

文献综述

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.003171

肠道屏障在肥胖相关代谢性疾病发生发展中的作用

王 山,倪 艳,傅君芬

(浙江大学医学院附属儿童医院内分泌科、国家儿童健康与疾病临床研究中心,杭州 310000)

【摘 要】随着肥胖人口所占比例增加,非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)和 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)等肥胖相关代谢性疾病发病率逐年上升,给家庭及社会带来沉重负担。大量实验数据证实肠道屏障损伤在肥胖相关代谢性疾病的发生发展过程中起重要作用。本文详细总结了肠道屏障的结构、功能及评估方法,归纳了肠道屏障损伤与肥胖及其相关代谢性疾病的研究进展,为临床如何评估患者肠道屏障功能以及如何通过改善肠道屏障功能治疗代谢性疾病提供理论基础。

【关键词】肠道屏障;紧密连接;肠道微生物;肥胖;非酒精性脂肪肝;2 型糖尿病

【中图分类号】R58

【文献标志码】A

【收稿日期】2022-05-03

Role of intestinal barrier in the occurrence and development of obesity related metabolic diseases

Wang Shan, Ni Yan, Fu Junfen

(Department of Endocrinology, The Children's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, National Clinical Research Center for Child Health)

【Abstract】With the increase of the proportion of obese population, the incidence of obesity related metabolic diseases such as nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and type 2 diabetes mellitus (T2DM) is increasing year by year, which brings a heavy burden to the family and society. A large number of experimental data confirm that intestinal barrier injury plays an important role in the occurrence and development of obesity related metabolic diseases. This paper summarizes the structure, function and evaluation methods of intestinal barrier in detail, and summarizes the research progress of intestinal barrier injury and obesity related metabolic diseases, so as to provide a theoretical basis for how to evaluate patients' intestinal barrier function and how to treat metabolic diseases by improving intestinal barrier function.

【Key words】intestinal barrier; tight junction; gut microbiota; obesity; nonalcoholic fatty liver disease; type 2 diabetes mellitus

肠道屏障是一个结构复杂、多层、多功能、覆盖面广的黏膜表面,与拥有数十亿肠道细菌及各种食源性抗原类物质的肠腔环境直接接触^[1],目前肠道屏障被认为由物理屏障、功能屏障、生物屏障和免疫屏障 4 部分组成^[2]。

肠道屏障功能破坏最初发现于炎症性肠病患者。随着研究深入,多种肥胖相关代谢疾病的发生发展与肠屏障功能破坏之间存在明显相关。通过改善肠屏障功能可以达到对疾病进行辅助治疗的目的,具有很大的应用前景。本文总结肠道屏障结构,整理目前常用的评估肠道屏障功能的手段,并就近年对肠道屏障功能破坏在肥胖相关代谢性疾病中的研究进展进行综述。

作者简介:王 山, Email: harrisonwang@zju.edu.cn,

研究方向:肠道微生物、代谢组学和小儿内分泌。

通信作者:傅君芬, Email: fjf68@zju.edu.cn。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20230220.0906.008.html>

(2023-02-20)

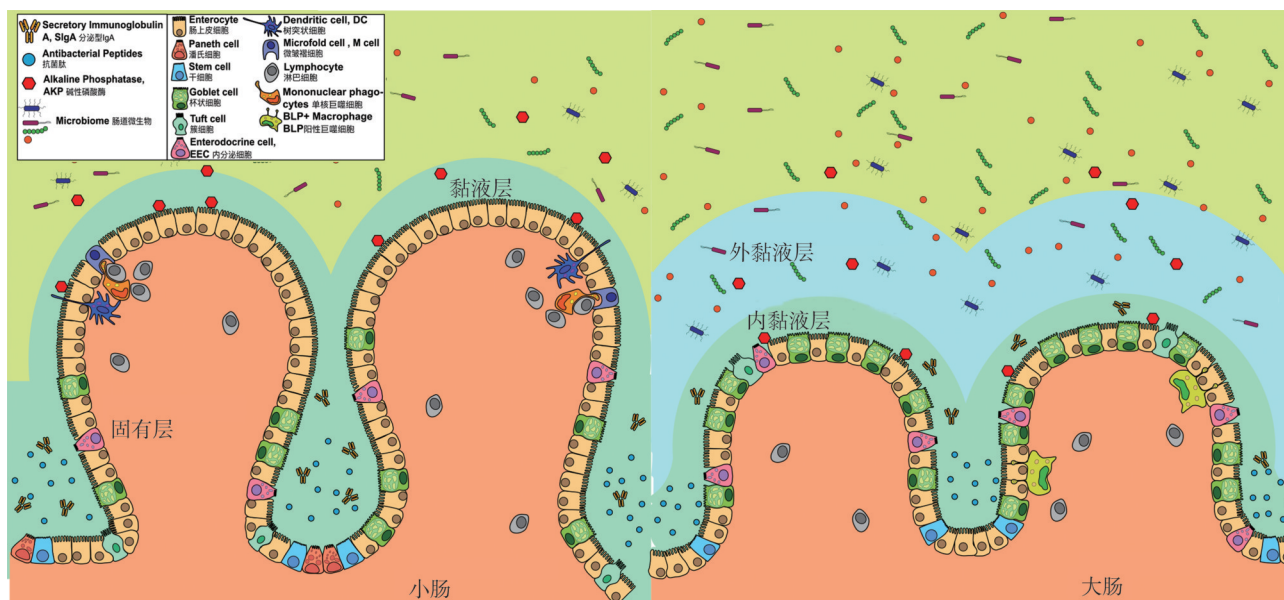
1 肠道屏障的主要结构及屏障功能的评估方法

1.1 肠道屏障结构及功能简述

肠屏障是一个多层结构,从肠腔到体循环可分为以下 5 层:肠碱性磷酸酶;肠道共生微生物;黏液层;肠上皮细胞及其紧密连接层;肠上皮及固有层免疫细胞(图 1)。

1.1.1 肠道碱性磷酸酶(intestinal alkaline phosphatase, IAP) IAP 由肠上皮细胞表达分泌,在肠黏膜和肠腔中维持活性并发挥重要作用^[3]。其主要功能包括:调节碳酸氢盐的分泌,调节十二指肠表面 pH 和长链脂肪酸的吸收;清除细菌内毒素脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)或其他病原体相关致病分子上的磷酸基团,使其毒性降低^[4];使肠腔内腺苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)和腺苷二磷酸(adenosine diphosphate, ADP)脱磷,保持肠内较低的 ATP 水平,维持肠道微生物稳态^[5]。

