

内 分 泌

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002971

基于肠道菌群探讨热量限制防治
肥胖相关代谢性疾病的研究进展叶佳美¹, 钟冬灵¹, 李 涓¹, 赵小华¹, 庞日朝², 张安仁²

(1. 成都中医药大学养生康复学院, 成都 610075; 2. 中国人民解放军西部战区总医院康复医学科, 成都 610083)

【摘 要】肥胖及其相关代谢性疾病已成为全球范围内严重影响人类健康的疾病。研究发现, 菌群紊乱引起条件致病菌和有害细菌代谢产物增多, 参与肥胖相关代谢性疾病的发生发展。饮食是影响肠道菌群的关键因素之一。已有大量证据表明, 作为饮食干预方式之一, 热量限制可明显改善肥胖、糖尿病、非酒精性脂肪肝等代谢性疾病的症状, 而肠道菌群可能是其作用靶点之一。本文从肥胖、糖尿病和非酒精性脂肪肝的肠道菌群改变、热量限制对 3 种代谢性疾病的治疗效果以及肠道菌群在其中的介导作用 3 方面进行综述。

【关键词】热量限制; 肠道菌群; 肥胖; 糖尿病; 非酒精性脂肪肝; 代谢性疾病

【中图分类号】R589

【文献标志码】A

【收稿日期】2020-11-26

Research progress of caloric restriction in the prevention and treatment of
obesity related metabolic diseases based on gut microbiotaYe Jiamei¹, Zhong Dongling¹, Li Juan¹, Zhao Xiaohua¹, Pang Rizhao², Zhang Anren²

(1. School of Health and Rehabilitation, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine;

2. Department of Rehabilitation Medicine, The General Hospital of Western Theater Command PLA)

【Abstract】Obesity related metabolic diseases seriously affect human health all over the world. It's found that the disorder of gut microbiota leads to the increase of conditional pathogenic bacteria and harmful bacterial metabolites, which is involved in the occurrence and development of obesity related metabolic diseases. Diet is one of the important factors affecting gut microbiota. Caloric restriction as one of dietary intervention, a lot of evidence have proven that it can significantly improve the symptoms of metabolic diseases such as obesity, diabetes and nonalcoholic fatty liver disease. Gut microbiota may be one of its targets. Therefore, this paper reviews from such following three aspects as the changes of gut microbiota in obesity, diabetes and nonalcoholic fatty liver disease, the therapeutic effect of caloric restriction on these three metabolic diseases and the mediating role of gut microbiota in the process.

【Key words】caloric restriction; gut microbiota; obesity; diabetes; nonalcoholic fatty liver disease; metabolic disease

肥胖及其相关代谢性疾病是全世界最重要的公共卫生问题之一。据世界卫生组织报道, 2016 年, 18 岁及以上的成年人中, 超重及肥胖人数分别占 39%、13%; 2019 年有 3 800 万 5 岁以下儿童超重或肥胖^[1]。肥胖可诱发糖尿病、非酒精性脂肪肝等疾病, 严重影响个人的生活和工作。麦肯锡全球研究所报告称, 全球每年因肥胖导致的损失约为 2.0 万亿美元^[2]。

作者简介:叶佳美, Email: 2418163342@qq.com,

研究方向: 脊髓损伤康复的临床及基础研究。

通信作者:张安仁, Email: 1518526780@qq.com。

基金项目:国家自然科学基金面上资助项目(编号: 81973927)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20220105.1015.004.html>

(2022-01-06)

因此, 寻找一种经济有效的干预措施防治肥胖及其相关代谢性疾病至关重要。热量限制(caloric restriction, CR)即在不造成营养不良的情况下减少热量摄入, 已被证明是一种有效延缓衰老和防治慢性疾病的非药物干预方式^[3], 其实施方式包括 20%~40% CR 饮食、极低热量饮食(very low caloric diet, VLCD)和间歇性禁食(intermittent fasting, IF)等, 具有减轻体重, 改善脂质代谢、氧化应激、空腹血糖等作用。

既往研究发现, 肠道菌群在代谢性疾病中发挥重要作用, 菌群失调可致肠黏膜通透性增强, 促使更多的革兰阴性菌细胞壁主要成分——脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)进入血液循环, 机体呈现出全身性慢性低度炎症状态^[4], 这是代谢

性疾病的一个典型表现。近年来,已有研究证实 CR 可调节紊乱的肠道菌群,保护肠道上皮细胞并防止肠源性有害物质进入血液,改善代谢紊乱^[5]。可见,肠道菌群可能是 CR 防治代谢性疾病的作用机制之一。本文通过总结近年来肠道菌群在 CR 防治代谢性疾病中的研究进展,以期从肠道菌群角度为 CR 应用于代谢性疾病的防治提供新的理论依据。

1 CR 防治肥胖

1.1 肠道菌群与肥胖

宿主体内能量摄入超过消耗是导致肥胖的主要原因,而肠道菌群恰好参与了营养吸收和能量平衡的调节。基础研究结果表明,与瘦小鼠相比,肥胖小鼠肠道通透性明显增强,肠道菌群多样性降低,拟杆菌门减少约 50%,而厚壁菌门数量成比例增加,在绝育肥胖猫中也观察到相似的改变^[6-7]。临床研究结果表明,与瘦者相比,肥胖受试者肠道菌群发生了明显变化,拟杆菌门丰度更低而厚壁菌门丰度更高^[8]。拟杆菌门可发酵膳食纤维产生短链脂肪酸,而厚壁菌门从食物中获取能量,并以脂肪组织的形式储存^[9],这可以部分解释厚壁菌门/拟杆菌门比值变化与肥胖的关系。综上可知,肠道菌群与肥胖之间存在密切联系。因此,通过调节厚壁菌门、拟杆菌门两者的比例可能对肥胖的改善具有积极作用。

