

李爱科、慕文涛研究员主持“粮食品质提升与营养改善”专栏文章之四

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2023.05.017

王薇薇, 杨莹, 王丽, 等. 脂肪和碳水化合物供能比对大鼠脂肪代谢和肠道微生物的影响[J]. 粮油食品科技, 2023, 31(5): 142-151.

WANG W W, YANG Y, WANG L, et al. Effects of fat and carbohydrate energy supply ratio on fat metabolism and intestinal microbiota in rats[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2023, 31(5): 142-151.

# 脂肪和碳水化合物供能比对大鼠 脂肪代谢和肠道微生物的影响

王薇薇, 杨莹, 王丽, 宋丹, 李爱科✉

(国家粮食和物资储备局科学研究院 粮食品质营养研究所, 北京 100037)

**摘要:** 日常饮食中脂肪和碳水化合物的占比对脂质代谢、糖代谢和身体健康具有重要影响, 在有效能(代谢能)一致的前提下, 研究了饮食中不同脂肪和碳水化合物供能比对大鼠脂肪代谢和肠道菌群的影响。试验采用64只9周龄SPF级雄性SD大鼠, 随机分成4组, 分别为: Hf组(脂肪与碳水化合物供能比(F/C)为40%:45%)、Mf组(F/C为31%:54%)、Lf组(F/C为21%:64%)和CON组(对照饲料)。结果表明, 各组间大鼠体重、血糖和血脂以及肝脏脂肪变性情况均无显著差异( $P > 0.05$ )。Hf组的肝脏甘油三酯、腹脂脂联素显著高于其他三组( $P < 0.05$ ); 且相比CON组, Hf组的肝脏乙酰辅酶A羧化酶(ACC)基因表达量降低, 而脂肪酸转运酶(FAT/CD36)、控制脂肪合成的固醇调节元件结合蛋白(SREBP1)以及促进脂肪细胞分化的过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR $\gamma$ )基因表达量增加( $P < 0.05$ )。与CON组相比, Hf组、Mf组和Lf组的大鼠肝脏胆固醇合成因子羟甲基戊二酸单酰辅酶A(HMG-CoA)基因表达量均增加( $P < 0.05$ )。另外, 饮食中F/C高时(40%:45%和30%:55%), 大鼠肠道绒毛发育受损, 肠道中有益菌属丰度降低, 潜在致病菌属丰度增加。高脂组虽然饮食中脂肪占比高, 由于纤维素含量高, 缓解了由高脂饮食引起的体重增加和血糖血脂异常, 但仍然存在肝脏脂肪升高和肠道健康受损等症状, 大鼠饮食中F/C不宜超过30%。研究结果为膳食中适宜的宏量营养素配比提供了理论参考。

**关键词:** 脂肪和碳水化合物供能比; 脂肪代谢; 肠道微生物; 大鼠

中图分类号: TS201.4; Q493 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2023)05-0142-10

网络首发时间: 2023-09-11 14:22:21

网络首发地址 <https://link.cnki.net/urlid/11.3863.TS.20230908.1540.012>

## Effects of Fat and Carbohydrate Energy Supply Ratio on Fat Metabolism and Intestinal Microbiota in Rats

WANG Wei-wei, YANG Ying, WANG Li, SONG Dan, LI Ai-ke✉

(Institute of Grain Quality and Nutrition Research, Academy of National Food and Strategic Reserves Administration, Beijing 100037, China)

收稿日期: 2023-05-16

基金项目: 公益性行业专项(粮食)(201513003-8)

Supported by: Nonprofit Industry Research Subject (Gain) (No. 201513003-8)

作者简介: 王薇薇, 女, 1984年出生, 博士, 副研究员, 研究方向为益生菌、肠道健康及饲料资源开发。E-mail: www@ags.ac.cn

通讯作者: 李爱科, 男, 1963年出生, 博士, 首席研究员, 研究方向为益生菌与蛋白质饲料资源开发利用。E-mail: lak@ags.ac.cn。

作者详细介绍见PC26。

**Abstract:** The proportions of fat and carbohydrate in diet have an important impact on lipid metabolism, glucose metabolism and health. On the premise of consistent dietary available energy (metabolic energy), the effects of different fat and carbohydrates energy supply ratios in diet on fat metabolism and gut microbiota were studied. Sixty-four 9-weeks-old SPF grade male SD rats aged 9 weeks were randomly divided into 4 groups including: Hf group (energy supply ratio of fat to carbohydrate (F/C) 40% : 45%), Mf group (F/C 31% : 54%), Lf group (F/C 21% : 64%) and CON group (control diet). The results showed that there were no significant differences in body weight, blood glucose, blood lipid and liver steatosis among all groups ( $P > 0.05$ ). The liver triglyceride and abdominal adiponectin of Hf group were significantly higher than those of the other three groups ( $P < 0.05$ ). Compared to the CON group, the acetyl-CoA carboxylase (ACC) gene expression in the liver of Hf group decreased, while the expressions of lipid synthesis genes, fatty acid transporter (FAT/CD36), sterol regulatory element binding protein (SREBP1), and adipocyte differentiation gene peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR $\gamma$ ) increased in Hf group ( $P < 0.05$ ). Compared with CON group, the cholesterol synthesis factor hydroxymethylglutarate monoacyl CoA (HMG-CoA) gene expression in the liver of Hf, Mf and Lf groups were all increased ( $P < 0.05$ ). In addition, the higher dietary F/C (40% : 45% and 30% : 55%) resulted in impaired gut villi development, which led to decreasing abundance of beneficial bacteria but increasing abundance of potentially pathogenic bacteria. In conclusion, under the same dietary available energy, although the diet of the high-fat group contained a high proportion of fat, it also contained a high content of cellulose, which effectively alleviated the weight gain and blood glucose and lipid abnormalities caused by the high-fat diet. However, there were still symptoms such as increased liver fat and impaired intestinal health, and the F/C in the diet of rats should not exceed 30%. This provides a theoretical reference for the appropriate proportion of macronutrients in the diet.

