

乳铁蛋白调节高脂饮食小鼠糖脂代谢的机制

王无忌¹, 李丽^{1*}, 李妍羿², 张婧¹, 韩纳姝³

¹ 内蒙古医科大学基础医学院 呼和浩特 010100

² 内蒙古医科大学护理学院 呼和浩特 010100

³ 内蒙古医科大学精神卫生学院 呼和浩特 010100)

摘要 目的:探究乳铁蛋白(LF)调节高脂饮食引起的小鼠糖脂代谢紊乱的机制。方法:选取 30 只 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠随机分为对照组(K 组,正常饮食)、模型组(M 组,高脂饲料+饮纯水)、乳铁蛋白治疗组(Y2 组,高脂饲料+饮 2%乳铁蛋白水),连续喂养 12 周。每周记录小鼠体质量变化。在第 12 周取附睾周围腹腔脂肪组织,测定内脏脂肪率。使用商业酶分析试剂盒测血糖、血脂水平,酶联免疫吸附法测定胰岛素水平,16S rRNA 测序法检测小鼠的肠道菌群,气相色谱质谱法检测短链脂肪酸含量。结果:乳铁蛋白干预 12 周后,Y2 组小鼠相比于 M 组小鼠内脏脂肪率下降 31.05%,血糖(5.92 mmol/L)、胰岛素(19.60 mmol/L)、总胆固醇(3.17 mmol/L)、甘油三酯(0.28 mmol/L)和低密度脂蛋白水平(1.84 mmol/L)与 M 组相比均下降且差异显著($P<0.05$),高密度脂蛋白水平(1.88 mmol/L)与 M 组相比显著上升($P<0.05$)。乳铁蛋白干预降低了厚壁菌门和拟杆菌门的比值,增加了拟杆菌门的相对丰度,降低了颤螺杆菌、大肠埃希菌、脱铁杆菌的相对丰度,调节了短链脂肪酸的代谢异常,控制了脂肪的积累。结论:乳铁蛋白通过调节肠道菌群结构来调控脂肪积累,改善高脂饮食小鼠的糖脂代谢紊乱。

关键词 乳铁蛋白; 肠道菌群; 代谢紊乱; 短链脂肪酸

文章编号 1009-7848(2024)05-0280-09 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2024.05.023

随着人们生活方式和饮食习惯的改变,肥胖以及其衍生出来的代谢性疾病,比如 2 型糖尿病、非酒精性脂肪肝、动脉粥样硬化等发病率正在逐年上升^[1]。这类疾病的两大共同特征是胰岛素抵抗和长期的慢性低度炎症状态^[2]。对于肥胖病的发病原因,现在人们广泛接受的理论为肥胖是在遗传和环境因素的双重作用下产生的,其中环境因素是主要影响因素,而肠道微生物群起到一个连接宿主内部环境和外部环境的桥梁作用。肠道菌群与宿主的免疫系统以及能量代谢之间关系密切^[3-4]。目前,代谢性疾病研究的目标是希望找到肠道菌群与引起体内慢性低度炎症以及能量代谢紊乱之间更直接的联系,并希望在不远的将来能够以肠道菌群及其代谢途径为靶点来预防或治疗多种代谢疾病^[5]。

乳铁蛋白(LF)是一种由约 700 个氨基酸组成

的分子质量约为 80 ku 的多功能转铁糖蛋白^[6]。作为先天性免疫系统的重要组成部分,乳铁蛋白由各种腺体黏膜上皮细胞以及中性粒细胞分泌,并广泛存在于人体的外分泌液中,其中以初乳中的乳铁蛋白含量最高^[7]。由于乳铁蛋白本来自于生物体内,因此乳铁蛋白在使用的过程中具有较高的效用性以及安全性。最开始,乳铁蛋白只被当作食品添加剂添加到婴儿奶粉中以增强婴儿的免疫力。随着研究的深入,乳铁蛋白更多的功能被发掘出来了,比如抗炎、抗肿瘤、抗病毒、抗辐射、抑菌等作用^[8-9]。现在乳铁蛋白被广泛应用于医疗药品、日常食品等领域^[10]。

研究显示,经母乳喂养的婴儿能够减少肥胖的发生率,增加益生菌的数量,对肠道菌群的定植产生影响^[11],这可能与乳铁蛋白发挥的作用密切相关。在肠道生态环境,乳铁蛋白能够通过抑制病原菌竞争铁离子以及抑制病原菌生物膜形成来达到抑菌效果^[12],帮助宿主肠道微生物原住民增加定植抗性,以减少潜在病原体的威胁^[13]。同时,低铁环境能够促进双歧杆菌和乳酸杆菌等益生菌的生长^[14],部分益生菌通过 toll 样受体(TLR)黏附于肠上皮细胞并介导免疫刺激,包括肠道免疫细

收稿日期: 2023-05-27

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目(2023LHMS03065); 内蒙古自治区卫生健康科技计划项目(202202144)