1.2 CR 对肥胖的疗效

有研究发现,肥胖受试者血液中非经典单核细胞和中间型单核细胞上 $\beta 2$ 肾上腺素能受体表达增加,2 型天然淋巴细胞百分比降低,这也是导致慢性低度炎症的原因之一,7 周 CR 干预可逆转这些天然免疫细胞的改变,进而减轻炎症^[10]。动物研究表明,CR 可降低肥胖雄性恒河猴白色脂肪组织和单核细胞中促炎基因的表达^[11]。一项针对 112 名超重者的临床试验表明,IF 和能量限制饮食均可减轻体质量,改善血压、血清胆固醇、甘油三酯等,从而降低患心血管疾病的风险^[12]。有趣的是,Heinsen FA 等^[13]采用各营养素均衡的 VLCD 干预肥胖者 3 个月后,代谢组学结果提示核黄素(维生素 B₂)生物合成的活性降低,核黄素的摄入与肥胖呈负相关^[14],但还需进一步实验来确定这一作用。以上研究结果表明,合理的 CR 方案可降低肥胖机体的慢性低度炎症状态,减轻体质量,改善相关代谢指标,降低心脑血管等疾病发病的危险因素。

Sirtuin3(Sirt3)是一种 NAD⁺依赖性组蛋白去乙酰化酶,其在细胞能量代谢、衰老、基因沉默等方面具有重要作用。王彪等^[15]通过构建大鼠肥胖模型,进行 CR 后发现大鼠脂肪组织中 Sirt3 表达量高于自由饮食组,Sirt3 的增加可以促进棕色脂肪细胞线粒体中解偶联蛋白-1 蛋白的表达,进而分解白色脂肪组织促进机体的新陈代谢。过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor,PPAR)可调节

脂肪细胞生成、胰岛素敏感性、脂质代谢等,其中 PPAR β 激活后可促进脂肪和肌肉组织中脂肪酸 β 氧化,提高血清中高密度脂蛋白胆固醇的水平。研究发现,CR 可增加大鼠内脏脂肪组织中 PPAR β mRNA 和蛋白的表达,并且通过抑制 PPAR γ 的激活从而抑制内脏脂肪组织的过度增殖和分化^[16],但具体内在分子机制还需进一步研究。最近一项研究结果显示^[17],6 个月 CR 干预后,取大鼠腓肠肌检测发现炎症和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor,TNF)明显降低,TNF 启动子 DNA 高甲基化;组蛋白去乙酰化酶 Sirt6 表达增加,甲基转移酶 Suv39h1 表达降低,NF- κ B 和 C/EBP- β 的启动子和编码区结合降低。通过挖掘 miRNA 数据库和 qPCR 分析发现,CR 下调了促炎因子 miR-19b 的表达,增加了抗炎因子 miR-181a 及其已知靶点的表达^[17]。

1.3 基于肠道菌群探讨 CR 防治肥胖的作用

1.3.1 CR 对肥胖个体肠道菌群的影响 Ott B 等^[18]研究表明,28 d VLCD 使肥胖女性肠道内 *Anaerostipes hadrus* 的相对丰度增加约 2 倍,肠道完整性明显提高,*Anaerostipes hadrus* 是一种产生丁酸盐的细菌,而丁酸盐对人体健康具有有益作用。Wang S 等^[19]研究发现 30% CR 饮食明显增加小鼠肠道内乳酸杆菌和双歧杆菌,同时减少幽门杆菌,构建一个更加平衡和多样化的微生态系统,移植经 CR 处理后的小鼠肠道菌群可抵抗高脂饮食诱导肥胖,改善代谢,减少肝脏脂质的沉积。乳酸杆菌和双歧杆菌菌株常被作为益生菌制剂,通过饮食补充该制剂可减少小鼠的肥胖、胰岛素抵抗和炎症^[20]。

嗜黏蛋白阿克曼菌(*Akkermansia muciniphila*,*A. muciniphila*)是一种黏蛋白降解细菌,可调节宿主与肠道微生物的关系,具有改善葡萄糖稳态、脂肪组织炎症、胰岛素抵抗,增强肠上皮细胞完整性等作用^[21]。Zheng XJ 等^[22]对肥胖和瘦小鼠进行 4 d 完全禁食和 8 d 50% 禁食,该方式降低了致病菌变形菌门的相对丰度,而升高了 *A. muciniphila* 的相对丰度。同时,有学者发现超重/肥胖者肠道内更高的 *A. muciniphila* 基线丰度与 CR 干预后更好的血糖、血脂等代谢状态和临床疗效有关,并提出 *A. muciniphila* 可作为预测 CR 干预效果的指标之一^[23]。

综上可知,在不同的研究中,CR 干预对肥胖个体肠道中具体菌群相对丰度的影响并不完全一致,但变化的方向大体一致,即增加产丁酸盐细菌、乳酸杆菌、*A. muciniphila* 等有益菌的相对丰度,减少变形菌门、幽门杆菌等致病菌的相对丰度,从而提高肠道屏障完整性,改善紊乱的代谢状态。未来可进一步探讨变化的肠道菌群与生化指标改善之间的相关性及其因果关系。

