

Fig. 2　Analysis of BMI and Lee's index of obese mice




不同字母表示组间数据差异显著（$P<0.05$）。

图 3　肥胖小鼠血清炎症因子变化

Fig. 3　Changes of serum inflammatory factors of obese mice

## 2.4　大豆和猪肉高蛋白饮食对肝脏及脂肪结构的影响

大豆和猪肉高蛋白饮食肥胖小鼠肝脏及脂肪染色结果见图 4。由图 4 肝脏 HE 染色结果可知，HF 组小鼠大部分肝细胞出现脂肪变性，肝小叶界限不清，肝索排列紊乱，肝细胞质内出现了大量的脂滴空泡；而在 HSP 组与 HPP 组小鼠的肝细胞中未观察到明显的脂滴空泡，细胞核形态正常，核圆且位于细胞中央。肝脏油红 O 染色结果也显示，HF 组小鼠肝脏切片中有大量明显的红色脂滴，NR 组小鼠肝脏切片中也有不同密度的红色脂滴，说明其小鼠肝脏中也存在脂肪沉积；而 HSP 组及 HPP 组小鼠肝脏切片中几乎未观察到红色脂滴，说明其肝脏脂肪沉积较少。附睾脂肪切片的 HE 染色结果显示，HF 组小鼠附睾脂肪细胞显著增大，HSP 组及 HPP 组小鼠的附睾脂肪细胞较 HF 组和 NR 组显著减小。这些结果表明，大豆和猪肉高蛋白饮食能有效改善肥胖小鼠肝脏的脂质变性，减少内脏脂肪沉积。

## 2.5　大豆和猪肉高蛋白饮食对肥胖小鼠肠道菌群的影响

### 2.5.1　小鼠盲肠菌群 α 多样性分析

经细菌基因组 DNA 提取、扩增及测序分析后，HF 组、HPP 组、HSP 组、NC 组和 NR 组每组各 8 个样本共 40 个样本得到 10 588 782 条序列，经拼接、质量控制过滤共得到 7 785 802 条序列。图 5 为 5 种不同膳食模式喂养的小鼠肠道微生物群的 4 个 α 多样性指数箱式图。图 5 中，pielou 指数为均匀度指数，observed_feature 为可观测到的物种种类，faith_pd 指数为包含进化关系的多样性指数，Shannon 指数为菌落多样性指数。由图 5 可知，5 组小鼠肠道