1.1.2 肠道黏液层 黏液层由肠杯状细胞分泌,其主要功能



注:肠道屏障是一个多层结构。小肠与结肠的肠道屏障存在差异,主要表现为结肠处微生物数量及种类增多、杯状细胞占比增高、黏液层增厚且分为内外2层以及部分免疫细胞改变

图 1 肠道屏障的组成及结构

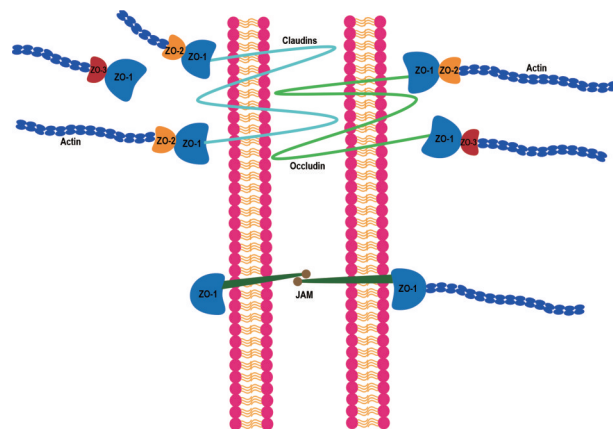
成分是黏蛋白(mucin, MUC)、抵抗素样分子 β (resistin-like molecule beta, RELM β)和肠三叶因子(trefoil factor 3, TFF3)^[6]。其中,高度糖基化蛋白黏蛋白(mucin 2, MUC2)是黏液层最重要的组成部分。MUC2可防止病原微生物与肠黏膜接触,抑制病原菌与肠壁黏附。还可特异性结合病原菌,加速病原菌通过肠道排出^[7]。

杯状细胞占比从小肠到大肠逐渐增加^[6],因此同一个体不同肠段黏液层的组成和质量有很大差异(图1)。黏液层在大肠处可分为内外2层。内层密集排列,与肠上皮细胞紧密结合,可以阻止肠道菌群直接与肠上皮细胞接触;外层更厚,但在肠道共生菌和宿主消化酶的作用下相对松散,可以为共生菌提供生存场所^[8]。

1.1.3 肠上皮细胞及其紧密连接 肠上皮细胞间细胞旁转运途径受到位于细胞膜连接处的各种连接复合体的调控,包括桥粒、黏附连接和紧密连接,其中紧密连接调节水、电解质等小分子的转运,在细胞旁转运的调控中起最重要作用^[9]。紧密连接复合体中含有多种跨膜蛋白,包括人连蛋白(zonulin, ZO)、闭合蛋白、连接蛋白、连接黏附分子(junctional adhesion molecule, JAM)等^[10](图2)。闭合蛋白可以与ZO-1等其他紧密连接蛋白基于闭合蛋白的磷酸化从而相互作用,对维持紧密连接的完整性至关重要^[11]。连接蛋白控制细胞周围空间的电荷和分子大小等选择特性,从而调节屏障功能。紧密连接的组装和定位则依赖ZO蛋白(ZO-1、ZO-2和ZO-3)。ZO将连接蛋白连接到肌动蛋白细胞骨架上,相互作用以维持紧密连接的形成和功能。

1.1.4 肠道共生微生物 肠道共生菌具有诸如合成维生素和其他微量营养素、代谢胆固醇和胆汁酸、促进免疫系统成熟、影响肠细胞生长分化、调节肠道血管生成、抵御肠道病原体等一系列重要功能^[12-13]。肠道微生物通过多种方式对肠

道屏障功能的正常维持发挥重要作用,因此可将肠道共生菌看作肠道屏障的一部分,称为“生物屏障”(表1)。



注:肠上皮细胞间紧密连接复合体由多种紧密连接蛋白共同组成,其主要组成部分为ZO蛋白、闭合蛋白、连接蛋白以及JAM。其组装和定位依赖ZO蛋白,跨膜蛋白闭合蛋白和连接蛋白则主要发挥通透性调节作用

图 2 肠上皮间紧密连接复合体

1.1.5 肠上皮及固有层免疫细胞 部分肠上皮细胞对平衡肠道免疫稳态、调节肠道免疫功能、稳定肠道屏障完整性等方面发挥重要作用,主要包括潘氏细胞、簇细胞及微皱褶细胞(microfold cell, M细胞)。

潘氏细胞主要分布于小肠隐窝基底部,可以合成并分泌大量的抑菌肽(antibacterial peptide),包括防御素、溶菌酶、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、磷脂酶A2(phospholipase A2)和富含半胱氨酸的分泌型清道夫受体蛋白等,具有杀菌、抗炎和促进机体修复等功能^[126-27]。

簇细胞在肠道损伤后修复中发挥重要作用。经放射性照射破坏肠上皮后,清除了肠道双皮质激素样激酶 1 阳性(doublecortin-like kinase 1, Dclk1)簇细胞的小鼠生存时间明显缩短^[28]。同时簇细胞可以发挥类干细胞功能,在肠上皮受损时协助修复^[29]。清除小鼠肠道 Dclk1(+)簇细胞后放射性照射,出现八聚体结合转录因子 4(octamer-binding transcription factor 4, Oct4)和 Kruppel 样因子 4(Kruppel-like factor 4, Klf4)的表达减少以及损伤后修复途径(包括 Notch 和 Akt/mTOR)的明显降低^[28,30]。

微皱褶细胞基底外侧膜下的上皮向内凹陷,形成囊样结构,其中包含大量淋巴细胞及单核巨噬细胞,形成独特的免疫微环境^[31]。M 细胞对肠腔大分子、颗粒抗原和微生物具有很强的吞噬和转运作用,抗原类物质经 M 细胞吞噬转运,通

过这种方式实现将抗原高效传递给抗原提呈细胞,因此可以认为 M 细胞对肠腔内抗原物质的采样过程是肠道黏膜免疫的重要起始步骤之一^[32]。

肠上皮下也有部分发挥重要免疫功能的细胞,如小肠树突状细胞(dendritic cells, DCs)与远端结肠的 BLP+巨噬细胞(“balloon-like” protrusions macrophages),与 M 细胞类似,二者均有在肠腔内“采样”的功能^[33-34]。

1.2 评估肠道屏障功能的常用试验方法

目前有多种可以评估肠道屏障功能及肠道通透性的方法,其原理有较大差异。本文总结了不同的评估方法及其优势与劣势,以便在不同的检测目的下选择最合适的评估方法(表 2)。

表 1 肠道微生物对肠道屏障的保护作用

作用类型	作用机制	代表菌群	参考文献
1. 定植抗性	共生菌通过抢夺黏附位点、分泌抑菌物质、维持肠腔无氧环境、与致病菌竞争营养物质以及抑制致病菌氧化呼吸链等作用形式,从而抑制致病菌生长繁殖	<i>Bifidobacterium</i> 、 <i>Lactobacillus</i> 、 <i>Deltaproteobacteria</i> 、 <i>Betaproteobacteria</i>	[14-15]
2. 促进黏液分泌	通过诱导肠道杯状细胞分泌黏蛋白 MUC2 和 TFF3,改善肠道黏液层功能	<i>Lactobacillus</i> 、 <i>Bacillus</i>	[16-17]
3. 增强紧密连接蛋白功能	通过 GLP-2 机制、PKC 信号通路或 TLR-2 和 PI3K 信号通路,抑制肠上皮细胞凋亡,诱导肠上皮细胞间紧密连接蛋白表达上调,增强肠上皮细胞间紧密连接复合体功能	<i>Akkermansia</i> 、 <i>Enterococcus</i> 、 <i>Lactobacillus</i>	[18-19]
4. 调节肠道免疫功能	通过诱导肠道上皮细胞中抗原提呈细胞及淋巴细胞,分化成熟;诱导分泌多种细胞因子;调节 Th1/Th2 平衡以及增加肠液中免疫球蛋白的含量等多种途径提高肠道免疫功能	<i>Clostridium clusters IV and XIVa</i> 、 <i>Escherichia</i> 、 <i>Lactobacillus</i> 等多种肠道细菌	[20-21]
5. 肠道微生物分泌的保护性代谢产物	通过代谢产生丁酸盐、次级胆汁酸、细菌素及 SCFA 等抑菌性物质,调节肠道内菌群平衡,抑制致病菌生长繁殖	<i>Bacteroides</i> 、 <i>Lactobacillus</i> 、 <i>Bifidobacterium</i> 、 <i>Clostridium</i> 、 <i>Listeria</i> 、 <i>Eubacterium</i>	[22-25]