1.3.2 CR 重塑肠道菌群促进脂肪组织棕色化 肠道菌群影响能量吸收,进而对机体的代谢和脂肪组织产生影响^[24],由此揭示的微生物-脂肪信号轴使学者对肥胖与肠道菌群的关系

系有了更深的认识。正常机体内的脂肪组织包括白色和棕色脂肪,棕色脂肪又分为经典的棕色脂肪和近年来新发现的米色脂肪,两者均具有产热的能力,增加白色脂肪组织的棕色化(米色脂肪的形成过程)和棕色脂肪的产热活性将促进能量消耗^[25],改善肥胖。

2018 年发表在 *Cell Metabolism* 上的 1 篇文章指出^[26],CR 通过重塑肠道菌群促进脂肪组织棕色化,发挥抗肥胖、改善血糖和胰岛素等作用。16S rRNA 基因测序发现,CR 小鼠的乳杆菌科、拟杆菌科和 *A. muciniphila* 数量增加。宏基因组学结果显示^[26],CR 组中与 LPS 生物合成相关的子系统减少,Kdo2-脂质 A 的生物合成(产生 LPS 所必需的)持续下降,给 CR 组小鼠补充 LPS 后,所有的代谢改善都受到抑制。LPS 是 Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4,TLR4)的强有力配体,两者结合可促进炎症反应,影响脂肪组织的棕色化。通过 TLR4 药物抑制剂或 TLR4 基因敲除,肥胖小鼠腹股沟皮下脂肪组织棕色化增加,脂肪堆积减少,伴随葡萄糖耐量和胰岛素敏感性增强。这表明 CR 诱导的脂肪棕色化、抗肥胖作用可能与抑制 LPS-TLR4 信号通路有关。

Li GL 等^[27]采用隔日限食(every other day fasting,EODF)治疗肥胖小鼠,结果发现 EODF 重构肠道菌群导致血清和盲肠中醋酸盐和乳酸盐水平升高。据报道,两者是脂肪组织米色化的诱导剂。移植 EODF 组肠道菌群至无菌小鼠,发现其脂肪组织米色化增强,当消除小鼠的肠道微生物时,这种干预效果明显减弱。

综上可知,CR 通过改变肠道菌群的结构和代谢产物的产生,诱导脂肪细胞棕色化(米色化),增强机体产热耗能。LPS-TLR4 信号通路可能是 CR 通过改变肠道菌群影响肥胖机体脂肪组织的机制之一。

2 CR 防治糖尿病

2.1 肠道菌群与糖尿病

胰岛素抵抗和 β 细胞功能障碍是糖尿病常见发病机制。越来越多的研究表明,肠道菌群失衡参与糖尿病的发生发展。Allin KH 等^[28]通过对比丹麦 134 名前驱糖尿病患者与正常成年人的肠道菌群发现,梭状芽孢杆菌和 *A. muciniphila* 的丰度下降,与空腹血糖、三酰甘油水平以及胰岛素抵抗和炎症等呈负相关。二甲双胍是常用的降糖药,服用该药物可增加患者体内的 *A. muciniphila*^[29]。这说明 *A. muciniphila* 与糖尿病的发生有一定联系,增加该菌株可能有利于疾病的恢复。另外,有研究表明 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus,T2DM)患者肠道通透性增强,这可能与肠杆菌的富集有关,同时检测到血液中 LPS 和细菌增多^[30],已发现体内注射 LPS 可触发炎症反应、胰岛素抵抗,损害 β 细胞功能。综上,糖尿病患者菌

群结构紊乱、肠道通透性增强并伴有 LPS 的易位入血,严重影响血糖水平,进一步加重糖尿病的病情。

db/db 小鼠是一种公认的遗传性糖尿病啮齿类动物模型。研究发现 db/db 小鼠肠道菌群丰度和 α 多样性降低,这与疣微菌门在 6 个水平(门、纲、目等)明显增加,与科、属、种水平的拟杆菌和科、属水平的普雷沃氏菌明显降低有关^[31]。疣微菌门被认为是一种有益菌,具有抗炎的潜力,其水平降低表明肠道菌群失调^[32]。Wang H 等^[33]将正常小鼠的肠道菌群移植到 T2DM 小鼠模型后,成功降低了糖尿病小鼠的空腹血糖并改善了糖耐量和胰岛素敏感性, β 细胞凋亡减少。这进一步反映出肠道菌群与糖尿病之间关系密切。

2.2 CR 对糖尿病的疗效

饮食控制是 T2DM 的主要干预手段之一,热量限制在 T2DM 中的作用已被多次报道。Cheng CW 等^[34]首次在动物模型中证明,采用 4 d 低热量饮食和 7 d 正常饮食交替的禁食模拟饮食(fasting mimicking diet,FMD)方案饲喂 db/db 小鼠,明显改善了 β 细胞的增殖和功能,促进胰岛素分泌并逆转了胰岛素抵抗,分析这可能是通过激活神经元素 3(neurogenin 3, Ngn3)达到的,Ngn3⁺细胞被认为能够产生胰岛 α 和 β 细胞。与此一致的是,8 周 FMD 干预后,db/db 小鼠血糖水平正常化,胰岛的形状和密度恢复正常, β 细胞的数量和 Ngn3 的表达明显增加^[35]。临床研究中,对 15 个病程 < 4 年和 14 个病程 > 8 年的 T2DM 患者进行为期 8 周的 VLCD 干预,发现 87% 的短病程和 50% 的长病程患者在第 8 周达到非糖尿病的空腹血糖水平^[36]。2017 年加拿大 3 名胰岛素依赖型 2 型糖尿病患者进行了以 IF 为基础的饮食,结果显示患者体质量明显减轻,糖化血红蛋白水平降低。最重要的是,IF 有效逆转胰岛素抵抗,使患者停止了胰岛素治疗,并保持良好的血糖控制^[37]。上述结果表明,无论是动物模型还是临床研究,CR 干预均有利于糖尿病个体的血糖水平正常化,这可能是通过改善胰岛素抵抗和 β 细胞功能实现的。