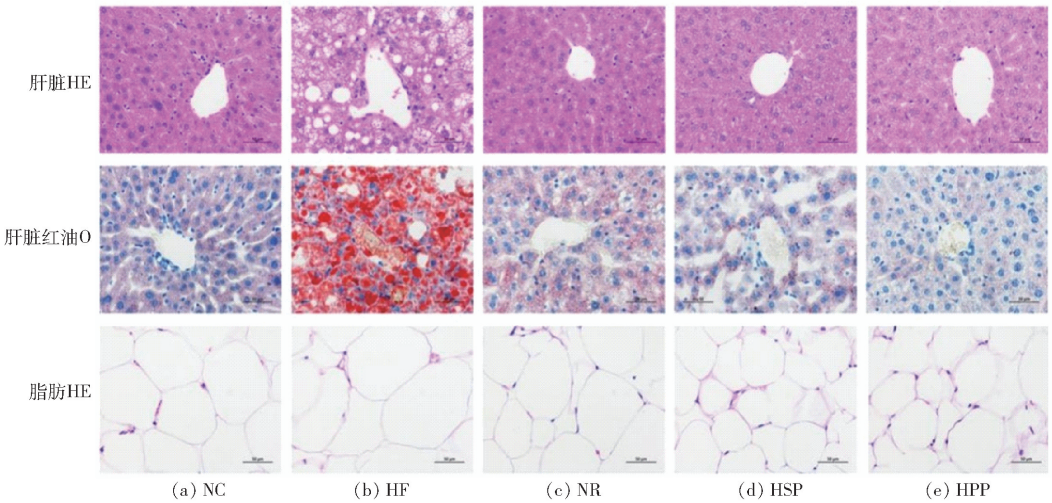
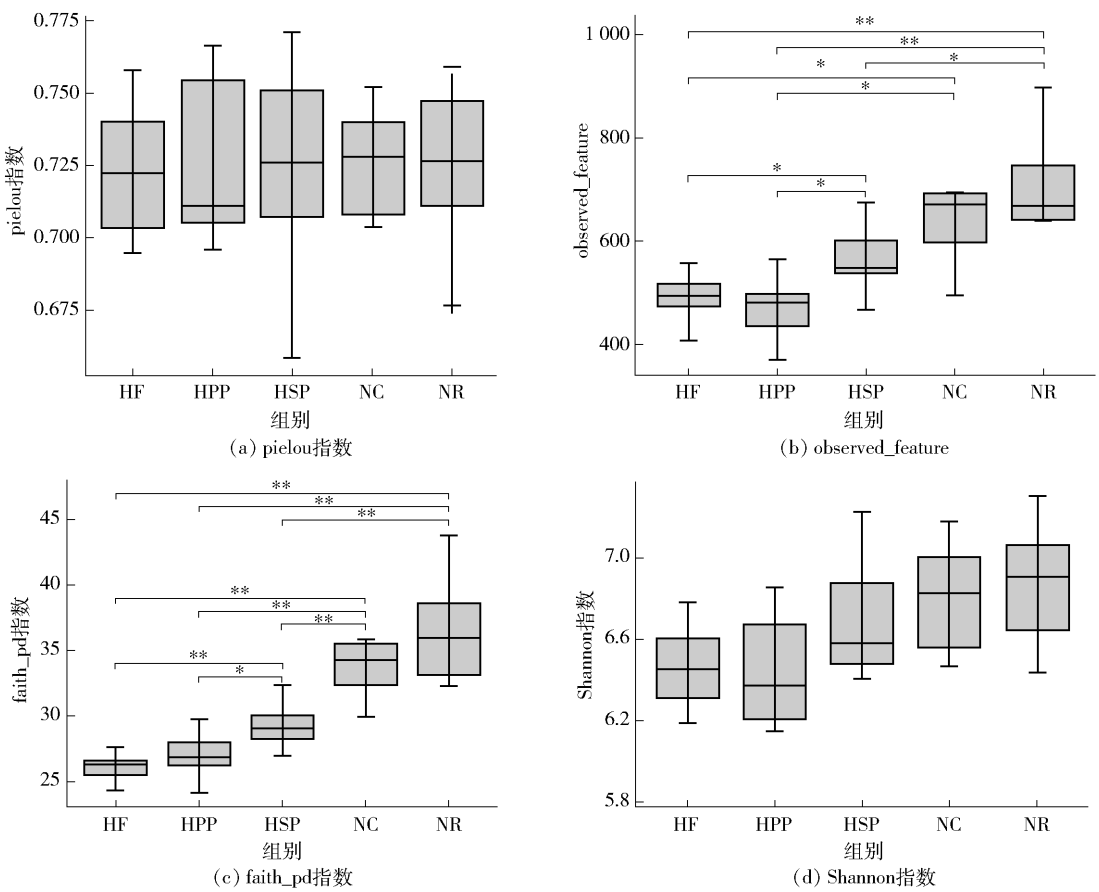



图 4 肥胖小鼠肝脏及脂肪结构分析

Fig. 4 Analysis of liver and adipose micro-structure of obese mice




* 表示组间数据差异显著($P<0.05$), ** 表示组间数据差异极显著($P<0.01$)。

图 5 肥胖小鼠盲肠菌群 α 多样性

Fig. 5 Caecal microflora α diversity of obese mice

菌群的 pielou 均匀度指数及 Shannon 多样性指数无显著性差异($P>0.05$)。NR 组的 observed_feature 指数显著高于 HSP 组($P<0.05$),极显著高于 HPP 组及 HF 组($P<0.01$),与 NC 组之间无显著性差异($P>0.05$);NC 组的 observed_feature 指数与 HSP 组无显著性差异($P>0.05$);HSP 组的 observed_feature 指数显著高于 HPP 组和 HF 组($P<0.05$);HF 组与 HPP 组的 observed_feature 指数也无显著性差

异($P>0.05$)。faith_pd 指数的结果与 observed_feature 指数的结果类似,但 NR 组和 NC 组的 faith_pd 指数都极显著高于 HSP 组、HPP 组及 HF 组($P<0.01$),NC 组与 NR 组之间无显著性差异($P>0.05$);HF 组与 HPP 组的 faith_pd 指数无显著性差异($P>0.05$)。结果表明,高脂饮食显著降低了小鼠肠道菌群物种丰富度及进化关系的多样性,而其他 4 种膳食模式对肥胖小鼠肠道菌群的物种多样性与均匀度无显著影响,说明高脂饮食一定程度上增加了肥胖的风险。

### 2.5.2　小鼠盲肠菌群 β 多样性分析

多样性用于比较样本间的菌群组成差异。对各组肥胖小鼠肠道菌群微生物组成进行主坐标分析,见图 6。由图 6 可知,基于 Unweighted Unifrac 距离,即考虑菌种间的进化关系,NC 组与 NR 组几乎重合($P=0.054$),而 HSP 组、HPP 组与 HF 组以及 NC 组间都有一定距离($P=0.001$,$P=0.001$),HSP 和 HPP 这 2 组间差异也具有显著性($P=0.001$),这表明 HF 组、HSP 组和 HPP 组与 NR 组的肠道菌群之间存在差异,高蛋白饮食与自然恢复饮食对肥胖小鼠肠道菌群的干预效果明显不同,不同来源的高蛋白饮食干预作用可能不同。