表 2 肠道屏障评估方法

检测方法	检测物质	样本类型	评估肠道部位	优缺点	参考文献
1. 尤斯室	水、离子、单糖等小分子物质及电解质	肠组织活检	取样部位	优点:应用成熟,结果直观且易于比较; 缺点:侵入性检测,需要获取新鲜肠道组织;为体外检测,不能连续评估肠道屏障功能	[35]
2. 肠道通透性检测	通常为“多糖检测”,同时应用各种糖类以反映不同肠段屏障功能				[36]
蔗糖	对应糖类的尿液排泄率	尿液	胃十二指肠	优点:无创操作,精确定位; 缺点:需收集 24 h 尿液进行检测,工作量大,消耗时间长	
乳糖比鼠李糖比率	对应糖类的尿液排泄率	尿液	小肠	优点:无创操作,精确定位; 缺点:需收集 24 h 尿液进行检测,工作量大,消耗时间长	
三氯蔗糖比赤藓糖醇比率	对应糖类的尿液排泄率	尿液	大肠	优点:无创操作,精确定位; 缺点:需收集 24 h 尿液进行检测,工作量大,消耗时间长	
3. 肠上皮细胞损伤标志物					
瓜氨酸	循环瓜氨酸浓度	血浆	小肠	优点:易于检测	[37]
脂肪酸结合蛋白	血浆或尿液 FABP 浓度	血浆/尿液		优点:敏感性高,易于检测; 缺点:仅在肠上皮细胞损伤急性期可检测	[38]

续表 2

检测方法	检测物质	样本类型	评估肠道部位	优缺点	参考文献
谷胱甘肽硫转移酶	α -GSTs	血浆/尿液	肝、肾、肠	优点:易于检测; 缺点:肝、肾、肠都能产生,特异性较差	[1]
紧密连接蛋白	闭合蛋白、ZO 等肠上皮 间紧密连接蛋白	尿液/血浆 或血清	肠	优点:最直接、准确反映肠道屏障完整性; 缺点:缺乏数据支持	[39]
胰高血糖素样肽-2	胰高血糖素样肽-2	粪便	全肠段	优点:易于取样和检测; 缺点:受饮食影响较大	[40]
肠道黏膜 microRNA	肠黏膜 miRNA	粪便	全肠段	优点:粪便 miRNA 稳定性好、丰度高、易于储存; 缺点:miR-21 等 miRNA 在紧密连接蛋白表 达中的作用尚存在争议	[41-42]
4. 肠道细菌相关毒素/代谢产物					
鲎试验	细菌内毒素如脂多糖	血浆	全肠段	优点:经门静脉检测时较灵敏; 缺点:经末梢血检测时灵敏性较低,特异性 较差	[43]
LPS 结合蛋白	血清 LPS 结合蛋白	血清	全肠段	优点:与直接检测末梢 LPS 相比,灵敏性高; 缺点:特异性较差	[44]
循环内毒素核心抗体	抗 LPS-抗体	血清	全肠段	优点:炎症急性期存在,易于检测; 缺点:灵敏性较低,特异性较差	
D-乳酸	细菌产物 D-乳酸	血浆	全肠段	优点:易于检测; 缺点:特异性较差	[45]
丁酸盐	粪便丁酸盐含量或产丁 酸微生物含量	粪便	结肠	优点:粪便中稳定性好,易于检测; 缺点:缺乏参考标准	[46]
结肠内层黏液	结肠内层黏液中细菌数	活检	结肠	优点:直接反映黏液层功能,较准确; 缺点:侵入性检测,且缺乏评价标准	
5. 肠道炎症及免疫相关标志物					
钙卫蛋白	中性粒细胞产物粪便钙 卫蛋白	粪便	结肠	优点:钙卫蛋白具有明显的抗蛋白水解降解 能力,稳定性高; 缺点:特异性较差	[47]
分泌型 IgA	ELISA 法检测 IgA	血清	全肠段	优点:易于检测,直接反映肠道炎症情况; 缺点:特异性较差	[8]
α -1-抗胰蛋白酶	粪便 AAT 清除率	粪便	全肠段	优点:易于检测,稳定性高; 缺点:特异性较差	[48-49]
6. 其他组织学方法					
紧密连接蛋白表达水平		肠组织 活检	取样部位	优点:直接反映检测部位肠道屏障功能,结 果可靠准确; 缺点:侵入性检测,需要获取新鲜肠道组织; 为体外检测,不能连续评估肠道屏障功能	
肠上皮细胞脱落水平		肠组织 活检	取样部位	优点:直接反映检测部位肠道屏障功能,结 果可靠准确; 缺点:侵入性检测,需要获取新鲜肠道组织; 为体外检测,不能连续评估肠道屏障功能	
杯状细胞分析		肠组织 活检	取样部位	优点:直接反映检测部位肠道屏障功能,结 果可靠准确; 缺点:侵入性检测,需要获取新鲜肠道组织; 为体外检测,不能连续评估肠道屏障功能	
潘氏细胞分析		肠组织 活检	取样部位	优点:直接反映检测部位肠道屏障功能,结 果可靠准确; 缺点:侵入性检测,需要获取新鲜肠道组织; 为体外检测,不能连续评估肠道屏障功能	
防御素		肠组织 活检	取样部位	优点:直接反映检测部位肠道屏障功能,结 果可靠准确; 缺点:侵入性检测,需要获取新鲜肠道组织; 为体外检测,不能连续评估肠道屏障功能	

随着肠上皮细胞体外培养及肠道类器官等实验技术的发展,使得在体外研究肠上皮分泌物、细菌、探针等物质的相互作用及其对肠道通透性的影响成为可能。目前常用的体外探究肠道屏障功能的细胞系有 Caco-2、T84、SK-CO15、HT29 等单细胞系,以及多细胞系共培养体系^[50]。除此之外,肠类器官也在近几年迅速发展,这种体外培养模式可再现原始肠上皮的 3D 结构和遗传特征^[51],使肠类器官成为研究肠屏障功能的一个非常有应用前景的模型,本文不再对该类技术进行深入介绍。