**Key words:** fat and carbohydrate energy supply ratio; fat metabolism; intestinal microbiota; rat

近年来,随着社会经济的发展和人民生活水平的提高,我国居民饮食结构发生了较大的变化。据报道,1982—2012年我国城乡居民谷类食物占总食物摄入量的比例显著降低,而动物性食物和热能性食物占总食物摄入量的比例显著升高<sup>[1]</sup>。能量摄入的增加以及营养物质摄入的不平衡会引发肥胖以及代谢综合征等<sup>[2]</sup>。进而可能发展为脂肪肝、糖尿病、癌症和心血管疾病等一系列并发症<sup>[3]</sup>。日常饮食中脂肪和碳水化合物的占比对脂质代谢和糖代谢均具有重要影响,甚至影响寿命<sup>[4]</sup>。然而,研究者在饮食中脂肪和碳水化合物的不同供能比对体重和健康的影响方面,仍存在分歧。Hall等(2015)报道<sup>[5]</sup>,饮食中限制碳水化合物的摄入,比限制脂肪摄入更能引起内分泌反应,促进肥胖患者减少体脂。而Hu等(2018)报道<sup>[6]</sup>,高脂饮食,而非高碳水化合物饮食,会导致能量

的过度摄入和体重增加。这种反应与5-HT受体的基因表达增加以及下丘脑中的多巴胺和阿片类信号通路有关。另一方面,有关饮食中宏量营养素配比对健康影响的研究,均需是在能量摄入一致的前提下进行,但大部分研究只考虑了总能,并未考虑有效能(饲料中的能量不能完全被动物利用,其中可被动物利用的能量称为有效能,即消化能或代谢能)。大鼠作为“为能而食”的动物,在保证相同有效能摄入的前提下,研究脂肪和碳水化合物不同供能比对机体的影响更有意义。

肠道微生物影响着宿主的代谢平衡,调节能量吸收、肠道运动、食欲、糖和脂质代谢、免疫功能等<sup>[7]</sup>。近年来研究发现,肠道菌群在代谢综合征的发病机制中发挥着重要作用<sup>[8]</sup>。Le Chatelier等(2013)报道<sup>[9]</sup>,肠道微生物多样性低的人群更易患肥胖、胰岛素抵抗和血脂异常。

有研究报道,肥胖与否与肠道微生物中拟杆菌门和厚壁菌门的相对丰度变化有关,这些变化会影响肠道菌群的代谢潜力<sup>[10]</sup>,通过改变饮食,这一相对变化也会随着体重的变化而改变<sup>[11]</sup>。可见,肠道微生物的组成和功能与饮食密切相关。然而,有关饮食中脂肪和碳水化合物的占比对肠道微生物菌群的影响罕见报道。因此,本研究旨在以膳食有效能(代谢能)一致的前提下,研究饮食中不同脂肪和碳水化合物供能比对大鼠脂肪代谢和肠道菌群的影响,以期为人类膳食中适宜的宏量营养素配比提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

肝脏甘油三酯(TG)检测试剂盒和总胆固醇(TC)检测试剂盒:南京建成生物工程研究所;RNA提取及反转录试剂盒:宝生物(大连)有限公司;实时荧光定量PCR试剂盒:ABI公司(美国)。

Synergy™ HT酶标仪: Biotek公司,美国;Centrifuge-5810R型高速冷冻离心机、核酸测定仪: Eppendorf公司,德国;罗氏生化分析仪: Roche公司,瑞士;全自动氧弹量热仪: Parr6300,美国;荧光定量PCR仪: ABI7500,美国;全自动凝胶成像系统: BIO-RAD公司,美国。

### 1.2 试验设计

试验采用64只8周龄无特定病原体(specified pathogen free, SPF)级雄性SD大鼠(购自北京维通利华实验动物技术有限公司),体重(325.69±2.45)g。预试期7d结束后,将大鼠随机分成4组,每组8个重复,每个重复2只。四组分别为:HFf组(高油高纤维组;脂肪与碳水化合物供能比(F/C)为40%:45%)、MFf组(中油中纤维组;F/C为31%:54%)、LFf组(低油低纤维组;F/C为21%:64%)和CON组(对照饲料)。大鼠饲料由南通特洛菲饲料科技有限公司提供,维生素、矿物质预混料依照AIN-93G标准饲料配方设计,各组试验饲料有效能(代谢能)一致,试验饲料组成及营养水平见表1。

表1 饲料组成及营养水平(风干基础)<sup>1,2</sup>  
Table 1 Ingredients and nutrient composition of the experimental diets (as-fed basis)<sup>1,2</sup>

项目	HFf	MFf	LFf	CON
原料/(g/kg)				
玉米淀粉	51	193	323	455
酪蛋白	200	200	200	200
大豆油	205	150	100	50
蔗糖	100	100	100	100
糊精	132	132	132	132
纤维素	262	175	94	13
维生素预混料 <sup>3</sup>	10	10	10	10
矿物质预混料 <sup>3</sup>	35	35	35	35
L-胱氨酸	3	3	3	3
氯化胆碱	2.5	2.5	2.5	2.5
合计	1 000	1 000	1 000	1 000
总能/(kcal/g)	4.88	4.69	4.41	4.12
消化能/(kcal/g)	3.83	3.93	3.99	3.99
代谢能/(kcal/g)	3.78	3.89	3.94	3.93
粗蛋白/(g/100 g)	20.28	18.40	19.36	18.96
粗脂肪/(g/100 g)	19.88	15.95	11.33	5.78
碳水化合物/(g/100 g)	33.06	46.30	54.80	68.53
粗纤维/(g/100 g)	23.76	16.31	11.40	3.55
灰分/(g/100 g)	3.02	3.04	3.12	3.18

注:<sup>1</sup>HFf表示高油高纤维组;脂肪与碳水化合物供能比为40%:45%。MFf表示中油中纤维组;脂肪与碳水化合物供能比为31%:54%。LFf表示为低油低纤维组;脂肪与碳水化合物供能比为21%:64%。CON表示为对照饮食。

<sup>2</sup>饲料营养水平均为实测值。

<sup>3</sup>维生素预混料为每千克饲料提供VA 4 000 IU、VD 1 000 IU、VE 75 IU、VK 0.9 mg、VB<sub>1</sub> 5 mg、VB<sub>2</sub> 6 mg、VB<sub>3</sub> 30 mg、VB<sub>5</sub> 15 mg、VB<sub>6</sub> 6 mg、胆碱 1 000 mg、叶酸 2 mg、生物素 0.2 mg、VB<sub>12</sub> 0.025 mg。矿物质预混料为每千克饲料提供:Ca 5 000 mg、P 3 000 mg、K 3 600 mg、Na 1 039 mg、Mg 513 mg、Fe 45 mg、Zn 38 mg、Mn 10 mg、Cu 6 mg、I 0.2 mg、Cr 1 mg、S 300 mg、Cl 1 631 mg。

Note: <sup>1</sup>HFf, high fat and fiber diet, Fat : Carbohydrate 40% : 45%; MFf, medium fat and fiber diet, Fat : Carbohydrate 31% : 54%; LFf, low fat and fiber diet, Fat : Carbohydrate 21% : 64%; CON, control diet.

<sup>2</sup>The nutrition compositions of the diets were determined values.