### 2.5.3　小鼠盲肠门水平菌群组成分析

不同膳食对小鼠盲肠菌群门水平相对丰度的影响见图 7。由图 7 可知,在门分类水平上,厚壁菌门(Firmicutes)和拟杆菌门(Bacteroidota)是 2 个最主要的优势菌门,HF 组小鼠的厚壁菌门(Firmicutes)的相对丰度最高,拟杆菌门(Bacteroidota)的相对丰度较低;与之相比,其他几种膳食模式不同程度地恢复了这些变化。与此同时,HPP 组中脱硫弧菌门(Desulfobacterota)的相对丰度较低;NR 组和 NC 组中疣微菌门(Verrucomicrobiota)的相对丰度较高。

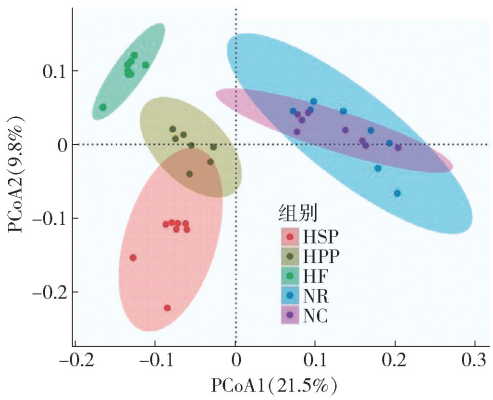



图 6　肥胖小鼠盲肠菌群 β 多样性

Fig. 6　Caecal microflora β diversity of obese mice

### 2.5.4　小鼠盲肠科水平菌群组成分析

不同膳食对小鼠盲肠菌群科水平相对丰度的影响见图 8。由图 8 可知,经 ANCOM 法统计发现,在科水平上具有显著差异的细菌为苏特勒菌科(Sutterellaceae)、杆菌科(Bacillaceae)、螺杆菌科(Helicobacteraceae)、阿克曼氏菌科(Akkermansiaceae)、理研菌科(Rikenellaceae)、韦荣球菌科(Erysipelotrichaceae)、海洋线菌科(Marinifilaceae)、消化链球菌科(Peptostreptococcaceae)。在科水平上,HF 组小鼠的毛螺菌科(Lachnospiraceae)与韦荣球菌科(Erysipelotrichaceae)的相对丰度最高,拟杆菌科(Muribaculaceae)和梭菌科(Clostridia UCG-014)的相对丰度最低;而其他各组中拟杆菌科(Muribaculaceae)的相对丰度都较 HF 组升高。HPP 组中奇异菌科(Atopobiaceae)的相对丰度较高,脱硫弧菌科(Des-

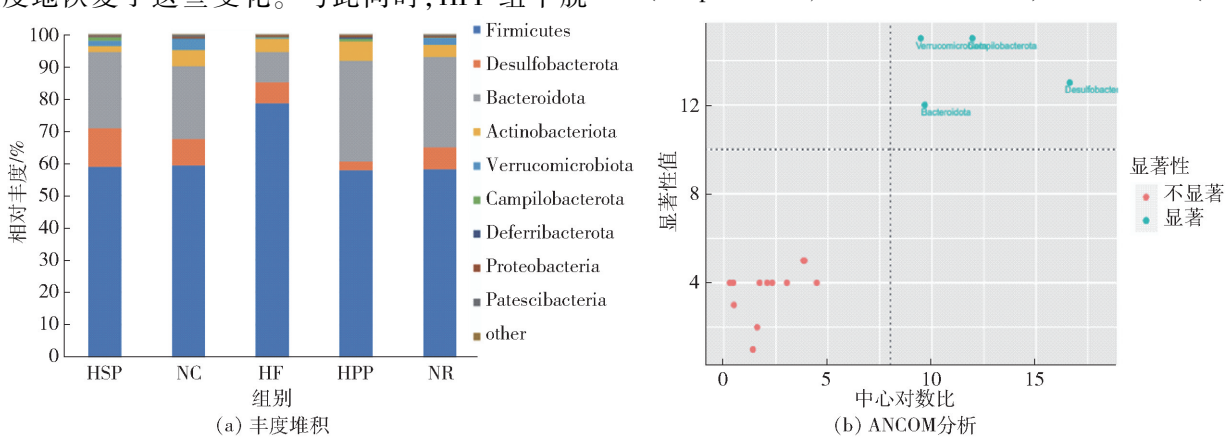
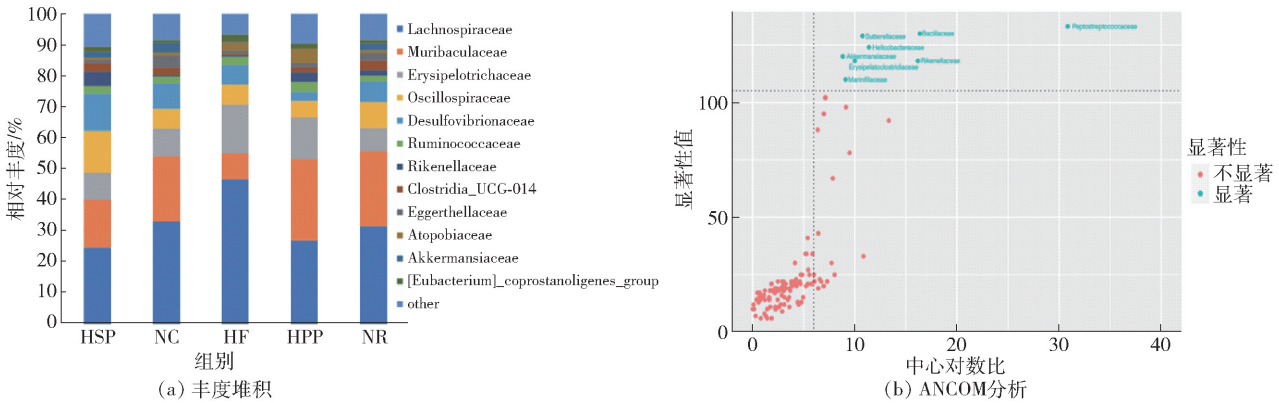