2 肠道屏障功能破坏与肥胖相关代谢疾病的研究进展

随着对肠道屏障功能认识的逐渐加深,肥胖以及肥胖相关代谢性疾病与肠道屏障功能障碍之间的相关性被逐渐挖掘,成为新的研究热点。

2.1 肠道屏障损伤与肥胖

2.1.1 物理屏障受损 高脂饮食诱导的肥胖大鼠肠黏膜中 occludin、claudin-1、claudin-3 和 JAM-1 等肠上皮紧密连接蛋白的表达水平受到明显抑制^[52]。高脂饮食喂养的肥胖小鼠回肠处同样观察到紧密连接蛋白 occludin、ZO-1 和 claudin-1 的表达下调,而补充花青素可以增加肠道胰高血糖素样肽-2 (glucagon-like peptide 2, GLP-2),从而上调紧密连接蛋白水平,改善肥胖^[53]。

肥胖与肠道黏液层功能受损之间也存在诸多联系。携带肥胖基因的小鼠与同窝瘦小鼠相比,其结肠内黏液层存在缺陷,表现为渗透性增加,黏液生成速率降低,即使在饮食中添加膳食纤维也无法纠正这种缺陷^[54]。同时高脂饮食的摄入可以通过减少肠道杯状细胞的数量,抑制结肠 MCU2 表达,从而损害黏液屏障^[55]。

2.1.2 免疫和功能屏障受损 高脂喂养大鼠的十二指肠黏膜中观察到 IAP 的活性降低^[56]。且另有研究表明,内源性和口服补充的 IAP 都可以抑制高脂饮食喂养小鼠肠道对 LPS 的吸收,同时口服补充 IAP 可以预防和逆转代谢综合征。而对于正常喂养小鼠,口服 IAP 同样可以改善脂质代谢水平^[57]。这为临床难治性肥胖的治疗提供了新思路。同时高脂饮食会引起小鼠回肠处溶菌酶和 α -防御素基因表达减少^[58],不利于肠道微环境稳态。

2.1.3 生物屏障受损 已有大量研究证明肥胖患者肠道微生物与正常人群相比发生明显变化。在肥胖患者中观察到结肠拟杆菌门数量减少 50%,而厚壁菌门数量则明显增加^[59],同时这种改变会随着体质量减轻而逐渐恢复正常。造成这种差异的原因可能是在肥胖患者中明显增加的肠道微生物可将人体自身无法消化或不易消化的碳水化合物分解为人体可利用的单糖,从而为宿主提供额外的能量来源^[60]。

随着无菌小鼠和粪菌移植技术的不断发展,肠道微生物在肥胖发病中发挥的重要作用也被逐渐揭露。在 mice 中,将肠道菌群从肥胖小鼠移植到无菌小鼠后,与移植正常体质量小鼠的肠道菌群相比,更能增加肥胖发病率^[59]。这表明肥胖小鼠拥有更易引发肥胖的肠道微生物组成结构。

某些微生物代谢产物也与肥胖关系密切。研究证实肥胖人群及高脂饮食诱导的肥胖小鼠体内胆汁酸结构发生明显变化,其中非 12 α -羟基胆汁酸在肥胖组中明显减少^[61]。近期有研究表明,胆汁酸激活下丘脑内武田-G 蛋白偶联受体 (takeda G protein-coupled receptor 5, TGR5),通过激活交感神经系统减少小鼠食物摄入量,并可以使肥胖小鼠体质量下降^[62]。因此肠道微生物对胆汁酸的代谢,可以通过“肠-脑轴”直接调控动物的摄食行为,与肥胖的发生息息相关。笔者认为肠道微生物代谢产物直接调控中枢功能是当下的热点方向,值得深入研究。

2.2 肠道屏障损伤与非酒精性脂肪肝 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)

NAFLD 是指除外酒精和其他明确的致肝损伤因素所致的肝细胞内脂肪过度沉积为主要特征的临床病理综合征。包括单纯性脂肪肝 (simple fatty liver, SFL)、非酒精性脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis, NASH) 及其相关肝硬化。作为肥胖相关代谢性疾病的代表性疾病,其发生发展与肠道屏障功能之间同样存在密切关系。

2.2.1 物理屏障受损 已有临床研究证实,NAFLD 患者的肠道通透性明显增加且与肝脏脂肪变性的严重程度强相关性,同时检测到 NAFLD 患者十二指肠紧密连接蛋白 ZO-1 的表达明显低于正常人群,表明肠道屏障完整性受损^[63]。动物实验发现,小鼠在敲除编码 JAM-A 的基因 F11r 后,引起上皮细胞间紧密连接受损,在高脂高果糖高胆固醇饮食下,与对照组相比有更严重的肝脏脂肪病变^[64]。同时 NAFLD 患者的结肠组织中也被发现存在 JAM-A 表达明显低于健康人群^[64]。

2.2.2 免疫和功能屏障受损 临床研究表明,肝硬化患者粪便 IAP 活性明显降低,同时 IAP 基因敲除小鼠的肝纤维化标志物明显高于野生型小鼠,而口服 IAP 可部分挽救其肝纤维化程度^[65]。

肠道及粪便 SIgA 含量也被证实与 NAFLD 发病存在相关性。用蛋氨酸和胆碱缺乏饮食模式 (methionine and choline deficient diet, MCD) 喂养小鼠进行造模使其患有 NAFLD 后,其粪便 SIgA 含量与肠道 IgA+免疫细胞数量明显减少^[66]。除此之外有部分研究报道血清 IgA 含量与 NAFLD 疾病严重程度有一定相关性。临床研究证明,与早期 NASH 患者相比,严重 NASH 患者的血清 IgA 浓度升高^[67]。另有研究表明与单纯性脂肪变性患者相比,NASH 患者的血清 IgA 升高^[68]。然而 NAFLD 疾病进展过程中为什么会出现肠道及粪便 SIgA 含量下降同时血清 IgA 含量上升,也是值得进一步研究的方向。

肠道潘氏细胞分泌的多种抗菌肽,已被报道与肥胖及 NAFLD 发病有关。研究表明,肥胖患者肠道潘氏细胞人 α -防御素-5 (human α -defensin-5, HD-5) 分泌能力明显下降^[69]。而给小鼠喂食高脂饮食诱导 NAFLD 后,用生理相关量的 HD-5 (0.001%) 治疗可明显改善小鼠的肝脏脂肪分布及血糖调节能力^[69]。

2.2.3 生物屏障受损 通过粪菌移植 (fecal microbial transplantation, FMT) 的方法可以直观说明肠道微生物在 NAFLD

发病中的作用。将高脂饲料喂养的肥胖小鼠(一组表现为单纯肥胖,另一组表现为脂肪肝,2组小鼠体质量无明显差异)的粪便微生物分别移植给无菌小鼠,结果发现移植了脂肪肝组小鼠粪便微生物的无菌小鼠出现了更为严重的肝脏脂肪变性^[70]。对比2组小鼠肠道微生物之间的差异,发现有肝脏脂肪变性的小鼠出现 *Lachnospiraceae bacterium 609* 和 *Barlesiella intestinihominis* 2种细菌的丰度增加^[70]。给无菌小鼠分别移植 NASH 患者或健康人的粪便,然后喂食标准饮食或高脂饮食后,结果发现移植 NASH 菌群-高脂饮食组小鼠附睾脂肪重量、肝脏脂肪变性、多灶性坏死和炎性细胞浸润明显增加;而移植健康人菌群-高脂饮食组小鼠仅出现大量脂质积聚和少量炎症反应^[71]。