第一作者: 王无忌,男,硕士生

通信作者: 李丽 E-mail: 609532398@qq.com

胞的激活、激活 T 细胞重新分泌细胞因子、增加紧密连接蛋白基因的表达等^[15]。最新研究表明,乳铁蛋白可能具有调控能量积累,减轻炎症反应,调节肥胖小鼠脂肪代谢的潜力,而具体机制仍不清楚^[16-17]。

基于以上研究,本实验用乳铁蛋白水喂养小鼠后检测其血清的各项生化指标,观察小鼠肠道菌群的变化,探究乳铁蛋白通过肠道菌群调节宿主糖脂代谢的作用机制。另外,检测短链脂肪酸这一重要指标,从肠道菌群的代谢产物角度找到肠道菌群与代谢性疾病之间的关系。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠,30 只,体质量 10 g,购自北京斯贝福生物技术有限公司(许可证号:SCXK(京)2019-0010)。小鼠饲养于温度 20~25 ℃,相对湿度 50%~60%的动物房内,自由摄食和饮水,昼夜节律正常。动物实验通过内蒙古医科大学医学伦理委员会审批,所有程序均按照内蒙古医科大学医学伦理委员会批准的动物护理和使用指南进行。

1.1.2 主要试剂及仪器 乳铁蛋白,新西兰 Tatura 公司;60%脂肪供能高脂饲料,江苏省协同医药生物工程有限责任公司;TIANGEN 粪便基因组 DNA 提取试剂盒,天根生化科技(北京)有限公司;血糖、甘油三酯、总胆固醇、低密度胆固醇、高密度胆固醇分析试剂盒,江苏艾迪生生物科技有限公司;胰岛素酶联免疫吸附测定试剂盒,上海酶联生物科技有限公司。

天平,上海卓精电子科技有限公司;研磨仪,上海净信科技有限公司;离心机、超低温冰箱,美国赛默飞世尔科技公司;酶标仪,上海美谱达仪器有限公司;GC2030-QP2020NX 气相色谱-质谱联用仪,日本岛津公司。

1.2 方 法

1.2.1 动物饲养及分组 购买的 3 周龄小鼠经过 1 周的适应性饲养后,随机分成 3 组,即对照组(K 组)、模型组(M 组)、LF 试验组(Y2 组),每组 10 只。K 组自由采食小鼠维持料,饮用纯水;M 组自由采食高脂饲料,饮用纯水;Y2 组自由采食高脂

饲料,饮用 2%乳铁蛋白水。连续喂养 12 周。每周记录小鼠体质量变化。

1.2.2 样本的收集 在实验结束的前 1 d 在无菌操作台上取提尾应激排便的第 2 粒新鲜粪便,迅速转移到无菌冻存管内,-80 ℃冻存。采集粪便样后,小鼠禁食 12 h,断颈处死,采集新鲜血液,制备血清分装备用,-80 ℃保存。

尽可能留取同一部位附睾周围腹腔脂肪组织,称重记录数据。计算内脏脂肪率【内脏脂肪率%=腹腔油脂质量(g)/小鼠体质量(g)×100】。

1.2.3 生化指标测定 将小鼠全血离心(4 ℃,2 500 r/min,10 min)后得到血清样本,测定血清中血糖、胰岛素、甘油三酯、胆固醇、低密度胆固醇和高密度胆固醇含量。

1.2.4 短链脂肪酸检测 取小鼠粪便取样 50 mg 进行预处理,取处理液进行短链脂肪酸含量分析。检测乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸。以分析物的质谱峰面积为纵坐标,以分析物的含量为横坐标,绘制线性回归标准曲线,将样品分析物的质谱峰面积,代入线性方程中,计算结果。

气相色谱-质谱检测条件:毛细管柱 HP-FFAP(30 m×250 μm×0.25 μm);柱箱升温程序:起始温度 80 ℃,保持 1 min;以 10 ℃/min 的速率升至 200 ℃,保持 5 min;以 40 ℃/min 的速率升至 240 ℃,保持 1 min;进样量 1 μL;分流比:5:1;载气为高纯氦气;柱流速 1 mL/min;离子源温度 200 ℃;四级杆温度 150 ℃;溶剂延迟时间为 3.5 min。

1.2.5 肠道菌群检测

1.2.5.1 粪便 DNA 提取和 PCR 扩增 运用 SDS 方法提取小鼠粪便的基因组 DNA,通过琼脂糖凝胶电泳方法检测 DNA 的纯度和浓度。取适量的基因组 DNA 在离心管中,将其用无菌水稀释至 1 ng/μL。把稀释后的样本 DNA 作为模板,根据测序区域的特点选择特异性引物,为了确保扩增效率及准确性,PCR 使用高效和高保真酶进行。细菌多样性的鉴定,选择引物为 16S V4 区 515F 和 806R。

1.2.5.2 文库构建与高通量测序 文库构建使用 TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 建库试剂盒进行,通过 Qubit 和 Q-PCR 定量检测构建的文库,文库合格后,使用 NovaSeq6000 进行