图 7　不同膳食对小鼠盲肠菌群门水平相对丰度的影响

Fig. 7　Effects of different diets on relative abundance of cecal microflora phyla level in mice

ulfovibrionaceae)的相对丰度较低;HSP 组中颤螺旋菌科(Oscillospiraceae)与理研菌科(Rikenellaceae)的相对丰度较高;此外,NR 组和 NC 组的伊格尔兹氏菌科(Eggerthellaceae)的相对丰度较高。




(a) 丰度堆积 (b) ANCOM分析

图 8 不同膳食对小鼠盲肠菌群科水平相对丰度的影响

Fig. 8 Effects of different diets on relative abundance of cecal microbiota family level in mice

### 2.5.5 差异菌群分析

为进一步探究各组小鼠盲肠菌群中的差异物种,在科水平上对各组丰度大于 0.5% 的细菌进行聚类并列,分析样本菌落组成的相似性及差异性,结果见图 9。图 9 中每小格代表所在样品中某种菌科的相对丰度,颜色越红表示相对丰度越大。由图 9 可知,HF 组毛螺菌科(Lachnospiraceae)的相对丰度较高,拟杆菌科(Muribaculaceae)的相对丰度较低;HSP 组颤螺旋菌科(Oscillospiraceae)的相对丰度较高。这与肥胖小鼠盲肠菌群科水平物种组成及分析的结果类似。