肠道微生物代谢产物牛磺熊去氧胆酸(tauroursodeoxycholic acid, TUDCA)可减轻 HFD 诱导的小鼠 NAFLD。此外, TUDCA 可减轻肠道炎症反应,并通过增加紧密连接蛋白表达水平来改善肠道屏障功能^[72]。肠道微生物代谢产物丁酸盐也对 NAFLD 发挥一定改善作用。动物实验表明,给予高脂高糖诱导 NAFLD 小鼠丁酸钠治疗,可以减轻饮食诱导的肠道屏障功能障碍,并可上调肠道潘氏细胞抗菌肽的表达和分泌^[73]。肠道细菌代谢产生的乙醇或其肝脏氧化代谢物乙醛,可能通过对肝细胞的直接毒性作用参与 NAFLD 的进展^[74],研究发现 NASH 患者的粪便中产乙醇的细菌数量增加,体循环和呼吸中乙醇浓度增加^[75]。除此之外,可代谢蛋白的肠道微生物同样也可能参与介导促炎症反应和 NAFLD 进展,特别是某些支链氨基酸的细菌发酵产物如硫化氢、氨和酚类化合物等对肠道上皮完整性和肠道通透性有不利影响^[76]。相反的是,芳香族氨基酸色氨酸的肠道细菌代谢产物吲哚类化合物则在动物实验中被证明可减少肠道炎症和防止肠道屏障功能障碍^[77]。

2.3 肠道屏障损伤与 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM)

T2DM 是一种常见的内分泌代谢疾病,占全球糖尿病患者总量的 90% 以上^[78]。T2DM 也与肠道屏障受损之间存在明显相关性,肠道屏障功能受损在 T2DM 发生发展中的作用机制值得进一步探讨。

2.3.1 物理屏障受损 已有研究表明,T2DM 患者存在明显的血清 LPS、ZO 蛋白及 IFABP 水平增高,表明肠道上皮细胞及其紧密连接结构损伤^[79]。体外细胞实验证明,HFD 喂养的糖尿病前期小鼠分离的小肠内容物可诱导 Caco-2 和 MDCK 细胞产生更强的细胞旁转运,这种变化同时伴随着紧密连接蛋白 claudins、occludin 和 ZO-1 的含量明显降低,以上结果表明肠道上皮细胞层被严重破坏^[80]。动物实验也发现相似结果,通过高脂饮食诱导小鼠进入糖尿病前期后,十二指肠和空肠处紧密连接蛋白 claudins-1、-2、-3 和 ZO-1 等出现结构异常及通透性改变^[81]。

2.3.2 免疫和功能屏障受损 研究表明,缺乏 IAP 的小鼠会患有 T2DM,而 IAP 对 T2DM 具有保护作用,粪便 IAP 每降低 25 U/g,患糖尿病的风险就增加 35%,同时高粪便 IAP 水平的肥胖人群发展为 T2DM 的风险明显降低^[82]。

2.3.3 生物屏障受损 国内针对 345 名中国人肠道微生物

的宏基因组测序结果表明,T2DM 患者存在明显的肠道微生物失调,包括产丁酸微生物数量减少,各种机会致病菌增多,以及氧化应激反应增多和硫酸盐还原能力上调等^[83]。国外针对 145 名血糖控制正常、受损或糖尿病的欧洲女性的粪便宏基因组测序结果同样证明 T2DM 患者的肠道微生物组成与正常人相比发生明显改变,能基于肠道微生物测序结果高精度地识别 T2DM 发病情况,体现了肠道微生物在 T2DM 诊断中的应用价值^[84]。

短链脂肪酸(short chain fatty acid, SCFA)也在 T2DM 发生发展过程中起重要作用。已有研究证实,丁酸能增加结肠 L 细胞胰高糖素样肽-1 (glucagon like peptide-1, GLP1) 和酪酪肽(peptide tyrosine-tyrosine, PYY) 的分泌,并增加肠道转运时间,以增强机体胰岛素敏感性^[78]。除此之外,小鼠和人的胰岛 β 细胞均可表达 SCFA 受体 G 蛋白偶联受体 41 (G-protein coupled receptor 41, GPR41) 和 G 蛋白偶联受体 43 (G-protein coupled receptor 43, GPR43)^[85-86], SCFA 可通过激活 GPR43 使葡萄糖刺激后引发的胰岛素分泌能力上调^[85]。人胰岛 β 细胞体外培养实验也发现,丙酸可经蛋白激酶 C 的信号传导途径增强动态葡萄糖刺激下的胰岛素分泌^[87]。另一种代谢产物胆汁酸中的猪胆酸类则可以通过激活胆汁酸受体 TGR5 和法尼醇 X 受体 (farnesoid X receptor, FXR) 上调肠内分泌细胞 GLP1 的产生和分泌,从而在糖尿病小鼠模型中一定程度上提高血清空腹 GLP1 水平并改善葡萄糖稳态^[88]。除上述代谢产物外,三甲胺 N-氧化物(trimethylamine N-oxide, TMAO)、LPS、芳香族氨基酸及其附属代谢产物也通过不同的代谢和免疫途径参与 T2DM 的发生发展^[89]。

3 总结与展望

本文首先总结并探讨了肠道屏障的基本组成结构及各层基本功能,为后续针对肠道屏障功能所做的研究方向具有一定指导作用。其次,本文详细总结了目前临床及实验室中评估肠道屏障功能及其完整性的各种技术方法,并对其利弊进行一定的阐述,为后续临床评估及实验设计提供指导。最后,探讨了肥胖及其相关代谢性疾病与肠道屏障功能受损之间的关系。总的来说,肠道屏障受损和随后少量细菌或细菌产物如 LPS 的移位被认为是导致代谢性疾病的低度炎症特征的一个重要机制,可能与随后肝脏、骨骼肌和心肌等器官的脂肪浸润有关。富含脂肪和果糖的西式饮食破坏肠道屏障,导致门静脉通透性增强和内毒素水平升高。这种改变的结果使细菌和细菌产物在组织中的浸润增强,进一步引发组织炎症和脂肪积聚。此外,西式饮食喂养小鼠后,在外周血和脂肪组织中可以观察到细菌或细菌产物,这一观察结果也表明代谢疾病中肠屏障功能障碍以及肠道菌群位移的发生^[90]。这些发现为肥胖和代谢性疾病的病理生理学提供了新的概念,可能在饮食和药物水平上提供新的治疗策略。

肥胖作为一种多基因遗传病,易受环境影响,肠道微生物或许是相同饮食结构人群下不同个体肥胖发病情况有所差异的环境因素。传统意义上的“肥胖基因”如 OB、LEPR、PC1、POMC 和 MC4R^[91-92],以及后来提出的“新肥胖基因”