上机测序。

1.2.5.3 数据分析方法 使用 FLASH 软件(V1.2.7)对测得的原始数据进行拼接、过滤,得到最后的有效数据。操作分类单元(OTU)聚类和物种注释时,将达到 97%一致性的 OTU 聚类,并物种注释。使用 QIIME 软件(Version 1.9.1)分析 Observed-OTUs、Shannon 等指数,使用 R 软件(Version 2.15.3)绘制稀释曲线、丰度等级曲线、物种累积曲线,进行 Alpha 多样性指数分析。使用 KEGG 数据库进行 Tax4 Fun 功能预测分析。

1.3 统计分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析,数据结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),分析结果 $P < 0.05$ 时为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 乳铁蛋白对高脂饮食小鼠体质量及内脏脂肪率的影响

小鼠体质量变化如图 1 所示,K 组小鼠的体质量在前 8 周高于 Y2 组和 M 组,10 周后 Y2 组和 M 组的体质量迅速增长,12 周时 K 组和 M 组差异显著($P=0.01$),并且 M 组的体质量超过 K 组体质量 19.54%。Y2 组与 M 组小鼠体质量差异不显著。

K 组小鼠内脏脂肪率与 M 组差异极显著($P < 0.01$),小鼠肥胖模型造模成功。Y2 组小鼠内脏脂肪率下降 31.05%并且与 M 组差异显著($P < 0.05$),

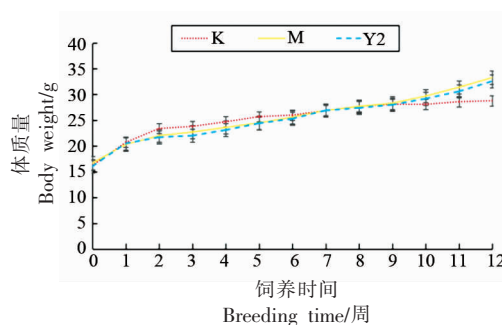
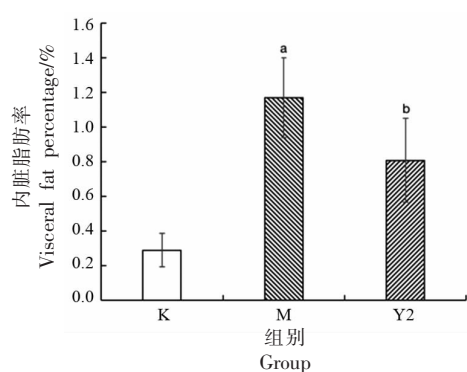


图 1 小鼠体质量变化

Fig.1 Changes in body weight of mice



注:数据均以平均数±标准差表示;“a”表示 K 组与 M 组差异显著($P < 0.01$),“b”表示 M 组与 Y2 组差异显著($P < 0.05$)。

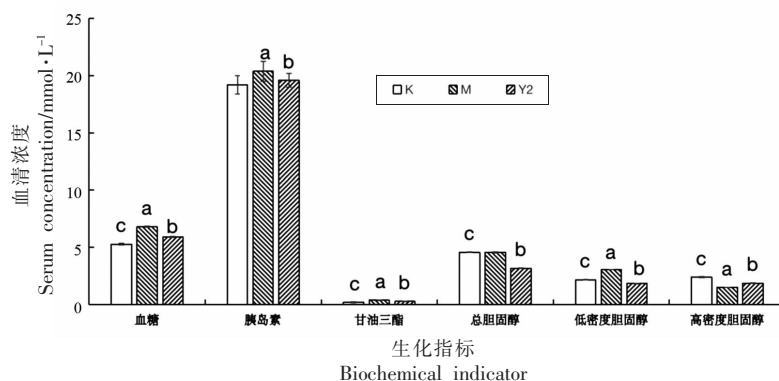
图 2 小鼠内脏脂肪率变化

Fig.2 Changes of body fat percentage in mice

这说明 LF 能够减少高脂饮食小鼠的内脏脂肪积累。如图 2 所示。

2.2 乳铁蛋白对高脂饮食小鼠血清生化指标的影响

如图 3 所示,M 组相对于 K 组小鼠的血糖、胰岛素、甘油三酯、低密度脂蛋白水平均显著升高



注:数据均以平均数±标准差表示;“a”表示 K 组与 M 组差异显著($P < 0.01$),“b”表示 M 组与 Y2 组差异显著($P < 0.05$),“c”表示 K 组与 Y2 组差异显著($P < 0.05$)。

图 3 乳铁蛋白对小鼠血清生化指标的影响

Fig.3 Effects of lactoferrin on serum biochemical indices in mice

($P < 0.05$), 高密度脂蛋白水平显著降低 ($P < 0.05$)。Y2 组相对于 M 组血糖、胰岛素、甘油三酯、总胆固醇、低密度脂蛋白水平均显著降低 ($P < 0.05$), 高密度脂蛋白水平显著升高 ($P < 0.05$), 这说明 LF 能够改善高脂饮食小鼠血糖、血脂的异常代谢状态。

2.3 对肠道菌群结构的影响

通过 Anosim 的分析, 2 个箱的凹槽互不重叠, 表明各组间的中位数有显著差异 (图 4)。门水

平的菌落丰度分析显示: 3 组共 21 个样品中, 占比相对高的菌门分别是: 厚壁菌门 (Firmicutes)、拟杆菌门 (Bacteroidota)、未知菌门 (unidentified-Bacteria)、放线菌门 (Actinobacteriota)、脱硫菌门 (Desulfobacterota), 样本间的菌门组成差异很大 (图 5)。相较于 K 组, 高脂处理导致 M 组厚壁菌门占比增加, 拟杆菌门占比减少, 而经乳铁蛋白治疗后这种现象明显减弱。