FMD 干预可恢复 T2DM 小鼠胰岛的自噬通量^[34],这与通过增加葡萄糖刺激的胰岛素分泌、 β 细胞存活率和 Ngn3 核表达来改善葡萄糖耐量有关。同时,研究还发现 FMD 可降低 1 型糖尿病患者胰岛中蛋白激酶 A(protein kinase A,PKA)和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin,mTOR)的活性,诱导 Sox2 和 Ngn3 的表达以及胰岛素的产生。在极低热量饮食条件下,T2DM 患者血清中溶血磷脂酰胆碱(lysophosphatidylcholine,LPC)升高^[38],LPC 可诱导胰岛 β 细胞的胰岛素分泌,促进葡萄糖转运体 4 从胞浆内转移至细胞表面,进而调节血糖水平。除此之外,糖尿病还会触发神经炎症,损害海马神经可塑性,导致认知功能障碍,而通过 4 周的 IF 干预,激活了 db/db 小鼠海马区 AMPK/PGC-1 α /mTORc/COX4/ND1 信号通路,促进线粒体的生物发生,增加线粒体的

DNA 含量, 认知功能得到改善^[39]。

2.3 基于肠道菌群探讨 CR 防治糖尿病的作用

2.3.1 CR 对糖尿病肠道菌群的影响 FMD 干预可以调节 T2DM 小鼠的微生物失调, 增加副杆菌属和布劳特菌属(两者与较低的血糖水平有关); 而减少了与较高血糖水平有关的普雷沃氏菌科、*Alistipes* 和瘤胃菌科^[35]。IF 治疗后, 糖尿病小鼠肠道菌群的 α 多样性增加, 乳酸杆菌和丙酸盐产生菌 *Odoribacter* 的丰度增高^[39]; 肠球菌、链球菌和一种未明确的肠球菌科丰度降低, 其中 *Candidatus arthromitus* 和一种 *Leucostocaceae* 与血糖呈正相关, 未明确的肠球菌科与体质量呈正相关。乳酸杆菌能调节脂肪因子的表达和炎症反应, 已有研究证明通过口服益生菌制剂(主要为乳酸菌)可显著降低 T2DM 患者的胰岛素抵抗、血液内毒素水平、炎症脂肪因子, 减轻炎症并改善心脏代谢状况^[40]。因此, 不同的 CR 干预方式均促使与血糖升高相关的菌群减少, 与血糖降低相关的菌群增加。同时改善菌群多样性, 促进具有抗炎作用的细菌产生, 防止糖尿病继发病症的发生。但具体改变的菌群尚不完全相同, 这可能与不同的饮食方案设计、实施方式和老鼠品系等有关。

2.3.2 IF 通过增加肠道有益细菌代谢产物改善认知功能 持续的高血糖和代谢紊乱易致糖尿病并发症发生, 认知功能受损是 T2DM 的并发症之一, 国内西北农林科技大学最新发表在 *Nature* 子刊上的研究成果表明肠道菌群介导了 IF 对糖尿病引起的认知障碍的改善作用^[39]。28 d IF 通过降低空腹血糖和胰岛素水平提高了 db/db 小鼠的胰岛素敏感性, 阻止了肠泄漏同时伴随循环 LPS 水平下降, 这可能与增高的短链脂肪酸水平有关^[39]。代谢组学分析提示, IF 增加了血浆胆汁酸水平, 如胆酸、脱氧胆酸、鼠李酸和牛磺酸脱氧胆酸(tauroursodeoxycholate, TUDCA), 这些均与 IF 影响海马转录组相关, 口服 TUDCA 可改善 db/db 小鼠的认知功能障碍。5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)是一种调节情绪和认知的关键激素/神经递质^[41], IF 增加了血浆 5-HT 水平。在小鼠饮用水中加入抗生素后, 部分消除了 IF 对糖尿病认知功能的保护作用, 进一步证明了肠道菌群在其中的关键介导作用。根据这些细菌代谢产物, 进一步明确其上游的产生菌群和下游的信号机制作用途径将有利于找到治疗糖尿病并发症的新的干预方法。

3 CR 防治非酒精性脂肪肝

3.1 肠道菌群与非酒精性脂肪肝

非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种代谢综合征的肝脏表现。在没有大量饮酒的情况下, 肝细胞内脂质过度沉积导致肝脏损伤, 疾病谱包括非酒精性单纯性脂肪肝(nonalcoholic simple fatty liver, NAFL)、非酒精

性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)、肝硬化和肝细胞癌^[42]。肝脏内合成胆汁酸分泌至肠道, 由细菌代谢成次级胆汁酸, 大部分在回肠末端重吸收经门静脉进入肝脏, 由此形成肝肠循环; 流经肝脏的大部分血液来自肠道血管, 因此肠源性营养素、毒素、抗原等会对肝脏的健康造成影响^[43], 这为 NAFLD 与肠道菌群的关系提供了证据。