TMEM18 等大多数与调节食欲有关^[93]。应意识到的是,肥胖家系不仅仅在遗传学上有相似性,由于长期共同生活及饮食,他们在肠道微生物上也表现出惊人的一致性,这种环境因素对肥胖发病的贡献率与遗传因素相比,是否起到更关键的作用,是值得后续研究的问题。

随着肠道屏障和肠道菌群的重要性与日俱增,我们面临如何改善肠道屏障功能和肠道微生物群的问题。对于肠道通透性调节的研究才刚刚起步,目前已经确定了一些方法,其中相对成熟的是口服益生菌制剂。近年来,肠道粪菌移植也逐渐进入临床,并且已经在治疗难治性 *Clostridium difficile* 感染的患者中展现出一定疗效^[94],目前粪菌移植也正逐渐进入其他可能与肠道屏障和肠道微生物有关的疾病治疗中,其有效性与安全性值得进一步评估。除此之外,还有许多其他干预措施,如特殊饮食(低脂低糖饮食,减少摄入不易吸收的短链碳水化合物等)。现在迫切需要进行更多的干预试验,分别评估这类物质作为预防或治疗药物在不同人群和疾病中的效果。为了以科学合理的方式进行此类试验,需要对肠道屏障结构、功能和通透性进行更加明确的定义,同时需要更加标准、可量化的评估肠道屏障功能及完整性的方法。

参 考 文 献

- [1] Bischoff SC, Barbara G, Buurman W, et al. Intestinal permeability: a new target for disease prevention and therapy[J]. BMC Gastroenterol, 2014, 14: 189.
- [2] Portincasa P, Bonfrate L, Khalil M, et al. Intestinal barrier and permeability in health, obesity and NAFLD[J]. Biomedicine, 2021, 10(1): 83.
- [3] Lallès JP. Recent advances in intestinal alkaline phosphatase, inflammation, and nutrition[J]. Nutr Rev, 2019, 77(10): 710–724.
- [4] Singh SB, Lin HC. Role of intestinal alkaline phosphatase in innate immunity[J]. Biomolecules, 2021, 11(12): 1784.
- [5] Malo MS, Moaven O, Muhammad N, et al. Intestinal alkaline phosphatase promotes gut bacterial growth by reducing the concentration of luminal nucleotide triphosphates[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2014, 306(10): G826–G838.
- [6] Paone P, Cani PD. Mucus barrier, mucins and gut microbiota: the expected slimy partners?[J]. Gut, 2020, 69(12): 2232–2243.
- [7] Lucie EM, Benoit C, Mickaël D, et al. Experimental models to study intestinal microbes–mucus interactions in health and disease[J]. FEMS Microbiol Rev, 2019, 43(5): 457–489.
- [8] Moreira APB, Texeira TFS, Ferreira AB, et al. Influence of a high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and metabolic endotoxaemia[J]. Br J Nutr, 2012, 108(5): 801–809.
- [9] Paradis T, Bègue H, Basmaciyan L, et al. Tight junctions as a key for pathogens invasion in intestinal epithelial cells[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(5): 2506.
- [10] Otani T, Furuse M. Tight junction structure and function revisited[J]. Trends Cell Biol, 2020, 30(10): 805–817.
- [11] Rao R. Occludin phosphorylation in regulation of epithelial tight junctions[J]. Ann N Y Acad Sci, 2009, 1165: 62–68.
- [12] Adak A, Khan MR. An insight into gut microbiota and its functionalities[J]. Cell Mol Life Sci, 2019, 76(3): 473–493.
- [13] Valdes AM, Walter J, Segal E, et al. Role of the gut microbiota in nutrition and health[J]. BMJ, 2018: k2179.
- [14] Hynönen U, Palva A. *Lactobacillus* surface layer proteins: structure, function and applications[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2013, 97(12): 5225–5243.
- [15] Stacy A, Andrade-Oliveira V, McCulloch JA, et al. Infection trains the host for microbiota-enhanced resistance to pathogens[J]. Cell, 2021, 184(3): 615–627. e17.
- [16] 邢肖伟, 陶金华, 江 曙, 等. 肠道菌群影响黏膜屏障结构与功能的研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2018, 30(6): 725–730.
- Xing XW, Tao JH, Jiang S, et al. The impacts of intestinal microflora on the structure and functions of intestinal mucosal barrier: research progress[J]. Chin J Microecol, 2018, 30(6): 725–730.
- [17] Martín R, Chamignon C, Mhedbi-Hajri N, et al. The potential probiotic *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I-3690 strain protects the intestinal barrier by stimulating both mucus production and cytoprotective response[J]. Sci Rep, 2019, 9: 5398.
- [18] Chelakkot C, Choi Y, Kim DK, et al. *Akkermansia muciniphila*-derived extracellular vesicles influence gut permeability through the regulation of tight junctions[J]. Exp Mol Med, 2018, 50(2): e450.
- [19] Yan T, Zhang F, He Y, et al. *Enterococcus faecium* HDRsEfl elevates the intestinal barrier defense against enterotoxigenic *Escherichia coli* and regulates occludin expression via activation of TLR-2 and PI3K signalling pathways[J]. Lett Appl Microbiol, 2018, 67(5): 520–527.
- [20] Pickard JM, Zeng MY, Caruso R, et al. Gut microbiota: role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease[J]. Immunol Rev, 2017, 279(1): 70–89.
- [21] Cervantes-Barragan L, Chai JN, Tianero MD, et al. *Lactobacillus reuteri* induces gut intraepithelial CD4⁺ CD8 α ⁺ T cells[J]. Science, 2017, 357(6353): 806–810.
- [22] 张萌萌, 姜 宁, 张爱忠. 肠道微生物对肠道屏障功能完整性的维护机制研究概况[J]. 微生物学通报, 2020, 47(3): 933–940.
- Zhang MM, Jiang N, Zhang AZ. Maintenance mechanism of intestinal barrier function integrity by intestinal microbes[J]. Microbiol China, 2020, 47(3): 933–940.
- [23] Martin G, Kolida S, Marchesi JR, et al. *In vitro* modeling of bile acid processing by the human fecal microbiota[J]. Front Microbiol, 2018, 9: 1153.
- [24] Jia W, Xie GX, Jia WP. Bile acid–microbiota crosstalk in gastrointestinal inflammation and carcinogenesis[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2018, 15(2): 111–128.
- [25] Bach Knudsen KE, Lærke HN, Hedemann MS, et al. Impact of diet–modulated butyrate production on intestinal barrier function and inflammation[J]. Nutrients, 2018, 10(10): 1499.
- [26] Camilleri M. Human intestinal barrier: effects of stressors, diet, prebiotics, and probiotics[J]. Clin Transl Gastroenterol, 2021, 12(1): e00308.
- [27] Wang SL, Shao BZ, Zhao SB, et al. Impact of paneth cell autophagy on inflammatory bowel disease[J]. Front Immunol, 2018, 9: 693.
- [28] May R, Qu DF, Weygant N, et al. Brief report: Delc1 deletion in tuft cells results in impaired epithelial repair after radiation injury[J]. Stem Cells, 2014, 32(3): 822–827.