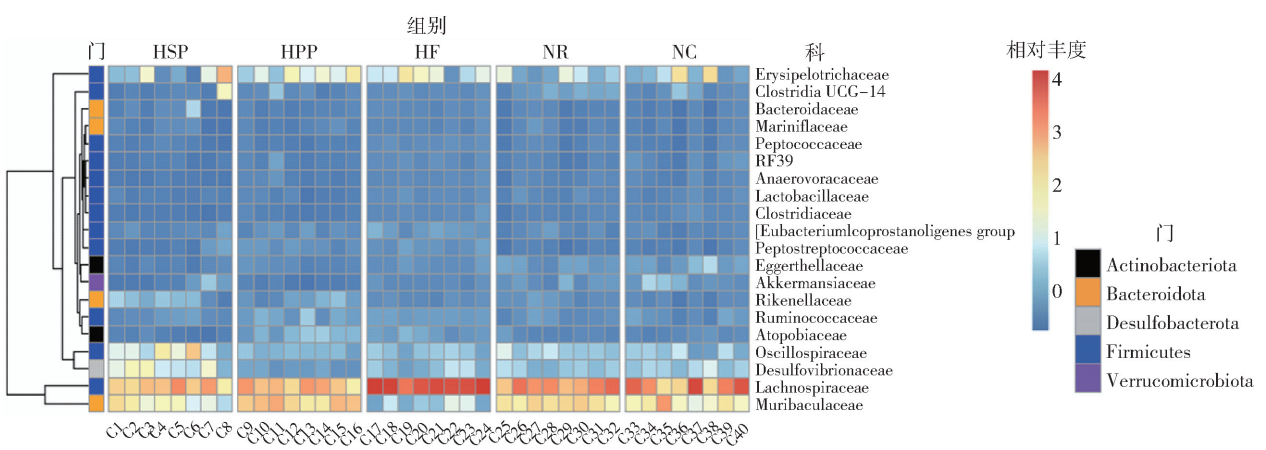



图 9 小鼠盲肠菌群科水平聚类分析

Fig. 9 Cluster analysis of cecal microbiota family level of mice

## 3 讨 论

本研究结果表明,在 12 周的膳食干预下,大豆蛋白和猪肉蛋白的高蛋白饮食都能不同程度地降低营养型肥胖小鼠的体质量,同时也有效降低了肥胖小鼠血清的炎症因子 LPS 水平和 TNF-α 质量浓度,另外,病理结果也进一步证实了大豆蛋白和猪肉蛋白的高蛋白饮食改善了肥胖小鼠肝脏的脂肪沉积,从而有效改善了小鼠的肥胖。Zhang 等[19]的研究表明,经过为期 1 周的干预,大豆蛋白的摄入显著降低了大鼠的体质量和脂肪组织质量。Shi 等[20]的研究则发现,猪肉高蛋白也能使大鼠附睾脂肪和肝脏质量降低。

为进一步探究高大豆蛋白和高猪肉蛋白饮食是否能够通过改善肥胖小鼠肠道菌群结构从而改善肥胖症状,本研究探讨了高大豆蛋白饮食、高猪肉蛋白饮食、高脂饮食、普通恢复饮食这 4 种膳食模式对高脂饮食诱导的 C57BL/6J 肥胖小鼠肠道菌群组成的影响。虽然最近的研究认为盲肠中厚壁菌/拟杆菌的比值并不能作为确切的肥胖标志[21],但先前的多

项研究表明，无论是在实验小鼠还是人类受试者身上，厚壁菌/拟杆菌的比值和变形菌相对丰度的增加与肥胖、炎症及相关代谢障碍密切相关[15,22]。本研究结果显示，高脂组小鼠具有较高的厚壁菌门（Firmicutes）丰度和较低的拟杆菌门（Bacteroidota）丰度，经过为期 12 周的膳食干预，2 种来源的高蛋白组与自然恢复组厚壁菌门丰度显著降低且拟杆菌门丰度显著升高。Chen 等[23]的研究表明，厚壁菌门会通过调节脂肪酸流入而诱导肝脏脂肪的生成与沉积；而 Yoshida 等[24]提出，拟杆菌门可以通过促进棕色脂肪中支链脂肪酸的分解来治疗肥胖。值得注意的是，Zhu 等[25]的研究发现，大豆蛋白膳食组（20%）小鼠肠道的拟杆菌属的相对丰度较其他动物蛋白（鸡肉、鱼肉、猪肉和牛肉）膳食组（20%）更高；而本研究发现，高猪肉蛋白组（40%）小鼠较高大豆蛋白组（40%）小鼠肠道拟杆菌门的丰度更高，这可能是由于本研究膳食中蛋白质含量的差异造成的，当然，具体的原因还需要进一步研究。先前的研究表明，当小鼠饮食中富含膳食纤维和蛋白质时，其肠道菌群拟杆菌属的相对丰度会升高，并且这种升高对小鼠代谢综合征具有改善作用[26]。因此，推测本研究中高猪肉蛋白组小鼠通过提高肠道菌群中拟杆菌门的水平改善肝脏脂质代谢异常。