<sup>3</sup>The vitamin premix provided the following per Kg of the diet: VA 4 000 IU, VD 1 000 IU, VE 75 IU, VK 0.9 mg, VB<sub>1</sub> 5 mg, VB<sub>2</sub> 6 mg, VB<sub>3</sub> 30 mg, VB<sub>5</sub> 15 mg, VB<sub>6</sub> 6mg, choline 1 000 mg, folic acid 2 mg, biotin 0.2 mg, VB<sub>12</sub> 0.025 mg. The mineral premix provided the following per Kg of the diet: Ca 5 000 mg, P 3 000 mg, K 3 600 mg, Na 1 039 mg, Mg 513 mg, Fe 45 mg, Zn 38 mg, Mn 10 mg, Cu 6 mg, I 0.2 mg, Cr 1 mg, S 300 mg, Cl 1 631 mg.

### 1.3 动物饲养管理

大鼠饲养于SPF实验动物房(国家粮食和物资储备局科学研究院,北京)的独立送风笼具

( Individual Ventilated Cage, IVC ) 中。饲养温度 ( 23±2 ) °C, 相对湿度在 50% 左右, 12 h/12 h 光照日夜循环。大鼠自由采食和饮水。代谢试验测定各组饲料代谢能。每周测定各组大鼠的禁食体重和采食量。试验期为 9 周。

#### 1.4 试验方法

##### 1.4.1 能量及营养成分测定

代谢试验<sup>[12]</sup>采用 8 周龄 SD 大鼠, 根据日粮分为 4 组, 分别饲喂 HFf 组、MFf 组、Lff 组和 CON 组试验日粮, 每组 8 个重复, 每个重复 1 只大鼠。使用大鼠专用代谢笼, 饲养室温度 ( 22±2 ) °C, 相对湿度 50%, 12 h 循环日夜光照, 试验期 7 d, 其中适应期 3 d, 正试期 4 d。正试期每天 08:00 和 20:00 收集 2 次粪便和尿液。在收集的粪便上喷洒 0.5 mol/L 的硫酸, 防止含氮化合物分解及挥发, 在 65 °C 下干燥 48 h, 研磨并冷冻储存于 -20 °C 备用。收集的尿样中加入 2 mL 0.1 mol/L 盐酸溶液, 并将其储存在 4 °C 的冰箱中。饲料总能、代谢试验尿能和粪能采用氧弹量热仪测定, 饲料的代谢能 ( ME ) = [ 饲料总能 - ( 粪能 + 尿能 ) ] / 采食量。粗纤维含量根据 GB/T 6433—2006 《饲料中粗脂肪的测定》标准测定, 粗灰分含量根据 GB/T 6438—2007 《饲料中粗灰分的测定》标准测定, 粗蛋白质含量根据 GB/T 6432—2018 《饲料中粗蛋白的测定 凯氏定氮法》标准测定, 粗脂肪含量根据 GB/T 6433—2006 《饲料中粗脂肪的测定》标准测定, 水分含量按 GB/T 6435—2014 《饲料中水分的测定》方法测定。

##### 1.4.2 血清和组织样品采集

每周记录体重和采食量。试验结束时, 所有大鼠禁食 12 h 后称重, 采用二氧化碳窒息致死, 心脏取血。室温静置 4 h, 待血清析出后, 4 °C 下 3 000 r/min 离心 10 min, 分离血清, 冻存于 -20 °C 待测。采集血样后, 测定体长 ( 从鼻子到肛门的长度 ), 解剖分离大鼠肾脏、胃、脾脏、肝脏和腹部脂肪, 称重后计算器官指数。样品称重后迅速放液氮中冷冻, 并保存于 -80 °C 冰箱待测。

##### 1.4.3 脂肪代谢指标检测

采用全自动生化分析仪检测血清中总甘油三酯 ( triglyceride, TG )、总胆固醇 ( total cholesterol,

TC)、高密度脂蛋白胆固醇 ( high density lipoprotein cholesterol, HDLC )、低密度脂蛋白胆固醇 ( low density lipoprotein cholesterol, LDLC )、葡萄糖 ( Glucose, GLU ) 和尿素氮 ( urea nitrogen, UN ) 的含量。根据试剂盒提供方法, 进行匀浆离心取上清, 采用酶标仪测定肝脏中 TG 和 TC 含量, 腹脂瘦素 ( leptin, LEP ) 和脂联素 ( adiponectin, ADT )。

##### 1.4.4 肝脏脂肪代谢相关因子 mRNA 表达量

用 RNA 提取试剂盒 ( TAKALA ) 提取肝脏总 RNA, 用测定 RNA 浓度, 并按 TAKALA 试剂盒说明反转录为 cDNA 保存于 -20 °C 备用。根据 NCBI 上获得的基因序列设计引物, 引物序列如表 2。荧光定量 PCR 采用 ABI 公司的 SYBR Green 荧光定量染料法试剂盒, 采用 ABI 7500 进行 PCR 反应。实时荧光定量 PCR 反应条件分别为: 95 °C 10 min、95 °C 15 s、60 °C 1 min 共 40 个循环; 95 °C 15 s、60 °C 1 min、95 °C 30 s、60 °C 15 s。PCR 反应体系为: cDNA 2 μL、M ix 10 μL, 前引物和后引物各 0.8 μL, 加水至总体积 20 μL。以内参基因磷酸甘油醛脱氢酶 ( glyceraldehyde-phosphate dehydrogenase, GAPDH ) 表达量为参比, 目的基因相对表达量以  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  表示。

表 2 实时 PCR 引物序列  
Table 2 Real-time PCR primer sequences

引物名称	引物序列	合成基因片段大小/bp
GAPDH	F 5'-GGTTGTCTCCTGCGACTTCA-3' R 5'-TGGTCCAGGGTTTCTTACTCC-3'	183
PPAR $\gamma$	F 5'-TGTGGACCTCTCTGTGATGG-3' R 5'-AGCTCTTGTGAACGGGATGT-3'	118
G6Pase	F 5'-ATCTACAATGCCAGCCTCCA-3' R 5'-GCCTTCTCCAAAGTCCACAG-3'	122
CD36	F 5'-CCAGAACCCAGACAACCACT-3' R 5'-CACAGGCTTTCCTTCTTTGC-3'	106
ACC	F 5'-GTGGAAGTGAAGGCACAGT-3' R 5'-CTATCACAGAGCGGACACCA-3'	109
SREBP1	F 5'-GCACAGCAACCAGAACTCA-3' R 5'-TCATGCCCTCATAGACACA-3'	128
PEPCK	F 5'-GTGATGACATTGCCTGGATG-3' R 5'-TTAATGGCGTTCCGATTTGT-3'	121

##### 1.4.5 肝脏和肠道组织学检测

取肝脏左叶部分组织和回肠末端 1 cm, 固定

于 10%福尔马林中 24 h, 而后进行石蜡包埋、切片、脱蜡和苏木精-伊红染色<sup>[13]</sup>, 待测肠道绒毛高度和隐窝深度。

#### 1.4.6 盲肠肠道菌群的检测

采用金唯智生物科技有限公司的高通量测序技术对盲肠食糜微生物区系进行分析, 主要包括 DNA 提取、16S rDNA PCR 扩增、扩增子测序和序列数据处理<sup>[13]</sup>。采用 Shannon 指数、Simpson 指数、Chao1 指数和 ACE 指数分析肠道菌群物种的 alpha 多样性, 并在门和属水平上比较优势细菌的相对丰度。