Boursier J 等^[44]认为 NAFLD 的严重程度与肠道菌群的失调和菌群代谢功能的改变有关, 拟杆菌与 NASH 独立相关, 而瘤胃球菌属与肝脏纤维化有关。NASH 患者肠菌检测结果发现拟杆菌属、粪杆菌属和厌氧孢杆菌属丰度较低, 副杆菌属和 *Allisonella* 丰度较高, 有学者却发现拟杆菌数量增加, 普氏菌属减少^[45-46]。这可能是纳入患者的疾病情况、生活环境、地理位置等差异造成的。对 32 例 NAFLD 患者(14 例 NAFL, 18 例 NASH)研究发现, 与健康对照组相比, NAFLD 患者粪便中醋酸盐和丙酸盐的水平较丁酸盐高, 其中 NASH 患者丙酸和醋酸水平升高与外周血中静息调节性 T 细胞(regulatory T cells, rTregs)降低以及 Th17/rTreg 比值升高有关^[47]。醋酸盐和丙酸盐是肝脏内糖异生和脂肪生成的底物^[48], 两者增加可导致 NAFLD、肥胖、胰岛素抵抗。新的研究成果报道称, NAFLD 患者肠道内普遍存在高产乙醇肺炎克雷伯菌(high-alcohol-producing *klebsiella pneumoniae*, HiAlc Kpn)——细菌性自酿酒综合征的主要病因, 给无菌和 SPF 小鼠饲喂该菌 4 周后诱导了 NAFLD, 体外细胞实验发现 HiAlc Kpn 能引起线粒体功能障碍、活性氧类应激反应从而致脂肪在肝脏中聚集, 由此提出了 NAFLD 的“内源性酒精性脂肪肝病”病因学说^[49]。这进一步说明, 肠道菌群促进了 NAFLD 的发生发展, 未来在治疗该类疾病时, 应综合考虑对肠道菌群的影响, 探索新的治疗靶点。

3.2 CR 对非酒精性脂肪肝的疗效

迄今为止, 尚无有效治疗 NAFLD 的办法, 控制疾病的危险因素和改变生活方式(包括饮食和运动)成为指南建议的重点^[50]。EODF 明显减轻了肥胖小鼠的体质量, 降低了胰岛素抵抗和肝脂肪变性, 这表明 EODF 是治疗肥胖诱导 NAFLD 的一种有效的非药物干预方法^[27]。IF 可逆转 NAFLD 中受损的自噬通量, 促进肝细胞的恢复^[51]。Johari MI 等^[52]制定了一个 8 周改良隔日 CR 方案, 发现其明显改善轻度至中度 NAFLD 患者的体质量、体质指数、肝脏脂肪变性和纤维化评分, 组内比较肝脏中谷丙转氨酶和谷草转氨酶水平降低, 但组间仅谷丙转氨酶水平降低。这些结果均表明, EODF、IF 等饮食限制干预方式均可改善 NAFLD 的肝脏的病理表现, 并在一定程度上降低 NAFLD 发生的风险。

进一步研究表明, 2 周的限时饮食可以降低 NAFLD 肥胖小鼠肝脏中葡糖调节蛋白 78 和硫氧还蛋白相互作用蛋白的表达, 提示这可能减弱了肝脏内质网应激和炎症通路的激

活,与此同时观察到血浆中游离脂肪酸增加,甘油三酯降低^[53]。AMPK/mTOR 信号通路是调控自噬的主要信号通路之一,自噬不仅调节脂质代谢及胰岛素抵抗,且保护肝细胞免受损伤和细胞死亡^[54]。多种药物治疗结果提示,通过激活 AMPK/mTOR 信号通路介导的自噬是治疗 NAFLD 的一种新途径^[55-56],而 CR 通过调控自噬相关基因延缓衰老已经被证明^[57]。由此推测,CR 对 NAFLD 的防治作用可能也是通过激活 AMPK/mTOR 达到的,但未来还需进一步设计实验来证明。近期有研究者发现,离心型运动如下坡跑和热量限制联合干预促进肝脏内 M2 型巨噬细胞(抗炎)表型转换,抑制 M1 型巨噬细胞(促炎),提高血清和肝脏中的抗炎因子白细胞介素(interleukin, IL)-10,抑制促炎因子单核细胞趋化蛋白 1、TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6,从而减轻慢性炎症,改善肝脏脂肪变性^[58]。虽然该分子机制尚未明确,但这项结果有助于设计更好的非药物治疗方案来防治 NAFLD,以及探索新的药物作用靶点。

3.3 基于肠道菌群探讨 CR 防治非酒精性脂肪肝的作用

Kong CY 等^[59]首次探索了由水果、蔬菜和酸奶组成的间歇性热量限制(intermittent calorie restriction, ICR)饮食(50% CR)对 NAFLD 的影响。每周小鼠被给予 5 d 随意高脂饮食加 2 d ICR 饮食,共持续 16 周。与连续饲喂高脂饲料的小鼠相比,高脂+ICR 组小鼠体重、肝脏脂肪变性减轻,血脂和转氨酶水平、肝脏 PPAR γ 和 Srebf-1c 脂质合成基因均降低, Cpt1a 脂肪酸氧化基因增加,减轻了炎症程度并改善胰岛素抵抗。ICR 逆转了高脂组的菌群失调,Shannon 多样性指数和乳酸菌丰度降低,增加了疣微菌科、紫单胞菌科及产丁酸的细菌丰度,促使菌群更接近正常饮食组。该研究也提示 CR 的饮食成分可能在其中起一部分作用。因此,合理调整 CR 的饮食组成将更有利于 NAFLD 的防治,并且其治疗效果在一定程度上是由肠道菌群介导的。目前从肠道菌群角度探讨 CR 防治 NAFLD 的研究较少,未来还需进行更多的基础和临床研究对这一结论进行验证。