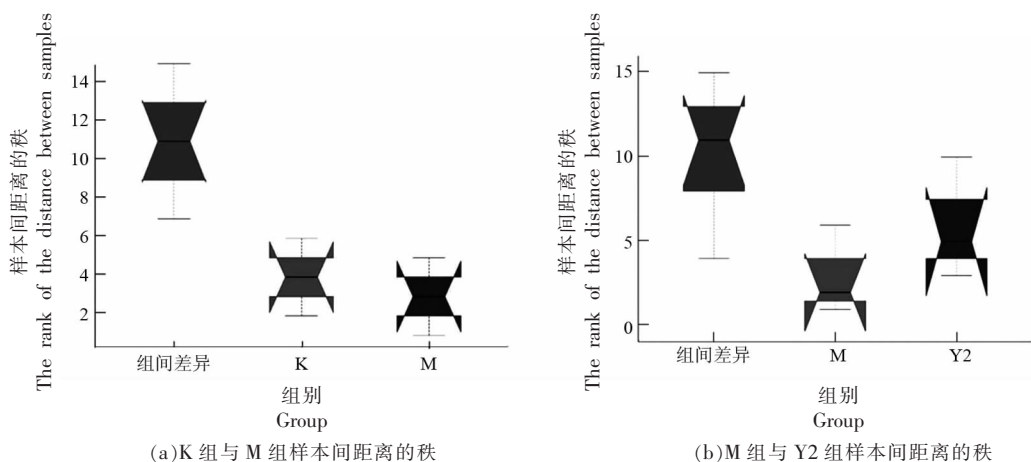


图 4 Anosim 组间差异分析

Fig.4 Anosim analysis of differences between groups

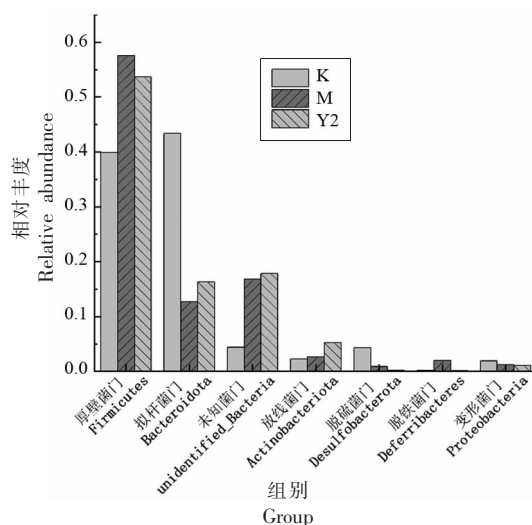


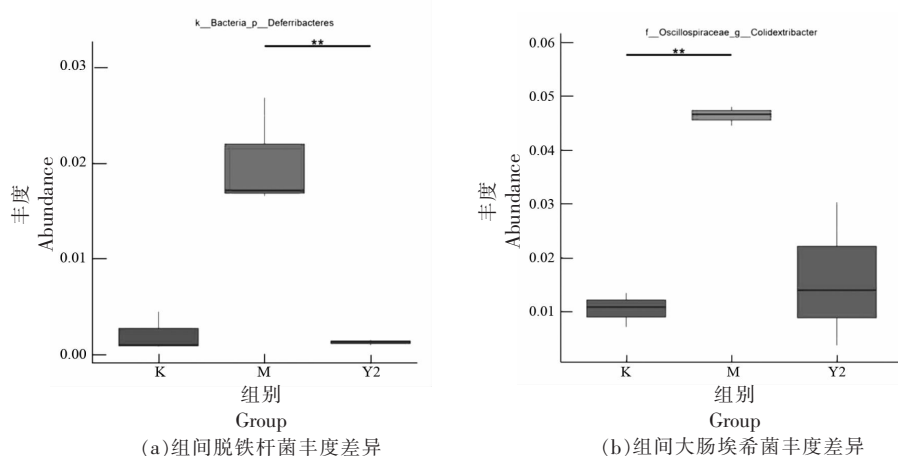
图 5 物种相对丰度柱形图 (门水平)

Fig.5 Bar chart of relative species abundance (Phylum level)

2.4 物种显著性差异分析

利用 MetaStat 分析方法, 筛选具有显著性差异的物种, 通过分布箱图展示具有显著差异的物种, 结果见图 6。

相比于 K 组, M 组的大肠埃希菌 (*Colidextribacter*) 丰度增加且存在显著差异 ($P < 0.01$); Y2 组和 M 组相比脱铁杆菌 (*Deferribacteres*) 丰度减少且存在显著差异 ($P < 0.01$)。