#### 1.5 数据分析

试验数据用平均值±标准差表示, 采用 SAS (9.0) 统计软件中的 one-way ANOVA 过程进行单因素方差分析,  $P < 0.05$  代表具有统计学差异。

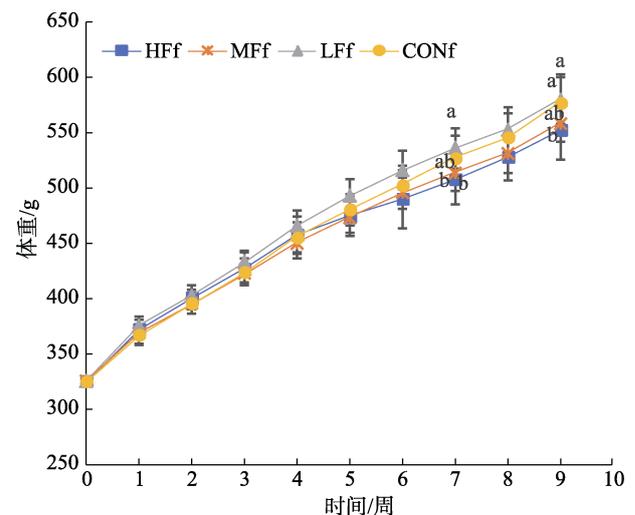
### 2 结果与讨论

#### 2.1 脂肪与碳水化合物不同供能比对大鼠体重及器官指数的影响

大鼠体重增长曲线如图 1 所示。从第 1 到第 6 周, 各组大鼠体重无显著差异 ( $P > 0.05$ )。随着喂养时间的增加, 体重持续增加。试验第 7 周, Lf 组大鼠体重显著高于 HFf 组和 MFf 组 ( $P < 0.05$ )。喂养至第 9 周, Lf 组和 CON 组大鼠体重显著高于 HFf 组和 MFf 组 ( $P < 0.05$ ), Lf 组和 CON 组间大鼠体重无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

由此可见, 在饲料代谢能相近的前提下, 高脂饮食中加入高纤维, 对控制体重有一定作用。

由表 3 可知, 在试验结束时, Lf 组和 CON 组大鼠的体重显著高于 HFf 组和 MFf 组 ( $P < 0.05$ )。由于大鼠“为能而食”的生理特性, 各组大鼠的日采食量之间无显著差异 ( $P > 0.05$ )。Lf 组大鼠的腹脂率显著高于 HFf 组和 CON 组 ( $P < 0.05$ )。各组饮食对肝脏指数无显著影响 ( $P > 0.05$ )。



注: 相同时间点, 无字母或有相同字母表示差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 有不同小写字母标注表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。下图同。

Note: At the same time point, values with no letters or the same letters have no significant difference ( $P > 0.05$ ), and values with different uppercase letters are significantly different ( $P < 0.05$ ). The following figures are the same.

图 1 脂肪与碳水化合物不同供能比对大鼠每周体重的影响

Fig.1 Effect of energy ratios of fat to carbohydrate on the weekly body weight in rats

表 3 脂肪与碳水化合物不同供能比对大鼠体重、采食量和器官指数的影响

Table 3 Effect of energy ratios of Fat to carbohydrate on the body weight, feed intake and organ indexes in rats

项目	HFf	MFf	Lf	CON	P-value
初重/g	325.00±2.63	325.69±2.45	325.50±3.42	324.94±2.80	0.938 5
末重/g	552.04±26.28 <sup>b</sup>	558.48±17.19 <sup>ab</sup>	579.98±22.01 <sup>a</sup>	577.54±21.96 <sup>a</sup>	0.040 8
日采食/g	17.93±1.02	17.66±0.93	18.30±0.73	18.15±1.04	0.549 6
肝脏指数/%	3.68±0.35	3.64±0.42	3.73±0.35	3.52±0.34	0.706 8
腹脂率/%	2.04±0.44 <sup>b</sup>	2.10±0.38 <sup>ab</sup>	2.49±0.46 <sup>a</sup>	1.85±0.28 <sup>b</sup>	0.024 3

注: 同行数据, 无标注字母或有相同字母表示差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 有不同小写字母标注表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。下表同。

Note: Values with no letter or the same letters have no significant difference ( $P > 0.05$ ), and values with different uppercase letters are significantly different ( $P < 0.05$ ). The following tables are the same.

#### 2.2 脂肪与碳水化合物不同供能比对大鼠脂肪代谢相关指标的影响

血清血糖血脂及肝脏 TC 和 TG、LEP 和 ADT 的测定结果见表 4。不同处理饮食对血清 BUN、

血清总胆固醇 TC、血清 HDLC、血清 LDLC 和 GLU 无显著影响 ( $P > 0.05$ ); 相比 CON 组, Lf 组、HFf 组和 MFf 组血清 TG 水平均显著下降 ( $P < 0.05$ )。HFf 组的肝脏 TG 显著高于其他三组 ( $P <$

0.05)，HFf 组和 LFf 组的肝脏 TC 高于 MFf 组和 CON 组 ( $P < 0.05$ )。然而，HFf 组腹脂 LEP 显著低于其他三组，MFf 组和 LFf 组最高 ( $P < 0.05$ )；并且，HFf 组的腹脂 ADT 水平最高，腹脂脂联素水平依次为 HFf 组>CON 组>LFf 组>MFf 组 ( $P < 0.05$ )。由此可见，HFf 组饮食对肝脏和腹部的脂肪代谢影响较大，对血糖和血脂水平影响较小。前期研究发现，高脂饮食导致血清 TG、

TC、HDLC 和 LDLC 水平上升<sup>[14]</sup>。然而，高纤维低脂饮食会降低血清 LDL 和 TG 水平，而血清脂联素水平增加，瘦素水平下降。脂联素和瘦素分泌失调对肥胖相关代谢病会有影响，膳食纤维素的摄入影响血液脂联素水平<sup>[15]</sup>。本研究发现，高脂膳食中增加纤维素的摄入，有控制血糖和血脂水平的作用，尤其对降低血清 TG 水平有利，但无法改善肝脏中的脂肪代谢异常。

表 4 脂肪与碳水化合物不同供能比对大鼠血脂、肝脂和腹脂生化指标的影响  
Table 4 Effect of energy ratios of fat to carbohydrate on the blood fat, hepatic fat and abdominal fat in rats