4 小结与展望

综上所述,肠道菌群的改变与肥胖相关代谢性疾病紧密相关,菌群紊乱致机体呈现出系统性慢性低度炎症,从而促进疾病的发生发展。但同一种代谢性疾病(如肥胖)在不同国家、不同地区的菌群均有差异,因此有必要鉴定出适用于不同病因、不同种族和不同地区人群的通用疾病肠道微生物组特征,这将有利于通过粪便微生物特征对该疾病进行诊断和防治。基于 CR 的饮食干预方式对肥胖、糖尿病、非酒精性脂肪肝的疗效显著,肠道菌群可能是其作用靶点之一,通过微生物-脂肪信号轴、胆汁酸及细菌代谢产物等途径作用于靶器官、靶组织,降低炎症反应、胰岛素抵抗,改善代谢紊乱。这

些结果为代谢性疾病的防治提供了新的思路。未来治疗代谢性疾病可从肠道菌群出发,找出介导 CR 有益作用的最关键细菌群,研发出富含该类有益菌的新药物并进行临床转化。肥胖、糖尿病和非酒精性脂肪肝均与代谢综合征有着密切联系。现有的文献表明,CR 联合药物、运动疗法等干预代谢综合征^[60-62],可改善患者心血管血流动力学、抗氧化系统、胰岛素抵抗以及血脂情况等,但尚无研究从肠道菌群方面来阐明机制,未来可从微生物角度出发,深入探索其相关分子信号作用途径。

参 考 文 献

- [1] World Health Organization. Obesity and overweight[EB/OL]. (2020-04-01)[2020-10-05]. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
- [2] Bomberg E, Birch L, Endenburg N, et al. The financial costs, behaviour and psychology of obesity: a one health analysis[J]. J Comp Pathol, 2017, 156(4): 310-325.
- [3] Heilbronn LK, Ravussin E. Calorie restriction and aging: review of the literature and implications for studies in humans[J]. Am J Clin Nutr, 2003, 78(3): 361-369.
- [4] Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice[J]. Diabetes, 2008, 57(6): 1470-1481.
- [5] Griffin NW, Ahern PP, Cheng JY, et al. Prior dietary practices and connections to a human gut microbial metacommunity alter responses to diet interventions[J]. Cell Host Microbe, 2017, 21(1): 84-96.
- [6] Fischer MM, Kessler AM, Kieffer DA, et al. Effects of obesity, energy restriction and neutering on the faecal microbiota of cats[J]. Br J Nutr, 2017, 118(7): 513-524.
- [7] Araújo JR, Tomas J, Brenner C, et al. Impact of high-fat diet on the intestinal microbiota and small intestinal physiology before and after the onset of obesity[J]. Biochimie, 2017, 141: 97-106.
- [8] Chakraborti CK. New-found link between microbiota and obesity[J]. World J Gastrointest Pathophysiol, 2015, 6(4): 110-119.
- [9] Jumpertz R, Le DS, Turnbaugh PJ, et al. Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans[J]. Am J Clin Nutr, 2011, 94(1): 58-65.
- [10] Figueroa-Vega N, Marín-Aragón CI, López-Aguilar I, et al. Analysis of the percentages of monocyte subsets and ILC2s, their relationships with metabolic variables and response to hypocaloric restriction in obesity[J]. PLoS One, 2020, 15(2): e0228637.
- [11] Wright H, Handu M, Jankeel A, et al. Short-term caloric restriction attenuates obesity-induced pro-inflammatory response in male Rhesus macaques[J]. Nutrients, 2020, 12(2): E511.