注:**表示两组间差异显著($P < 0.01$)。

图6 物种显著性差异分布箱图

Fig.6 Box plot of distribution of significant differences in species

2.5 对短链脂肪酸的影响

乳铁蛋白对小鼠短链脂肪酸的影响如图7所示。与K组相比,M组乙酸、丙酸和丁酸含量均有下降趋势,其中丙酸含量变化具有差异显著($P < 0.05$);与M组相比,Y2组乙酸、丙酸、丁酸含量虽然均升高,但是升高的效果均不显著。

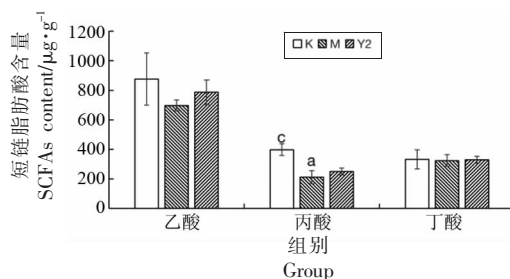
2.6 乳铁蛋白对高脂饮食小鼠肠道菌群功能的影响

通过Tax4Fun对代表性序列进行功能预测,结果如图8所示。K组和M组差异显著通路有13个,M组显著降低的有运输(Transport)、嘌呤代谢(Purine metabolism)等通路,显著增加的有原核生物中的碳固定途径(Carbon fixation pathways in prokaryotes)、丁酸代谢(Butanoate metabolism)、能量代谢(Energy metabolism)等通路。

Y2组与M组相比,显著增加的有半乳糖代谢(Galactose metabolism)、氨基酸糖和核苷酸糖代谢(Amino sugar and nucleotide sugar metabolism)、核苷酸切除修复(Nucleotide excision repair)等,显著降低的有丙酮酸代谢(Pyruvate metabolism)、细菌运动蛋白(Bacterial motility proteins)、细菌趋化作用(Bacterial chemotaxis)等。

3 讨论

长期的高脂饮食可以导致肥胖和代谢功能紊乱^[18]。本实验通过高脂饮食构建小鼠肥胖模型,探



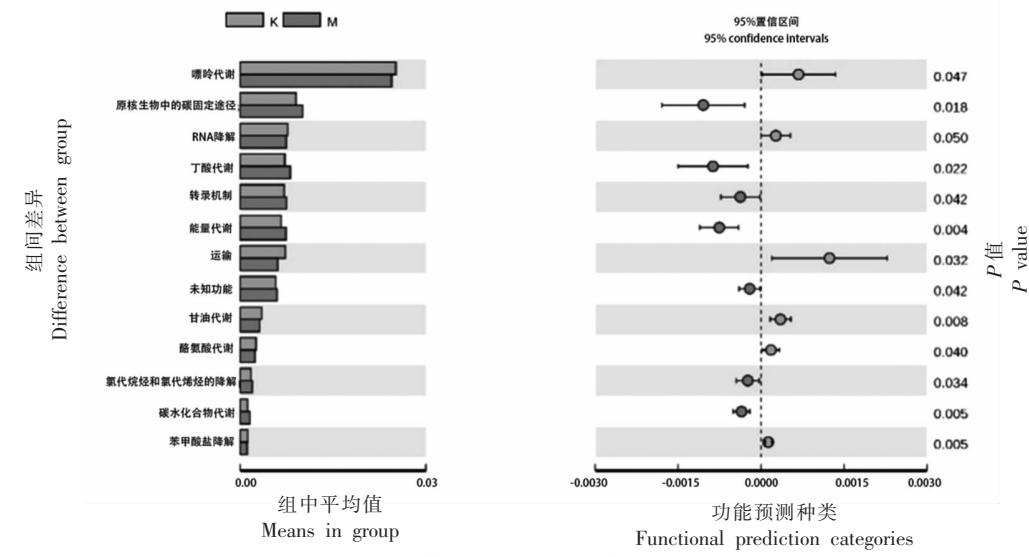
注:数据均以平均数 \pm 标准差表示;“a”表示K组与M组差异显著($P < 0.05$),“c”表示K组和Y2组差异显著($P < 0.05$)。