项目	HFf	MFf	LFf	CON	P-value
血清/(mmol/L)					
血清甘油三酯	0.52±0.05 <sup>C</sup>	0.74±0.08 <sup>B</sup>	0.55±0.05 <sup>C</sup>	0.92±0.10 <sup>A</sup>	< 0.000 1
血清总胆固醇	1.88±0.26	1.85±0.43	2.06±0.38	1.92±0.25	0.534 3
血清高密度脂蛋白胆固醇	1.75±0.27	1.69±0.32	1.56±0.33	1.43±0.10	0.090 2
血清低密度脂蛋白胆固醇	0.35±0.12	0.34±0.08	0.40±0.09	0.32±0.14	0.514 7
血糖	5.82±0.62	6.34±0.69	5.99±0.73	6.34±0.55	0.609 9
血清尿素氮	4.39±0.59	4.17±0.37	4.43±0.40	4.30±0.62	0.630 0
肝脏甘油三酯/(mmol/gprot)	0.16±0.02 <sup>a</sup>	0.12±0.03 <sup>b</sup>	0.11±0.04 <sup>b</sup>	0.12±0.03 <sup>b</sup>	0.035 1
肝脏总胆固醇/(μmol/gprot)	73.17±7.57 <sup>a</sup>	63.20±3.75 <sup>b</sup>	75.59±7.97 <sup>a</sup>	64.45±8.46 <sup>b</sup>	0.014 9
腹脂瘦素/(ng/g)	6.12±0.68 <sup>C</sup>	11.80±1.80 <sup>A</sup>	11.15±0.69 <sup>A</sup>	9.15±0.91 <sup>B</sup>	< 0.000 1
腹脂脂联素/(ug/g)	53.86±2.83 <sup>A</sup>	24.98±4.18 <sup>D</sup>	31.10±4.70 <sup>C</sup>	38.56±2.38 <sup>B</sup>	< 0.000 1

### 2.3 脂肪与碳水化合物不同供能比对大鼠肝脏脂代谢相关基因 mRNA 相对表达量的影响

肝脏是脂肪代谢的重要场所，由 2.2 结果可知，高脂饮食会引起肝脏脂肪酸代谢紊乱，研究脂肪与碳水化合物不同供能比对大鼠肝脏脂代谢相关基因的表达量（表 5），可以一定程度上解释其作用的原因。我们研究结果发现，四种饮食模式下，相比 CON 组，HFf 组的肝脏乙酰辅酶 a 羧化酶基因（acetyl CoA carboxylase, ACC）表达量降低，而 MFf 组和 LFf 组的大鼠肝脏 ACC 相对表达量提高。ACC 在脂肪酸的代谢中起重要作用，催化乙酰辅酶 A 生成丙二酰单酰辅酶 A。HFf 组脂肪酸转运酶（fatty acid translocase, FAT/CD36）表达量显著高于其他三组 ( $P < 0.05$ )。固醇调节元件结合蛋白（sterol-regulatory element binding proteins, SREBP1）是调节动物体内脂肪合成的重要因子，它通过调节与脂肪生成相关酶的基因转录而调节这些酶的活性，从而控制脂肪合成。本研究中，HFf 组和 MFf 组大鼠肝脏

SREBP1 基因的表达量显著高于 CON 组 ( $P < 0.05$ )。CD36 在肝脏脂肪生成中起着重要作用，高脂饮食导致其表达量升高诱导肥胖。

胆固醇代谢方面，与 CON 组相比，HFf 组、MFf 组和 LFf 组的大鼠肝脏胆固醇 7 $\alpha$ -羟化酶（cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase, CYP7A1）基因表达量显著增高 ( $P < 0.05$ )。CYP7A1 作为促使肝脏胆固醇生成胆汁酸的限速酶，能够加速胆固醇转化为胆汁酸，减少胆汁酸的重吸收并促进排泄，有降血胆固醇的作用<sup>[16]</sup>。HFf 组、MFf 组和 LFf 组的大鼠肝脏羟甲基戊二酸单酰辅酶 A（Hydroxymethylglutaryl CoA, HMG-CoA）基因表达量与 CON 组相比显著提高 ( $P < 0.05$ )。HMG-CoA 是体内胆固醇生物合成过程中的限速酶，是调脂药物的重要靶点。过氧化物酶体增殖物激活受体（peroxisome proliferators-activated receptors, PPARs） $\gamma$  是调节目标基因表达的核内受体转录因子超家族成员，是脂肪细胞分化过程中的关键因子，可促使成纤维细胞或骨髓间充质

干细胞向脂肪细胞分化<sup>[17]</sup>。本研究中,大鼠肝脏 PPAR $\gamma$  基因表达量在四组间的顺序为 HFf 组>MFf 组>LFf 组>CON 组。AMP 依赖蛋白激酶(Adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK)是生物能量代谢调节的关键因子,是机体保持葡萄糖平衡所必需的物质。HFf 组和 MFf 组与

LFf 组和 CON 组相比,AMPK 的相对表达量均有所下降( $P < 0.05$ )。当 AMPK 的表达被抑制时,会抑制分解代谢并促进合成代谢。与本试验结果类似,Saha 和 Reimer 研究发现,高纤维饮食可引起肝脏 ACC、SREBP1、AMPK、HMG-CoA 和 CYP7A1 基因相对表达量升高<sup>[18]</sup>。

表 5 脂肪与碳水化合物不同供能比对大鼠肝脏脂肪代谢相关基因 mRNA 相对表达量的影响

Table 5 Effect of energy ratios of fat to carbohydrate on the mRNA relative expression of hepatic fat metabolism-related genes in rats

项目	HFf	MFf	LFf	CON	P-value
ACC	0.36±0.06 <sup>C</sup>	2.43±0.61 <sup>A</sup>	2.96±0.72 <sup>A</sup>	1.00±0.14 <sup>B</sup>	<0.000 1
CD36	2.17±0.64 <sup>A</sup>	1.15±0.15 <sup>B</sup>	0.62±0.02 <sup>C</sup>	1.00±0.08 <sup>BC</sup>	<0.000 1
SREBP1	3.38±0.63 <sup>A</sup>	1.57±0.10 <sup>B</sup>	1.11±0.38 <sup>BC</sup>	1.02±0.21 <sup>C</sup>	<0.000 1
CYP7A1	4.04±0.36 <sup>A</sup>	3.82±0.28 <sup>A</sup>	2.86±0.31 <sup>B</sup>	1.02±0.22 <sup>C</sup>	<0.000 1
HMG-CoA	1.61±0.20 <sup>B</sup>	1.95±0.32 <sup>A</sup>	1.55±0.14 <sup>B</sup>	1.01±0.16 <sup>C</sup>	<0.000 1
PPAR $\gamma$	3.03±0.55 <sup>A</sup>	2.30±0.52 <sup>B</sup>	1.74±0.29 <sup>C</sup>	1.00±0.08 <sup>D</sup>	<0.000 1
AMPK	0.73±0.08 <sup>B</sup>	0.66±0.09 <sup>B</sup>	0.89±0.06 <sup>A</sup>	1.01±0.17 <sup>A</sup>	0.000 4

注: ACC, acetyl CoA carboxylase; CD36, 脂肪酸转运酶; SREBP1, 固醇调节元件结合蛋白; CYP7A1, 胆固醇 7 $\alpha$ -羟化酶; HMG-CoA, 羟甲基戊二酸单酰辅酶 A; PPAR $\gamma$ , 过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$ ; AMPK, AMP 依赖蛋白激酶。

Note: ACC, 乙酰辅酶 a 羧化酶; CD36, fatty acid translocase; SREBP1, sterol-regulatory element binding proteins; CYP7A1, cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase ; HMG-CoA, Hydroxymethylglutaryl CoA; PPAR $\gamma$ , peroxisome proliferators-activated receptors; AMPK, Adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase.