- [12] Sundfjor TM, Svendsen M, Tonstad S. Effect of intermittent versus continuous energy restriction on weight loss, maintenance and cardiometabolic risk: a randomized 1-year trial[J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2018, 28(7): 698–706.
- [13] Heinsen FA, Fangmann D, Müller N, et al. Beneficial effects of a dietary weight loss intervention on human gut microbiome diversity and metabolism are not sustained during weight maintenance[J]. *Obes Facts*, 2016, 9(6): 379–391.
- [14] Gunanti IR, Marks GC, Al-Mamun A, et al. Low serum vitamin B₁₂ and folate concentrations and low thiamin and riboflavin intakes are inversely associated with greater adiposity in Mexican American children[J]. *J Nutr*, 2014, 144(12): 2027–2033.
- [15] 王彪, 黄剑彬, 单秀英, 等. Sirt3 在不同热量饮食下的大鼠脂肪组织中的表达[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2013, 29(10): 990–994.
- Wang B, Huang JB, Shan XY, et al. Expression of Sirt3 in adipose tissue of rats on diets with different calories[J]. *Chin J Biochem Mol Biol*, 2013, 29(10): 990–994.
- [16] 杨玉彬, 柯斌, 秦鉴. 不同热量限制方法对胰岛素抵抗肥胖大鼠糖脂代谢及脂肪细胞分化的作用研究[J]. *中国全科医学*, 2016, 19(18): 2156–2161.
- Yang YB, Ke B, Qin J. Effects of different calorie restriction methods on glycolipid metabolism and adipocytes differentiation in obesity and insulin resistance rat[J]. *Chin Gen Pract*, 2016, 19(18): 2156–2161.
- [17] Hernández-Saavedra D, Moody L, Tang XY, et al. Caloric restriction following early-life high fat-diet feeding represses skeletal muscle TNF in male rats[J]. *J Nutr Biochem*, 2021, 91: 108598.
- [18] Ott B, Skurk T, Hastreiter L, et al. Effect of caloric restriction on gut permeability, inflammation markers, and fecal microbiota in obese women[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 11955.
- [19] Wang S, Huang MQ, You X, et al. Gut microbiota mediates the anti-obesity effect of calorie restriction in mice[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 13037.
- [20] Choi ID, Kim SH, Jeong JW, et al. Triglyceride-lowering effects of two probiotics, *Lactobacillus plantarum* KY1032 and *Lactobacillus curvatus* HY7601, in a rat model of high-fat diet-induced hypertriglyceridemia[J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2016, 26(3): 483–487.
- [21] Schneeberger M, Everard A, Gómez-Valadés AG, et al. *Akkermansia muciniphila* inversely correlates with the onset of inflammation, altered adipose tissue metabolism and metabolic disorders during obesity in mice[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 16643.
- [22] Zheng XJ, Zhou KJ, Zhang YJ, et al. Food withdrawal alters the gut microbiota and metabolome in mice[J]. *FASEB J*, 2018, 32(9): 4878–4888.
- [23] Dao MC, Everard A, Aron-Wisniewsky J, et al. *Akkermansia muciniphila* and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology[J]. *Gut*, 2016, 65(3): 426–436.
- [24] Suárez-Zamorado N, Fabbiano S, Chevalier C, et al. Microbiota depletion promotes browning of white adipose tissue and reduces obesity[J]. *Nat Med*, 2015, 21(12): 1497–1501.
- [25] Tomilov A, Bettaieb A, Kim K, et al. Shc depletion stimulates brown fat activity *in vivo* and *in vitro*[J]. *Aging Cell*, 2014, 13(6): 1049–1058.
- [26] Fabbiano S, Suárez-Zamorado N, Chevalier C, et al. Functional gut microbiota remodeling contributes to the caloric restriction-induced metabolic improvements[J]. *Cell Metab*, 2018, 28(6): 907–921.e7.
- [27] Li GL, Xie C, Lu SY, et al. Intermittent fasting promotes white adipose browning and decreases obesity by shaping the gut microbiota[J]. *Cell Metab*, 2017, 26(5): 801.
- [28] Allin KH, Tremaroli V, Caesar R, et al. Aberrant intestinal microbiota in individuals with prediabetes[J]. *Diabetologia*, 2018, 61(4): 810–820.
- [29] Wu H, Esteve E, Tremaroli V, et al. Metformin alters the gut microbiome of individuals with treatment-naïve type 2 diabetes, contributing to the therapeutic effects of the drug[J]. *Nat Med*, 2017, 23(7): 850–858.
- [30] 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.
- [31] Yu F, Han W, Zhan GF, et al. Abnormal gut microbiota composition contributes to the development of type 2 diabetes mellitus in db/db mice[J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(22): 10454–10467.
- [32] Zhang L, Qin QQ, Liu MN, et al. *Akkermansia muciniphila* can reduce the damage of gluco/lipotoxicity, oxidative stress and inflammation, and normalize intestine microbiota in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Pathog Dis*, 2018, 76(4): fty028.
- [33] Wang H, Lu Y, Yan Y, et al. Promising treatment for type 2 diabetes: fecal microbiota transplantation reverses insulin resistance and impaired islets[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2019, 9: 455.
- [34] Cheng CW, Villani V, Buono R, et al. Fasting-mimicking diet promotes Ngn3-driven β -cell regeneration to reverse diabetes[J]. *Cell*, 2017, 168(5): 775–788.e12.
- [35] Wei SY, Han RM, Zhao JY, et al. Intermittent administration of a fasting-mimicking diet intervenes in diabetes progression, restores β cells and reconstructs gut microbiota in mice[J]. *Nutr Metab (Lond)*, 2018, 15: 80.
- [36] Steven S, Taylor R. Restoring normoglycaemia by use of a very low calorie diet in long- and short-duration type 2 diabetes[J]. *Diabet Med*, 2015, 32(9): 1149–1155.
- [37] Fumli S, Elmasry R, Ramos M, et al. Therapeutic use of intermittent fasting for people with type 2 diabetes as an alternative to insulin[J]. *BMJ Case Rep*, 2018, 2018: bcr-2017-221854.
- [38] 杨雪, 杨婉薇, 徐金娣, 等. 极低热量限制治疗 2 型糖尿病作