图7 乳铁蛋白对小鼠短链脂肪酸含量的影响

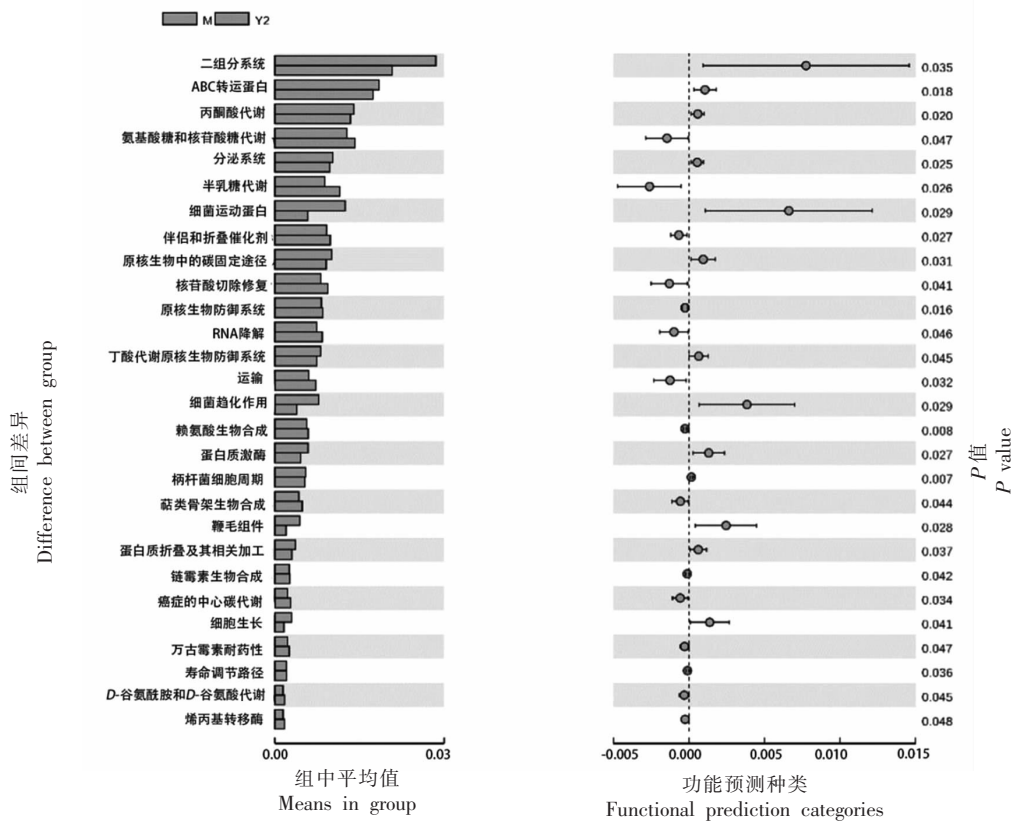
Fig.7 Effects of LF on the content of SCFAs in mice

究乳铁蛋白对肥胖导致的糖脂代谢紊乱的影响。结果显示,经过乳铁蛋白治疗后,高脂饮食喂养的肥胖小鼠血糖、胰岛素、甘油三酯、胆固醇、低密度胆固醇均降低,高密度胆固醇显示升高,体脂率下降,糖脂代谢紊乱有了明显的改善。同时,肠道菌群结构和功能也发生了相应的变化。

本研究表明,持续用高脂饮食喂养小鼠会导致肠道菌群结构的破坏,特别是厚壁菌门/拟杆菌门的比例增加,这一结果与以往的研究一致^[19]。从之前的研究来看,这种变化的结果就是革兰阴性拟杆菌门的丰度降低,肠道里内毒素产生增多,同时高脂饮食喂养后脂代谢过程中的副产物会损伤大肠黏膜使肠道通透性增加^[20],导致了大量内毒素进入血液,脂多糖(LPS)入血会与内毒素结合蛋白(LBP)形成复合物并触发 toll 样受体 4(TLR4)介导的促炎级联反应^[21],使机体处于一种慢性低



(a) K 组与 M 组功能预测种类影响对比



(b) M 组与 Y2 组功能预测种类影响对比

图 8 组间功能预测比较图

Fig.8 Comparative graphs of functional predictions between groups

度炎症的状态,大量的炎症因子如 TNF-α 还会破坏机体外周组织的胰岛素受体^[22],导致胰岛素敏感性下降,机体发生糖脂代谢紊乱,这个过程可能

是代谢疾病发病的机制之一^[23]。

本研究通过给肥胖建模成功的小鼠饮用乳铁蛋白水后测定各项指标发现乳铁蛋白能够明显改

变肠道菌群的结构,使厚壁菌门/拟杆菌门的比例降低。厚壁菌门/拟杆菌门比例升高通常被视为肥胖症存在的生物学标志^[24]。本文观察到M组中颤螺旋菌和大肠埃希菌丰度显著上升,而Y2组中二者的丰度均下降。研究表明,下调颤螺旋菌丰度能够显著降低血糖、血脂水平,改善饮食诱导的肥胖大鼠健康状况,而大肠埃希菌丰度上升则能够导致肠道炎症加重,引起胃肠道感染^[25]。除此之外,脱铁杆菌的丰度下降,其丰度与TNF- α 、IL-6以及IL-17A等促炎因子呈正相关关系^[26]。经乳铁蛋白处理,高脂饮食喂养的小鼠肠道菌群结构更接近于对照组小鼠,降低了与肥胖和炎症相关的菌群类型丰度,这提示肠道菌群结构的改变与代谢性疾病的发生密切相关,并且乳铁蛋白能够通过肠道菌群来调节高脂饮食小鼠的糖脂代谢紊乱。