上述结果表明,由高 F/C 比例引起的大鼠肝脏脂肪升高和脂肪代谢异常可能是通过影响肝脏脂肪合成与转运,以及胆固醇合成相关基因表达而调控的。

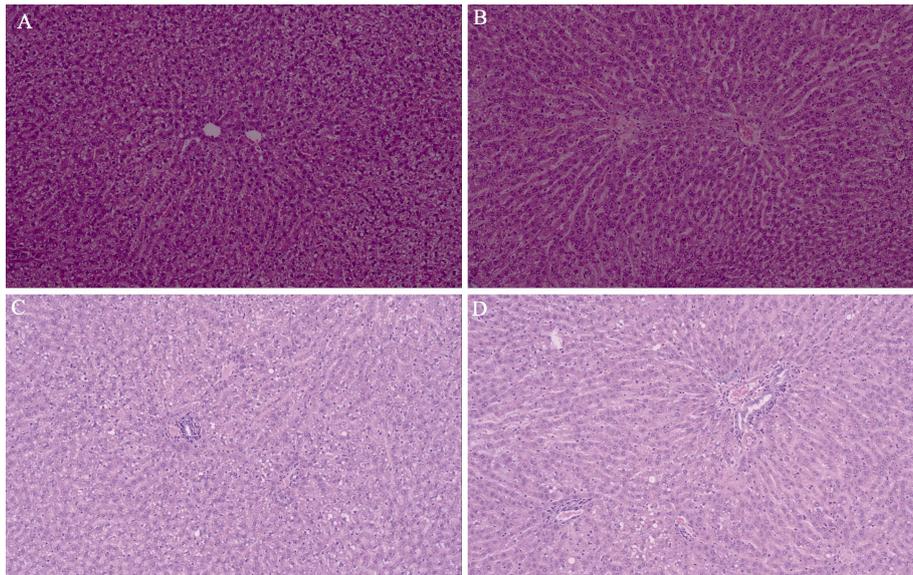
## 2.4 脂肪与碳水化合物不同供能比对大鼠肝脏病理学分析的影响

根据 HE 染色观察不同饮食处理下大鼠肝脏形态。每组选取 8 只大鼠肝脏样品,每只大鼠肝脏切片选取  $n \geq 3$  张典型视野进行观察,如图 2 所示。杨莹<sup>[19]</sup>研究了不同脂肪和碳水化合物供能比(41% : 44%、31% : 54%、21% : 64%和 11% : 74%)对大鼠肝脏脂肪代谢的影响,各组饲料纤维素含量一致,但以有效能摄入一致为前提进行配对饲喂,当饮食中脂肪和碳水化合物供能比为 41% : 44%和 31% : 54%时,大鼠肝脏出现脂肪变性,其变性程度达 30%左右;当脂肪和碳水化合物供能比为 21% : 64%时,脂肪变性程度达到 66%,汇管区出现中度炎症,肝组织有破坏。而本研究结果发现,与 CON 组相比,HFf

组、MFf 组和 LFf 组的大鼠肝脏形态分析无明显变性,形态正常,表明当饮食中脂肪含量高时,同时添加一定量的纤维素对脂肪变性有抑制作用。

## 2.5 脂肪与碳水化合物不同供能比对大鼠肠道绒毛形态的影响

高纤维饮食可能影响营养物质消化吸收<sup>[20]</sup>。也有研究发现,喂养大鼠高脂肪膳食可改变小肠形态,使绒毛高度增加、隐窝深度降低<sup>[21]</sup>。杨莹<sup>[19]</sup>研究发现,以有效能摄入一致为前提进行配对饲喂,当饮食中脂肪和碳水化合物供能比为 41% : 44%时,大鼠回肠绒毛高度与对照组相比显著降低,隐窝深度增加,绒毛高度与隐窝深度的比例降低。而本研究发现(表 6),相比 CON 组,HFf 组、LFf 组和 MFf 组大鼠回肠绒毛高度和隐窝深度均降低( $P < 0.05$ ),HFf 组和 MFf 组的绒毛高度/隐窝深度比例与其他两组相比降低( $P < 0.05$ )。可见,饮食中脂肪含量高会影响肠道绒毛发育。



注：图 A 为 HFf 组大鼠肝脏组织切片，B 为 MFf 组大鼠肝脏组织切片，C 为 LFf 组大鼠肝脏组织切片，D 为 CON 组大鼠肝脏组织切片。

Note: Hepatic sections in rats of: A, HFf group; B, MFf group; C, LFf group; D, CON group.

图 2 脂肪与碳水化合物不同供能比对大鼠肝脏组织病理学的影响 (×100)

Fig.2 Effect of energy ratios of fat to carbohydrate on hepatic histopathology in rats

表 6 脂肪与碳水化合物不同供能比对大鼠回肠绒毛形态的影响

Table 6 Effect of energy ratios of fat to carbohydrate on ileal villi morphology in rats

项目	HFf	MFf	LFf	CON	P-value
绒毛高/ $\mu\text{m}$	211.30±19.60 <sup>B</sup>	220.27±46.63 <sup>B</sup>	234.11±16.80 <sup>B</sup>	302.39±38.86 <sup>A</sup>	<0.000 1
隐窝深/ $\mu\text{m}$	128.76±11.27 <sup>B</sup>	115.74±23.13 <sup>C</sup>	126.09±13.87 <sup>BC</sup>	143.69±17.98 <sup>A</sup>	0.000 1
绒毛高/隐窝深	1.68±0.21 <sup>B</sup>	1.72±0.08 <sup>B</sup>	1.97±0.24 <sup>A</sup>	2.09±0.16 <sup>A</sup>	0.006 7