- 用机制的代谢组学研究[J]. 中国糖尿病杂志, 2019, 27(1): 26–32.
- Yang X, Yang WW, Xu JD, et al. Metabonomics study on the mechanism of very low calorie restriction therapy in type 2 diabetes mellitus[J]. Chin J Diabetes, 2019, 27(1): 26–32.
- [39] Liu ZG, Dai XS, Zhang HB, et al. Gut microbiota mediates intermittent-fasting alleviation of diabetes-induced cognitive impairment[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 855.
- [40] Sabico S, Al-Mashharawi A, Al-Daghri NM, et al. Effects of a 6-month multi-strain probiotics supplementation in endotoxemic, inflammatory and cardiometabolic status of T2DM patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial[J]. Clin Nutr, 2019, 38(4): 1561–1569.
- [41] Yano JM, Yu K, Donaldson GP, et al. Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis[J]. Cell, 2015, 161(2): 264–276.
- [42] Adams LA, Sanderson S, Lindor KD, et al. The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies[J]. J Hepatol, 2005, 42(1): 132–138.
- [43] Poeta M, Pierri L, Vajro P. Gut-liver axis derangement in non-alcoholic fatty liver disease[J]. Children (Basel), 2017, 4(8): 66.
- [44] Boursier J, Mueller O, Barret M, et al. The severity of nonalcoholic fatty liver disease is associated with gut dysbiosis and shift in the metabolic function of the gut microbiota[J]. Hepatology, 2016, 63(3): 764–775.
- [45] Mouzaki M, Comelli EM, Arendt BM, et al. Intestinal microbiota in patients with nonalcoholic fatty liver disease[J]. Hepatology, 2013, 58(1): 120–127.
- [46] Wong VWS, Tse CH, Lam TTY, et al. Molecular characterization of the fecal microbiota in patients with nonalcoholic steatohepatitis: a longitudinal study[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e62885.
- [47] Rau M, Rehman A, Dittrich M, et al. Fecal SCFAs and SCFA-producing bacteria in gut microbiome of human NAFLD as a putative link to systemic T-cell activation and advanced disease[J]. United European Gastroenterol J, 2018, 6(10): 1496–1507.
- [48] Allin KH, Nielsen T, Pedersen O. Mechanisms in endocrinology: gut microbiota in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Eur J Endocrinol, 2015, 172(4): R167–R177.
- [49] Yuan J, Chen C, Cui JH, et al. Fatty liver disease caused by high-alcohol-producing *Klebsiella pneumoniae*[J]. Cell Metab, 2019, 30(6): 1172.
- [50] Chitturi S, Wong VW, Chan WK, et al. The Asia-Pacific Working Party on non-alcoholic fatty liver disease guidelines 2017 part 2: management and special groups[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2018, 33(1): 86–98.
- [51] Allaire M, Rautou PE, Codogno P, et al. Autophagy in liver diseases: time for translation?[J]. J Hepatol, 2019, 70(5): 985–998.
- [52] Johari MI, Yusoff K, Haron J, et al. A randomised controlled trial on the effectiveness and adherence of modified alternate-day calorie restriction in improving activity of non-alcoholic fatty liver disease[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 11232.
- [53] Wilson RB, Zhang R, Chen YJ, et al. Two-week isocaloric time-restricted feeding decreases liver inflammation without significant weight loss in obese mice with non-alcoholic fatty liver disease[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(23): E9156.
- [54] 钱子冰, 曾佩芸, 张琦, 等. 一磷酸腺苷活化蛋白激酶/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白与自噬在非酒精性脂肪肝中作用的研究进展[J]. 中国生物制品学杂志, 2021, 34(2): 225–229.
- Qian ZB, Zeng PY, Zhang Q, et al. Progress in research on roles of adenosine monophosphate-activated protein kinase/mammalian target of rapamycin and autophagy in nonalcoholic fatty liver[J]. Chin J Biol, 2021, 34(2): 225–229.
- [55] Wang XJ, Zhang X, Chu ESH, et al. Defective lysosomal clearance of autophagosomes and its clinical implications in nonalcoholic steatohepatitis[J]. FASEB J, 2018, 32(1): 37–51.
- [56] Li XZ, Gong HQ, Yang SW, et al. Pectic bee pollen polysaccharide from *Rosa rugosa* alleviates diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance via induction of AMPK/mTOR-mediated autophagy[J]. Molecules, 2017, 22(5): E699.
- [57] Dong W, Wang R, Ma LN, et al. Autophagy involving age-related cognitive behavior and hippocampus injury is modulated by different caloric intake in mice[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(7): 11843–11853.
- [58] Ai L, Luo W, Yuan P, et al. Liver macrophages mediate effects of downhill running and caloric restriction on nonalcoholic fatty liver disease of high fat diet-fed mice[J]. Life Sci, 2020, 256: 117978.
- [59] Kong CY, Li ZM, Han B, et al. Diet consisting of balanced yogurt, fruit, and vegetables modifies the gut microbiota and protects mice against nonalcoholic fatty liver disease[J]. Mol Nutr Food Res, 2019, 63(19): e1900249.
- [60] Çevikelli-Yakut ZA, Özcelik R, Çevik Ö, et al. Exercise and caloric restriction improve cardiovascular and erectile function in rats with metabolic syndrome[J]. Int J Impot Res, 2020, 33(8): 844–853.
- [61] Shabrina A, Tung TH, Nguyen NTK, et al. N-3 PUFA and caloric restriction diet alters lipidomic profiles in obese men with metabolic syndrome: a preliminary open study[J]. Eur J Nutr, 2020, 59(7): 3103–3112.
- [62] So R, Matsuo T. Effects of using high-intensity interval training and caloric restriction in different orders on metabolic syndrome: a randomized controlled trial[J]. Nutrition, 2020, 75/76: 110666.

(责任编辑: 冉明会)