短链脂肪酸(SCFAs)是盲肠和结肠里的厌氧菌以未消化的碳水化合物以及肠道上皮细胞分泌的糖蛋白等为底物分解发酵而来的^[27],其中乙酸盐、丙酸盐、丁酸盐3类占了肠道短链脂肪酸的九成以上^[28]。SCFAs参与了很多机体的生理调控,目前研究发现,SCFAs起到了维持水电解质平衡、增加肠道黏膜屏障功能、改善肠道菌群、减轻炎症反应以及调控基因表达等作用^[29-31],是肠道菌群发挥其各种生理功能的关键代谢产物。通过对小鼠肠道短链脂肪酸研究,发现M组与K组相比乙酸和丙酸的含量相对下降,而丁酸的含量变化不大,乙酸和丙酸主要是由拟杆菌门代谢产生的,这一结果与厚壁菌门和拟杆菌门的比例上升相吻合。Y2组与M组相比,乙酸和丙酸的含量是相对上升的,这两者具有一定的抗炎作用,均可抑制由TLR4刺激介导的促炎细胞因子生成^[32],能够缓解代谢疾病中的慢性低度炎症状态。虽然Y2组中肠道产生的乙酸和丙酸含量增加但是与M组相比并未产生显著性差异,可能是由于样本量不足导致的实验数据误差增大,还有可能乳铁蛋白改善高脂饮食小鼠糖脂代谢紊乱并不是通过影响短链脂肪酸生成这一途径来完成的,具体原因尚未明晰,后续会展开深入研究。

通过菌群功能分析显示Y2组中丙酮酸代谢减少,由此可知肠道丙酮酸含量是增加的,而进入血液的丙酮酸相对增多能够抑制肝脏糖异生和脂

肪异生等活动,起到减少能量积累的作用。

4 结论

总之,乳铁蛋白能够通过改变肠道菌群结构、调节脂肪积累来改善由高脂饮食引起的小鼠糖脂代谢异常,而其中的具体作用机制仍未被完全了解,后续将会对乳铁蛋白调节糖脂代谢紊乱的机制进行深入研究。因为乳铁蛋白本身具有较高的安全性,随着研究的深入,乳铁蛋白有极大的潜力能作为一种新型药物来预防或治疗代谢紊乱。

参 考 文 献

- [1] GADDE K M, MARTIN C K, BERTHOUD H R, et al. Obesity: Pathophysiology and management[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 71(1): 69-84.
 - [2] MOFFA S, MEZZA T, CEFALO C M A, et al. The interplay between immune system and microbiota in diabetes[J]. *Mediators Inflamm*, 2019, 2019: 9367404.
 - [3] BOULANGE C L, NEVES A L, CHILLOUX J, et al. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease [J]. *Genome Med*, 2016, 8(1): 42.
 - [4] WU D, WANG H Y, XIE L J, et al. Cross-talk between gut microbiota and adipose tissues in obesity and related metabolic diseases[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 908868.
 - [5] WU J, WANG K, WANG X, et al. The role of the gut microbiome and its metabolites in metabolic diseases[J]. *Protein Cell*, 2021, 12(5): 360-373.
 - [6] GARCIA-MONTOYA I A, CENDON T S, AREVALO-GALLEGOS S, et al. Lactoferrin a multiple bioactive protein: An overview[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1820(3): 226-236.
 - [7] SIQUEIROS -CENDON T, AREVALO -GALLEGOS S, IGLESIAS-FIGUEROA B F, et al. Immunomodulatory effects of lactoferrin[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2014, 35(5): 557-566.
 - [8] 陈柳菁, 李娟, 孟妹. 乳铁蛋白调控炎症反应中NF- κ B表达的分子机制研究进展[J]. *山东医药*, 2016, 56(48): 106-109.
- CHEN L J, LI J, MENG S. Advances in the molecular mechanism of lactoferrin regulation of NF-