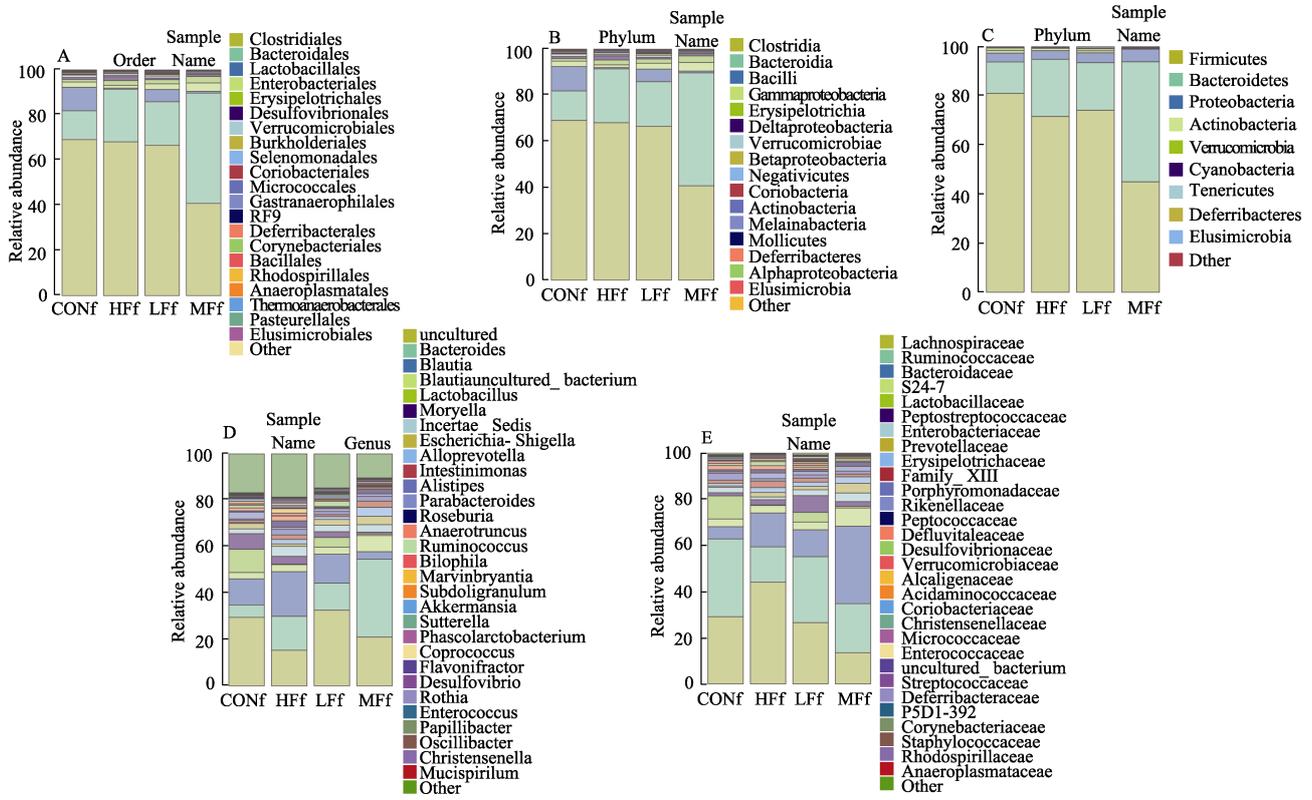
## 2.6 脂肪与碳水化合物不同供能比对大鼠肠道菌群组成的影响

根据 OTU 对应的物种分类信息，采用 RDP classifier 对样品进行菌群组成分析。采用 Qiime (1.9.1) 软件进行分析，如图 3 所示。肠道微生物群与肥胖和脂质代谢密切相关<sup>[22]</sup>。本研究发现，与 CON 组相比，HFf 组、MFf 组和 LFf 组的盲肠微生物在门水平上，厚壁菌门 (Firmicutes) 相对丰度均下降，而拟杆菌门 (Bacteroidetes) 丰度上升。纲 (Class) 水平上，HFf 组和 LFf 组 Clostridia 与对照组相比无变化，而 MFf 组的梭状芽胞杆菌纲 (Clostridia) 菌的相对丰度低于对照组，拟杆菌纲 (Bacteroidia) 菌丰度高于对照组。HFf 组、MFf 组和 LFf 组的芽胞杆菌纲 (Bacilli) 均低于 CON 组。目 (Order) 水平上分析，相比 CON 组，HFf 组、MFf 组和 LFf 组的拟杆菌目 (Bacteroidales) 相对丰度增加，而三组乳杆菌目

(Lactobacillales) 的相对丰度明显下降。科 (Family) 水平上，HFf 组相比 CON 组，毛螺科菌 (Lachnospiraceae) 相对丰度上升 15%；而 LFf 组和 MFf 组相比 CON 组，Lachnospiraceae 相对丰度下降分别为 3%、16%；相比 CON 组，HFf 组、MFf 组和 LFf 组的拟杆菌科 (Bacteroidaceae) 均有所上升，然而三组的乳杆菌科菌 (Lactobacillaceae) 和瘤胃菌科菌 (Ruminococcaceae) 相对丰度下降。属 (Genus) 水平上，与 CON 组相比，HFf 组、MFf 组和 LFf 组的拟杆菌属 (Bacteroides) 相对丰度增加，潜在致病菌拟普雷沃菌 (Alloprevotella) 增加；有益菌乳杆菌属 (Lactobacillus)、莫拉菌属 (Moryella)、阿克曼菌 (Akkermansia) 相对丰度均降低。这与前人报道类似，高脂饮食小鼠肠道菌群苏黎世杆菌科、Moryella、毛螺菌科、阿克曼菌的相对丰度降低，拟杆菌属相对丰度增加，代谢功能发生改变<sup>[23]</sup>。乳杆菌具有控制体重

和减肥作用<sup>[24]</sup>。阿克曼菌为肠黏膜提供营养，对维持肠黏膜完整性具有重要作用；另外，给小鼠

饲喂高糖高脂饮食，该菌属降低，但以口服方式补充阿克曼菌可减轻小鼠肥胖症状<sup>[25]</sup>。



注：图 A、B、C、D 和 E 分别表示脂肪和碳水化合物不同供能比大鼠盲肠微生物在门、纲、目、科和属水平上组成的相对丰度。  
 Note: Figure A, B, C, D and E represent the relative abundances for phylum, class, order, family and genus in cecal microbiota in rats fed diets with different energy ratios of fat to carbohydrate, respectively.