本研究发现，高脂组小鼠毛螺菌科（Lachnospiraceae）与韦荣球菌科（Erysipelotrichaceae）的相对丰度较其他组显著升高；而拟杆菌科（Muribaculaceae）和梭菌科（Clostridia UCG-014）的相对丰度显著降低。高蛋白饮食组小鼠的毛螺菌科相对丰度较普通恢复组低，其作为厚壁菌门家族一员，可诱导小鼠肥胖和糖尿病的发展[27]。这表明，高蛋白饮食可在一定程度上改善小鼠肥胖。同时，先前的研究表明。韦荣球菌科（Erysipelotrichaceae）与机体代谢紊乱有关[28-29]，其丰度变化与肝脏脂肪变化呈正相关[30]。Zhao 等[31]的研究表明，梭菌科（Clostridia UCG-014）的丰度与肝脏损伤呈负相关。与已有研究结果一致，脱硫弧菌科（Desulfovibrionaceae）是一个重要的内毒素产生菌类群，其家族中细菌产物具有诱导炎症的能力。Chen 等[32]发现高脂饮食诱导的肥胖小鼠肠道菌群中脱硫弧菌科的相对丰度显著升高，因此认为脱硫弧菌科的相对丰度可能与小鼠发生肥胖密切相关。本研究中，高猪肉蛋白组中脱硫弧菌科的相对丰度较低，可以推测高猪肉蛋白膳食可能通过降低肠道菌群中脱硫弧菌科的相对丰度来改善小鼠肥胖。此外，Sato 等[33]发现 2 型糖尿病患者的肠道微生物与健康人群相比，奇异菌科（Atopobiaceae）等细菌较少，而高猪肉蛋白组中奇异菌科的相对丰度较高，这些结果表明猪肉蛋白能有效调节肥胖小鼠的肠道菌群紊乱。本研究中，高大豆蛋白组中理研菌科（Rikenellaceae）和颤螺旋菌科（Oscillospiraceae）的相对丰度较高，同时，普通恢复组的伊格尔兹氏菌科（Eggerthellaceae）相对丰度较高。理研菌科属于拟杆菌门的成员，可以通过产生短链脂肪酸来改善小鼠的肥胖与脂质代谢紊乱[34]。Tavella 等[35]的研究表明，理研菌科相对丰度的升高与老年人内脏脂肪组织减少和代谢机能的改善相关；有研究表明颤螺旋菌科丰度的升高可以减少盲肠炎症损伤[36]。此外，伊格尔兹氏菌科作为多酚降解细菌家族，其异生代谢物质能有效改善肥胖小鼠的脂质代谢[37]。这表明，高大豆蛋白、高猪肉蛋白、普通恢复组的膳食干预都不同程度地改善了高脂饮食引起的肥胖小鼠的肠道菌群紊乱和小鼠肥胖；大豆蛋白和猪肉蛋白膳食干预组较普通恢复组具有更好的肥胖干预作用。

## 4　结　论

本研究证实了大豆和猪肉高蛋白膳食均能在一定程度上改善小鼠的肥胖，并且改变了肥胖小鼠的肠道菌群结构。高猪肉蛋白主要升高了奇异菌科的相对丰度，降低了脱硫弧菌科的相对丰度，高大豆蛋白饮食主要升高了理研菌科和颤螺旋菌科的相对丰度。研究结果在一定程度上揭示了不同来源的高蛋白饮食（大豆蛋白和猪肉蛋白）对肥胖小鼠肠道菌群的调节作用，旨在为高蛋白膳食调节盲肠菌群，改善肥胖症状的研究提供理论依据。

**参考文献：**

[1]　中国营养学会肥胖防控分会，中国营养学会临床营养分会，中华预防医学会行为健康分会，等. 中国居民肥胖防治专家共识[J]. 中国预防医学杂志，2022，23(5)：321－339.

[2]　WANG Y F, ZHAO L, GAO L W, et al. Health policy and public health implications of obesity in China[J]. The Lancet Diabetes & Endocrinology, 2021, 9(7): 446－461.

[3]　MEADOWS A. Weight stigma and physical health: an unconsidered ‘obesity’ cost[J]. Canadian Journal of

Public Health, 2019, 110(4): 525 – 526.

[4] BAYLIAK M M, ABRAT O B, STOREY J M, et al. Interplay between diet-induced obesity and oxidative stress: comparison between *Drosophila* and mammals[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2019, 228: 18 – 28.

[5] STANKIEWICZ M, PIESZKO M, ŚLIWIŃSKA A, et al. Obesity and diet awareness among Polish children and adolescents in small towns and villages [J]. Central European Journal of Public Health, 2014, 22(1): 12 – 16.

[6] WYCHERLEY T P, MORAN L J, CLIFTON P M, et al. Effects of energy-restricted high-protein, low-fat compared with standard-protein, low-fat diets: a meta-analysis of randomized controlled trials[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2012, 96(6): 1281 – 1298.

[7] WEN Y, YUE L, CI H, et al. Effect of high protein diet intervention on obesity and chronic diseases[J]. Bulletin of the Chinese Academy of Sciences, 2020, 32: 170 – 178.

[8] 宋尚新. 不同膳食蛋白对大鼠生长、血液生化指标、肝脏转录组和蛋白组的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2016:49 – 53.
SONG S X. Effects of different dietary protein sources on growth, blood metabolic items, liver transcriptomics and proteomics of rats [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2016: 49 – 53.

[9] LIANG J J, ZHANG M N, WANG X N, et al. Edible fungal polysaccharides, the gut microbiota, and host health[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 273: 118558.

[10] LLOYD-PRICE J, MAHURKAR A, RAHNAVARD G, et al. Strains, functions and dynamics in the expanded Human Microbiome Project [J]. Nature, 2017, 550(7674): 61 – 66.

[11] LEE P, YACYSHYN B R, YACYSHYN M B. Gut microbiota and obesity: an opportunity to alter obesity through faecal microbiota transplant (FMT)[J]. Diabetes, Obesity & Metabolism, 2019, 21(3): 479 – 490.