- [29] May R, Sureban SM, Hoang N, et al. Doublecortin and CaM kinase-like-1 and leucine-rich-repeat-containing G-protein-coupled receptor mark quiescent and cycling intestinal stem cells, respectively[J]. *Stem Cells*, 2009, 27(10): 2571–2579.
- [30] Chandrakesan P, May R, Weygant N, et al. Intestinal tuft cells regulate the ATM mediated DNA Damage response via Dclk1 dependent mechanism for crypt restitution following radiation injury[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 37667.
- [31] Kobayashi N, Takahashi D, Takano S, et al. The roles of peyer's patches and microfold cells in the gut immune system: relevance to autoimmune diseases[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2345.
- [32] Nakamura Y, Mimuro H, Kunisawa J, et al. Microfold cell-dependent antigen transport alleviates infectious colitis by inducing antigen-specific cellular immunity[J]. *Mucosal Immunol*, 2020, 13(4): 679–690.
- [33] Rescigno M, Urbano M, Valzasina B, et al. Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria[J]. *Nat Immunol*, 2001, 2(4): 361–367.
- [34] Chikina AS, Nadalin F, Maurin M, et al. Macrophages maintain epithelium integrity by limiting fungal product absorption[J]. *Cell*, 2020, 183(2): 411–428. e16.
- [35] Llopis M, Antolin M, Carol M, et al. *Lactobacillus casei* downregulates commensals' inflammatory signals in Crohn's disease mucosa[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2008, 15(2): 275–283.
- [36] Schoultz I, Keita ÅV. The intestinal barrier and current techniques for the assessment of gut permeability[J]. *Cells*, 2020, 9(8): 1909.
- [37] Fragkos KC, Forbes A. Citrulline as a marker of intestinal function and absorption in clinical settings: a systematic review and meta-analysis[J]. *United European Gastroenterol J*, 2018, 6(2): 181–191.
- [38] Montagnana M, Danese E, Lippi G. Biochemical markers of acute intestinal ischemia: possibilities and limitations[J]. *Ann Transl Med*, 2018, 6(17): 341.
- [39] Ganda Mall JP, Östlund-Lagerström L, Lindqvist CM, et al. Are self-reported gastrointestinal symptoms among older adults associated with increased intestinal permeability and psychological distress? [J]. *BMC Geriatr*, 2018, 18(1): 75.
- [40] Brubaker PL. Glucagon-like peptide-2 and the regulation of intestinal growth and function[J]. *Compr Physiol*, 2018, 8(3): 1185–1210.
- [41] Rashid H, Hossain B, Siddiqua T, et al. Fecal microRNAs as potential biomarkers for screening and diagnosis of intestinal diseases[J]. *Front Mol Biosci*, 2020, 7: 181.
- [42] Morris NL, Choudhry MA. Maintenance of gut barrier integrity after injury: trust your gut microRNAs[J]. *J Leukoc Biol*, 2021, 110(5): 979–986.
- [43] Hollander D, Kaunitz JD. The “leaky gut”: tight junctions but loose associations?[J]. *Dig Dis Sci*, 2020, 65(5): 1277–1287.
- [44] Citronberg JS, Wilkens LR, Lim U, et al. Reliability of plasma lipopolysaccharide-binding protein (LBP) from repeated measures in healthy adults[J]. *Cancer Causes Control*, 2016, 27(9): 1163–1166.
- [45] van Vliet Michel J, Tissing Wim JE, Rings Edmond HHM, et al. Citrulline as a marker for chemotherapy induced mucosal barrier injury in pediatric patients[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2009, 53(7): 1188–94.
- [46] Wang HB, Wang PY, Wang X, et al. Butyrate enhances intestinal epithelial barrier function via up-regulation of tight junction protein claudin-1 transcription[J]. *Dig Dis Sci*, 2012, 57(12): 3126–3135.
- [47] Damms A, Bischoff SC. Validation and clinical significance of a new calprotectin rapid test for the diagnosis of gastrointestinal diseases [J]. *Int J Colorectal Dis*, 2008, 23(10): 985–992.
- [48] Kraemer A, Bulgakova T, Schukina O, et al. Automated fecal bio-marker profiling: a convenient procedure to support diagnosis for patients with inflammatory bowel diseases[J]. *Clin Lab*, 2020, 66(7): 1249–1259.
- [49] McCormick BJJ, Murray-Kolb LE, Lee GO, et al. Intestinal permeability and inflammation mediate the association between nutrient density of complementary foods and biochemical measures of micronutrient status in young children: results from the MAL-ED study[J]. *Am J Clin Nutr*, 2019, 110(4): 1015–1025.
- [50] Dosh RH, Jordan-Mahy N, Sammon C, et al. Use of l-pNIPAM hydrogel as a 3D-scaffold for intestinal crypts and stem cell tissue engineering[J]. *Biomater Sci*, 2019, 7(10): 4310–4324.
- [51] Schutgens F, Clevers H. Human organoids: tools for understanding biology and treating diseases[J]. *Annu Rev Pathol Mech Dis*, 2020, 15: 211–234.
- [52] Suzuki T, Hara H. Dietary fat and bile juice, but not obesity, are responsible for the increase in small intestinal permeability induced through the suppression of tight junction protein expression in LETO and OLETF rats[J]. *Nutr Metab (Lond)*, 2010, 7: 19.
- [53] Cremonini E, Daveri E, Mastaloudis A, et al. Anthocyanins protect the gastrointestinal tract from high fat diet-induced alterations in redox signaling, barrier integrity and dysbiosis[J]. *Redox Biol*, 2019, 26: 101269.
- [54] Schroeder BO, Birchenough GMH, Pradhan M, et al. Obesity-associated microbiota contributes to mucus layer defects in genetically obese mice[J]. *J Biol Chem*, 2020, 295(46): 15712–15726.
- [55] Hussain M, Umair Ijaz M, Ahmad MI, et al. Meat proteins in a high-fat diet have a substantial impact on intestinal barriers through mucus layer and tight junction protein suppression in C57BL/6J mice[J]. *Food Funct*, 2019, 10(10): 6903–6914.
- [56] de La Serre CB, Ellis CL, Lee J, et al. Propensity to high-fat diet-induced obesity in rats is associated with changes in the gut microbiota and gut inflammation[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2010, 299(2): G440–G448.
- [57] Kaliannan K, Hamarneh SR, Economopoulos KP, et al. Intestinal alkaline phosphatase prevents metabolic syndrome in mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(17): 7003–7008.
- [58] Tomas J, Mulet C, Saffarian A, et al. High-fat diet modifies the PPAR- γ pathway leading to disruption of microbial and physiological ecosystem in murine small intestine[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(40): E5934–E5943.
- [59] Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest[J]. *Nature*, 2006, 444(7122): 1027–1031.
- [60] Tremaroli V, Bäckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism[J]. *Nature*, 2012, 489(7415): 242–249.
- [61] Wei ML, Huang FJ, Zhao L, et al. A dysregulated bile acid-gut