图 3 脂肪与碳水化合物不同供能比对大鼠盲肠菌群组成的影响  
 Fig. 3 Effect of energy ratios of Fat to carbohydrate on cecal composition of microbiota in rats

### 3 结论

在饲粮有效能（代谢能）一致的前提下，饲粮 F/C 为 40% : 45% 时，肝脏 TG、TC，腹脂 ADT 水平都显著增高、腹脂瘦素水平降低，肝脏 ACC 表达量降低，脂肪酸转运因子 FAT/CD36 和脂肪合成相关因子 SREBP1 增高。饮食中脂肪供能比为 40% : 45%、31% : 54% 和 21% : 64% 时，与对照组相比，胆固醇合成相关因子 HMG-CoA 表达量增高，且脂肪细胞分化因子 PPAR $\gamma$  表达量随饮食中脂肪含量增加呈剂量依赖型增高。另外，饮食中 F/C 高时（40% : 45% 和 31% : 54%），肠道绒毛发育受损，肠道中有益菌属丰度降低，潜在致病菌属丰度增加。有趣的是，在饲粮有效能（代谢能）一致的前提下，饲粮中 F/C 分别为 21% : 64%、31% : 54% 和 40% : 45% 时，饲粮中纤维素含量相应增加，抑制了大鼠体重的增长，并使其

血糖和血脂保持稳定，且抑制了由高脂引起的肝脏脂肪变性。因此，在有效能一致的前提下，高脂组虽然饮食中脂肪占比高，但同时纤维素含量高，这有效缓解了由高脂饮食引起的体重增加和血糖血脂异常，但仍然存在肝脏脂肪升高和肠道健康受损等症状，大鼠饮食中 F/C 不宜超过 30%。

### 参考文献：

[1] 李小辉, 魏思昂, 陈树嘉, 等. 中国城乡居民饮食结构改变与心血管疾病相关性分析[J]. 中国食物与营养, 2023, 29(2): 81-84+89.  
 LI X H, WEI S A, CHEN S J, et al. Correlation analysis of dietary structure changes and cardiovascular diseases of chinese urban and rural residents [J]. Food and Nutrition in China, 2023, 29(2): 81-84+89.

[2] GUYENET S J, SCHWARTZ M W. Regulation of food intake, energy balance, and body fat mass: implications for the pathogenesis and treatment of obesity[J]. The Journal of Clinical

- Endocrinology & Metabolism, 2012, 97(3): 745-755.
- [3] LUMENG C N, SALTIEL A R. Inflammatory links between obesity and metabolic disease[J]. The Journal of Clinical Investigation, 2011, 121(6): 2111-2117.
- [4] STEIN P K, SOARE A, MEYER T E, et al. Caloric restriction may reverse age-related autonomic decline in humans[J]. Aging Cell, 2012, 11(4): 644-650.
- [5] HALL K D, BEMIS T, BRYCHTA R, et al. Calorie for calorie, dietary fat restriction results in more body fat loss than carbohydrate restriction in people with obesity[J]. Cell Metabolism, 2015, 22(3): 427-436.
- [6] HU S, WANG L, YANG D, et al. Dietary fat, but not protein or carbohydrate, regulates energy intake and causes adiposity in mice[J]. Cell Metabolism, 2018, 28(3): 415-431.
- [7] ÁLVAREZ J, FERNÁNDEZ REAL J M, GUARNER F, et al. Gut microbes and health[J]. Gastroenterología Y Hepatología, 2021, 44(7): 519-535.
- [8] SCHEITHAUER T P M, RAMPANELLI E, NIEUWDORP M, et al. Gut microbiota as a trigger for metabolic inflammation in obesity and type 2 diabetes[J]. Frontiers in Immunology, 2020, 11: 571731.
- [9] LE CHATELIER E, NIELSEN T, QIN J, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers[J]. Nature, 2013, 500(7464): 541-546.
- [10] TURNBAUGH P J, LEY R E, MAHOWALD M A, et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest[J]. Nature, 2006, 444(7122): 1027-1031.
- [11] LEY R E, TURNBAUGH P J, KLEIN S, et al. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity[J]. Nature, 2006, 444(7122): 1022-1023.
- [12] KIM E, CHOI J, KIM H. Mabolizable energy differences between values calculated using energy conversion factors and actual values determined by metabolic study of Korean starch foods[J]. Journal of Food Science, 2014, 79(4): H713-718.
- [13] WANG W, PAN Y, WANG L, et al. 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.
- [14] KONDO K, ISHIKADO A, MORINO K, et al. A high-fiber, low-fat diet improves periodontal disease markers in high-risk subjects: a pilot study[J]. Nutrition Research (New York, N.Y.), 2014, 34(6): 491-498.
- [15] EFTEKHARI M H, RAJAEIFARD A R, AHMADI A, et al. Effect of two isocaloric diets, low fat-high calcium and low fat-high fiber on weight reduction, lipid profile, and blood pressure[J]. Iranian Cardiovascular Research Journal, 2009, 3(4):200-206.
- [16] FAVA F, LOVEGROVE J A, GITAU R, et al. The gut microbiota and lipid metabolism: implications for human health and coronary heart disease[J]. Current Medicinal Chemistry, 2006, 13(25): 3005-3021.
- [17] ROSEN E D, SARRAF P, TROY A E, et al. PPAR gamma is required for the differentiation of adipose tissue in vivo and in vitro[J]. Molecular Cell, 1999, 4(4): 611-617.
- [18] SAHA D C, REIMER R A. Long-term intake of a high prebiotic fiber diet but not high protein reduces metabolic risk after a high fat challenge and uniquely alters gut microbiota and hepatic gene expression[J]. Nutrition Research, 2014, 34(9): 789-796.
- [19] 杨莹. 日粮油脂与碳水化合物供能比对大鼠脂肪代谢和肠道菌群影响[D]. 河南科技大学, 2017.  
YANG Y. Effects of energy supply ratios of fat and carbohydrate in diet on fat metabolism and intestinal microbiota in rats[D]. Henan University of Science and Technology, 2017.
- [20] SCHWARTZ S E, LEVINE G D, STARR C M. Effects of dietary fiber on intestinal ion fluxes in rats[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 1982, 36(6): 1102-1105.
- [21] SAGHER F A, DODGE J A, JOHNSTON C F, et al. Rat small intestinal morphology and tissue regulatory peptides: effects of high dietary fat[J]. The British Journal of Nutrition, 1991, 65(1): 21-28.
- [22] MILLION M, ANGELAKIS E, PAUL M, et al. Comparative meta-analysis of the effect of Lactobacillus species on weight gain in humans and animals[J]. Microbial Pathogenesis, 2012, 53(2): 100-108.
- [23] SUNG M M, KIM T T, DENOU E, et al. Improved glucose homeostasis in obese mice treated with resveratrol is associated with alterations in the gut microbiome[J]. Diabetes, 2017, 66(2): 418-425.
- [24] DRISSI F, MERHEJ V, ANGELAKIS E, et al. Comparative genomics analysis of Lactobacillus species associated with weight gain or weight protection[J]. Nutrition & Diabetes, 2014, 4(2): e109.
- [25] EVERARD A, BELZER C, GEURTS L, et al. Cross-talk between Akkermansia muciniphila and intestinal epithelium controls diet-induced obesity[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, 110(22): 9066-9071. 
- 备注：本文的彩色图表可从本刊官网（<http://lyspkj.ijournal.cn>）、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。