[12] AMABEBE E, ROBERT F O, AGBALALAH T, et al. Microbial dysbiosis-induced obesity: role of gut microbiota in homoeostasis of energy metabolism [J]. The British Journal of Nutrition, 2020, 123(10): 1127 – 1137.

[13] MA L Y, ZHENG A Q, NI L Y, et al. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* lkm512 attenuates obesity-associated inflammation and insulin resistance through the modification of gut microbiota in high-fat diet-induced obese mice[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2022, 66(3): e2100639.

[14] XIAO S M, FEI N, PANG X Y, et al. A gut microbiota-targeted dietary intervention for amelioration of chronic inflammation underlying metabolic syndrome[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2014, 87(2): 357 – 367.

[15] SUN M Z, WANG Q Y, ZHANG M M, et al. *Leuconostoc pseudomesenteroides* improves microbiota dysbiosis and liver metabolism imbalance and ameliorates the correlation between dihydroceramide and strains of Firmicutes and Proteobacteria in high fat diet obese mice[J]. Food & Function, 2020, 11(8): 6855 – 6865.

[16] GENG J F, NI Q Q, SUN W, et al. The links between gut microbiota and obesity and obesity related diseases [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2022, 147: 112678.

[17] JIANG S S, JI S, TANG X L, et al. A comparison study on the therapeutic effect of high protein diets based on pork protein versus soybean protein on obese mice [J]. Foods, 2022, 11(9): 1227.

[18] TURNBAUGH P J, HAMADY M, YATSUNENKO T, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins[J]. Nature, 2009, 457(7228): 480 – 484.

[19] ZHANG L H, PIAO X S. Different dietary protein sources influence growth performance, antioxidant capacity, immunity, fecal microbiota and metabolites in weaned piglets [J]. Animal Nutrition, 2022, 8: 71 – 81.

[20] SHI X B, HUANG Z X, ZHOU G H, et al. Dietary protein from different sources exerted a great impact on lipid metabolism and mitochondrial oxidative phosphorylation in rat liver[J]. Frontiers in Nutrition, 2021, 8: 719144.

[21] MAGNE F, GOTTELAND M, GAUTHIER L, et al. The firmicutes/bacteroidetes ratio: a relevant marker of gut dysbiosis in obese patients? [J]. Nutrients, 2020, 12(5): 1474.

[22] CROVESY L, MASTERSON D, ROSADO E L. Profile of the gut microbiota of adults with obesity: a systematic review [J]. European Journal of Clinical Nutrition, 2020, 74(9): 1251 – 1262.

[23] CHEN Y H, CHIU C C, HUNG S W, et al. Gnotobiotic mice inoculated with Firmicutes, but not Bacteroidetes, deteriorate nonalcoholic fatty liver disease severity by modulating hepatic lipid metabolism[J]. Nutrition Research, 2019, 69: 20 – 29.

[24] YOSHIDA N, YAMASHITA T, OSONE T, et al. *Bacteroides* spp. promotes branched-chain amino acid catabo-

lism in brown fat and inhibits obesity[J]. iScience, 2021, 24(11): 103342.

[25] ZHU Y Y, LIN X S, ZHAO F, et al. Meat, dairy and plant proteins alter bacterial composition of rat gut bacteria[J]. Scientific Reports, 2015, 5: 15220.

[26] YUAN Y, ZHOU J H, ZHENG Y F, et al. Beneficial effects of polysaccharide-rich extracts from *Apocynum venetum* leaves on hypoglycemic and gut microbiota in type 2 diabetic mice[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2020, 127: 110182.

[27] KAMEYAMA K, ITOH K. Intestinal colonization by a *Lachnospiraceae bacterium* contributes to the development of diabetes in obese mice[J]. Microbes and Environments, 2014, 29(4): 427 – 430.

[28] MARTÍNEZ I, PERDICARO D J, BROWN A W, et al. Diet-induced alterations of host cholesterol metabolism are likely to affect the gut microbiota composition in hamsters[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(2): 516 – 524.

[29] KAAKOUSH N O. Insights into the role of Erysipelotrichaceae in the human host[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2015, 5: 84.

[30] SPENCER M D, HAMP T J, REID R W, et al. Association between composition of the human gastrointestinal microbiome and development of fatty liver with choline deficiency[J]. Gastroenterology, 2011, 140(3): 976 – 986.

[31] ZHAO J D, LIU L L, XIN L, et al. The protective effects of a modified Xiaohua Funing Decoction against acute liver failure in mice induced by D-gal and LPS[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2022, 2022: 1 – 13.

[32] CHEN Q Y, WANG D, GU Y, et al. Tangeretin prevents obesity by modulating systemic inflammation, fat browning, and gut microbiota in high-fat diet-induced obese C57BL/6 mice[J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2022, 101: 108943.