- microbiota axis contributes to obesity susceptibility[J]. *EBioMedicine*, 2020, 55: 102766.
- [62] Castellanos-Jankiewicz A, Guzmán-Quevedo O, Fénelon VS, et al. Hypothalamic bile acid-TGR5 signaling protects from obesity[J]. *Cell Metab*, 2021, 33(7): 1483–1492. e10.
- [63] Miele LC, Valenza V, La Torre G, et al. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Hepatology*, 2009, 49(6): 1877–1887.
- [64] Rahman K, Desai C, Iyer SS, et al. Loss of junctional adhesion molecule A promotes severe steatohepatitis in mice on a diet high in saturated fat, fructose, and cholesterol[J]. *Gastroenterology*, 2016, 151(4): 733–746. e12.
- [65] Liu Y, Cavallaro PM, Kim BM, et al. A role for intestinal alkaline phosphatase in preventing liver fibrosis[J]. *Theranostics*, 2021, 11(1): 14–26.
- [66] Matsumoto K, Ichimura M, Tsuneyama K, et al. Fructo-oligosaccharides and intestinal barrier function in a methionine-choline-deficient mouse model of nonalcoholic steatohepatitis[J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0175406.
- [67] Tomita K, Teratani T, Yokoyama H, et al. Serum immunoglobulin A concentration is an independent predictor of liver fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis before the cirrhotic stage[J]. *Dig Dis Sci*, 2011, 56(12): 3648–3654.
- [68] McPherson S, Henderson E, Burt AD, et al. Serum immunoglobulin levels predict fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease[J]. *J Hepatol*, 2014, 60(5): 1055–1062.
- [69] Larsen IS, Fritzen AM, Carl CS, et al. Human Paneth cell α -defensin-5 treatment reverses dyslipidemia and improves glucoregulatory capacity in diet-induced obese mice[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2019, 317(1): E42–E52.
- [70] Le Roy T, Llopis M, Lepage P, et al. Intestinal microbiota determines development of non-alcoholic fatty liver disease in mice[J]. *Gut*, 2013, 62(12): 1787–1794.
- [71] Chiu CC, Ching YH, Li YP, et al. Nonalcoholic fatty liver disease is exacerbated in high-fat diet-fed gnotobiotic mice by colonization with the gut microbiota from patients with nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Nutrients*, 2017, 9(11): 1220.
- [72] Wang WJ, Zhao JF, Gui WF, et al. Tauroursodeoxycholic acid inhibits intestinal inflammation and barrier disruption in mice with non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Br J Pharmacol*, 2018, 175(3): 469–484.
- [73] Beisner J, Filipe Rosa L, Kaden-Volynets V, et al. Prebiotic inulin and sodium butyrate attenuate obesity-induced intestinal barrier dysfunction by induction of antimicrobial peptides[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 678360.
- [74] Baker SS, Baker RD, Liu WS, et al. Role of alcohol metabolism in non-alcoholic steatohepatitis[J]. *PLoS One*, 2010, 5(3): e9570.
- [75] Zhu LX, Baker SS, Gill C, et al. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH[J]. *Hepatology*, 2013, 57(2): 601–609.
- [76] Yao CK, Muir JG, Gibson PR. Review article: insights into colonic protein fermentation, its modulation and potential health implications[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2016, 43(2): 181–196.
- [77] Beaumont M, Neyrinck AM, Olivares M, et al. The gut microbiota metabolite indole alleviates liver inflammation in mice[J]. *FASEB J*, 2018, 32(12): fj201800544.
- [78] Sabatino A, Regolisti G, Cosola C, et al. Intestinal microbiota in type 2 diabetes and chronic kidney disease[J]. *Curr Diab Rep*, 2017, 17(3): 16.
- [79] Yuan JH, Xie QS, Chen GC, et al. Impaired intestinal barrier function in type 2 diabetic patients measured by serum LPS, Zonulin, and IFABP[J]. *J Diabetes Complicat*, 2021, 35(2): 107766.
- [80] Oliveira RB, Canuto LP, Collares-Buzato CB. Intestinal luminal content from high-fat-fed prediabetic mice changes epithelial barrier function *in vitro*[J]. *Life Sci*, 2019, 216: 10–21.
- [81] Nascimento JC, Matheus VA, Oliveira RB, et al. High-fat diet induces disruption of the tight junction-mediated paracellular barrier in the proximal small intestine before the onset of type 2 diabetes and endotoxemia[J]. *Dig Dis Sci*, 2021, 66(10): 3359–3374.
- [82] Malo MS. A high level of intestinal alkaline phosphatase is protective against type 2 diabetes mellitus irrespective of obesity[J]. *EBioMedicine*, 2015, 2(12): 2016–2023.
- [83] Qin JJ, Li YR, Cai ZM, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes[J]. *Nature*, 2012, 490(7418): 55–60.
- [84] Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control[J]. *Nature*, 2013, 498(7452): 99–103.
- [85] Priyadarshini M, Villa SR, Fuller M, et al. An acetate-specific GPCR, FFAR2, regulates insulin secretion[J]. *Mol Endocrinol*, 2015, 29(7): 1055–1066.
- [86] McNelis JC, Lee YS, Mayoral R, et al. GPR43 potentiates β -cell function in obesity[J]. *Diabetes*, 2015, 64(9): 3203–3217.
- [87] Pingitore A, Chambers ES, Hill T, et al. The diet-derived short chain fatty acid propionate improves beta-cell function in humans and stimulates insulin secretion from human islets *in vitro*[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2017, 19(2): 257–265.
- [88] Zheng XJ, Chen TL, Jiang RQ, et al. Hyocholic acid species improve glucose homeostasis through a distinct TGR5 and FXR signaling mechanism[J]. *Cell Metab*, 2021, 33(4): 791–803. e7.
- [89] Tanase DM, Gosav EM, Neculae E, et al. Role of gut microbiota on onset and progression of microvascular complications of type 2 diabetes (T2DM)[J]. *Nutrients*, 2020, 12(12): 3719.
- [90] Burcelin R, Crivelli V, Dacosta A, et al. Heterogeneous metabolic adaptation of C57BL/6J mice to high-fat diet[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2002, 282(4): E834–E842.
- [91] Fairbrother U, Kidd E, Malagamuwa T, et al. Genetics of severe obesity[J]. *Curr Diab Rep*, 2018, 18(10): 85.
- [92] Candler T, Kühnen P, Prentice AM, et al. Epigenetic regulation of POMC; implications for nutritional programming, obesity and metabolic disease[J]. *Front Neuroendocrinol*, 2019, 54: 100773.
- [93] Larder R, Sim MFM, Gulati P, et al. Obesity-associated gene TMEM18 has a role in the central control of appetite and body weight regulation[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(35): 9421–9426.
- [94] Wang JW, Kuo CH, Kuo FC, et al. Fecal microbiota transplantation: review and update[J]. *J Formos Med Assoc*, 2019, 118: S23–S31.

(责任编辑:唐秋姗)