[33] SATO J, KANAZAWA A, IKEDA F, et al. Gut dysbiosis and detection of "live gut bacteria" in blood of Japanese patients with type 2 diabetes[J]. Diabetes Care, 2014, 37(8): 2343 – 2350.

[34] LU Y Y, FAN C N, LI P, et al. Short chain fatty acids prevent high-fat-diet-induced obesity in mice by regulating G protein-coupled receptors and gut microbiota[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 37589.

[35] TAVELLA T, RAMPELLI S, GUIDARELLI G, et al. Elevated gut microbiome abundance of *Christensenellaceae*, *Porphyromonadaceae* and *Rikenellaceae* is associated with reduced visceral adipose tissue and healthier metabolic profile in Italian elderly[J]. Gut Microbes, 2021, 13(1): 1 – 19.

[36] CAI J, WANG N, CHEN J, et al. *Bacillus velezensis* A2 inhibited the cecal inflammation induced by Zearalenone by regulating intestinal flora and short-chain fatty acids[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 806115.

[37] CLAUS S P, ELLERO S L, BERGER B, et al. Colonization-induced host-gut microbial metabolic interaction[J]. mBio, 2011(2): 00271 – 10.

# Effects of Soybean and Pork High Protein Diets on Mice Obesity and Intestinal Microflora

WANG Tao[1], JI Shanshan[1], TANG Xinlei[1], LI Qian[1], WANG Hengpeng[1], MENG Xiangren[1,2,*], JIANG Songsong[1,*]

(1. *College of Tourism and Culinary Science, Yangzhou University/Key Laboratory of Chinese Cuisine Intangible Cultural Heritage Technology Inheritance, Ministry of Culture and Tourism, Yangzhou*, 225127, *China*; 2. *Chinese Cuisine Promotion and Research Base, Yangzhou University, Yangzhou*, 225127, *China*)

**Abstract**: Obesity is a complex metabolic disease, which has a certain relationship with intestinal microflora. To evaluate the effect of high protein diet from soybean protein and pork protein on obese mice and its intestinal microflora structure, a C57BL/6J obesity mice model was firstly induced by high fat diet. Then obese mice were randomly divided into 4 groups according to body weight, high fat diet (HF) group, normal recovery (NR) group, high soy protein diet (HSP) group and high pork protein

diet (HPP) group, and dietary intervention was taken by obese mice for 12 weeks. Besides, the blank control (NC) group was set. The intervention effects of high protein diet from soybean protein and pork protein on obese mice were analyzed through inflammatory factors and adipose micro-structure measurement. Cecal contents were collected to analyze the differences of intestinal microflora between each group by 16S rRNA high-throughput sequencing technology. Compared with NR group, the body weight, lipopolysaccharides level and TNF-α mass concentration in serum of mice in HSP and HPP groups were decreased in different degree. Meanwhile, liver HE staining and oil red O staining showed that liver fat deposition was significantly reduced in HSP and HPP groups ($P<0.05$). High fat diet and high protein diet significantly reduced the species richness and evolutionary diversity of intestinal microflora including evolutionary relationships, but there was no significant difference in species diversity and evenness ($P>0.05$). The high protein diet improved the obesity of mice and changed the intestinal microflora structure of obese mice. The results aimed to provide a new understanding for the intervention and improvement of obesity by regulating intestinal microflora through dietary.

**Keywords**: high protein diet; 16S rRNA sequencing technology; obesity; mice; intestinal microflora

(责任编辑:张逸群)

(上接第 108 页)

screened from the fermented grains samples of the brewing process of sauce-aroma Baijiu and applied to simulated fermentation experiments. The results showed that 66 and 72 volatile compounds were present in group A (without strain *P. kudriavzevii* X-8) and group B (with strain *P. kudriavzevii* X-8), respectively. The types and contents of esters, alcohols, acids and other flavor substances in group B were higher than those in group A. After 30 d of fermentation, the content of phenethyl acetate in group B (0.214 μg/g) was approximately twice that of group A (0.121 μg/g). The dominant genera in group B were *Weissella* and *Pichia*, and there were also differences in the abundance of *Lactobacillus* and *Pediococcus*, *Saccharomycopsis* and *Saccharomyces* in the two groups. The addition of *Pichia kudriavzevii* X-8 had little effect on the physicochemical properties of the fermented grains, but enhanced the correlation of water content, acidity and flavour substances with fungal microorganisms, and increased the content of phenylethyl acetate and other important flavour substances. The results of the study were aimed to provide theoretical references for the quality improvement of sauce-aroma Baijiu and the practical application of functional strains in sauce-aroma Baijiu.

**Keywords**: sauce-aroma Baijiu; biofortification; phenylethyl acetate; volatile flavour compounds; microbial community; correlation analysis

(责任编辑:张逸群)