- κ B expression in inflammatory response[J]. *Shandong Medicine*, 2016, 56(48): 106–109.
- [9] RASCON –CRUZ Q, ESPINOZA –SANCHEZ E A, SIQUEIROS –CENDON T S, et al. Lactoferrin: A glycoprotein involved in immunomodulation, anti-cancer, and antimicrobial processes[J]. *Molecules*, 2021, 26(1): 205.
- [10] HAO L Y, SHAN Q, WEI J Y, et al. Lactoferrin: Major physiological functions and applications [J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2019, 20(2): 139–144.
- [11] GOPALAKRISHNA K P, HAND T W. Influence of maternal milk on the neonatal intestinal microbiome [J]. *Nutrients*, 2020, 12(3): 823.
- [12] 孙晶, 张昊, 郭慧媛, 等. 乳铁蛋白抑菌功能的研究进展[J]. *中国乳业*, 2012(10): 38–41.
SUN J, ZHANG H, GUO H Y, et al. Research progress on antibacterial function of lactoferrin [J]. *China's Dairy Industry*, 2012(10): 38–41.
- [13] SANDERS M E, MERENSTEIN D J, REID G, et al. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: From biology to the clinic[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16(10): 605–616.
- [14] CARR L E, VIRMANI M D, ROSA F, et al. Role of human milk bioactives on infants' gut and immune health[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 604080.
- [15] MALDONADO GALDEANO C, CAZORLA S I, LEMME DUMIT J M, et al. Beneficial effects of probiotic consumption on the immune system[J]. *Ann Nutr Metab*, 2019, 74(2): 115–124.
- [16] SUN J, REN F Z, XIONG L, et al. Bovine lactoferrin suppresses high-fat diet induced obesity and modulates gut microbiota in C57BL/6J mice[J]. *Journal of Functional Foods*, 2016, 22: 189–200.
- [17] XIONG L, REN F Z, LV J Y, et al. Lactoferrin attenuates high-fat diet-induced hepatic steatosis and lipid metabolic dysfunctions by suppressing hepatic lipogenesis and down-regulating inflammation in C57BL/6J mice[J]. *Food Funct*, 2018, 9(8): 4328–4339.
- [18] LI J L, WU H S, LIU Y T, et al. High fat diet induced obesity model using four strains of mice: Kunming, C57BL/6, BALB/c and ICR[J]. *Exp Anim*, 2020, 69(3): 326–335.
- [19] TURNBAUGH P J, BACKHED F, FULTON L, et al. Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome[J]. *Cell Host Microbe*, 2008, 3(4): 213–223.
- [20] 梁源, 于瑞丽, 尹悦, 等. 肠道菌群及其代谢产物在糖脂代谢中的作用[J]. *生理科学进展*, 2019, 50(5): 321–325.
LIANG Y, YU R L, YIN Y, et al. Effects of gut microbiota and its metabolite in glucose and lipid metabolism [J]. *Progress in Physiological Sciences*, 2019, 50(5): 321–325.
- [21] CAESAR R, REIGSTAD C S, BACKHED H K, et al. Gut-derived lipopolysaccharide augments adipose macrophage accumulation but is not essential for impaired glucose or insulin tolerance in mice [J]. *Gut*, 2012, 61(12): 1701–1707.
- [22] SITTIPO P, LOBIONDA S, LEE Y K, et al. Intestinal microbiota and the immune system in metabolic diseases[J]. *Journal of Microbiology*, 2018, 56(3): 154–162.
- [23] SCHEITHAUER T P M, RAMPANELLI E, NIEUW-DORP M, et al. Gut microbiota as a trigger for metabolic inflammation in obesity and type 2 diabetes[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 571731.
- [24] 聂可馨, 赵炎, 苏浩, 等. 乌梅丸对肥胖小鼠肠道菌群结构的影响[J]. *中国医院药学杂志*, 2021, 41(8): 796–802.
NIE K X, ZHAO Y, SU H, et al. Effect of Wu-Mei-Wan on gut microbiota in obese mice[J]. *Chinese Journal of Hospital Pharmacy*, 2021, 41(8): 796–802.
- [25] YANG J P, LI Y N, WEN Z Q, et al. *Oscillospira*—A candidate for the next-generation probiotics[J]. *Gut Microbes*, 2021, 13(1): 1987783.
- [26] LI L, MA C L, HU R L B G, et al. Effects of lactoferrin on intestinal flora of metabolic disorder mice[J]. *BMC Microbiol*, 2022, 22(1): 181.
- [27] MORRISON D J, PRESTON T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism [J]. *Gut Microbes*, 2016, 7(3): 189–200.
- [28] 李翠茹, 彭买姣, 谭周进. 肠道菌群相关短链脂肪酸的研究进展[J]. *世界华人消化杂志*, 2022, 30(13): 562–570.
LI C R, PENG M J, TAN Z J. Progress in research of intestinal microbiota related short chain fatty acids[J]. *World Chinese Journal of Digestology*, 2022, 30(13): 562–570.
- [29] BARREA L, MUSCOGIURI G, ANNUNZIATA G,

- et al. From gut microbiota dysfunction to obesity: Could short-chain fatty acids stop this dangerous course?[J]. *Hormones (Athens)*, 2019, 18(3): 245–250.
- [30] OLIPHANT K, ALLEN-VERCOE E. Macronutrient metabolism by the human gut microbiome: Major fermentation by-products and their impact on host health[J]. *Microbiome*, 2019, 7(1): 91.
- [31] KELLOW N J, COUGHLAN M T, REID C M. Metabolic benefits of dietary prebiotics in human subjects: A systematic review of randomised controlled trials[J]. *Br J Nutr*, 2014, 111(7): 1147–1161.
- [32] KOH A, DE VADDER F, KOVATCHEVA - DATCHARY P, et al. From dietary fiber to host physiology: Short-chain fatty acids as key bacterial metabolites[J]. *Cell*, 2016, 165(6): 1332–1345.

Mechanism of Lactoferrin in Regulating Glycolipid Metabolism in High-fat Diet Mice

Wang Wuji¹, Li Li^{1*}, Li Yanyi², Zhang Jing¹, Han Nashu³

¹College of Basic Medical, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010100

²College of Nursing, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010100

³College of Mental Health, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010100

Abstract Objective: To investigate the mechanism of lactoferrin (LF) regulating the disorder of glucose and lipid metabolism in mice induced by high-fat diet. Methods: Thirty SPF grade male C57BL/6 mice were randomly divided into a control group (Group K, normal diet), model group (Group M, high-fat diet drinking pure water), and LF treatment group (Group Y2, high-fat diet drinking 2% lactoferrin water). The mice were fed continuously for 12 weeks. Body weight changes of the mice were recorded weekly. Visceral fat percentage was measured at week 12 by taking peri-epididymal abdominal adipose tissue. Blood glucose and lipid levels were analyzed using commercial enzymatic assay kits. Insulin levels were measured using ELISA. 16S rRNA sequencing was used to measure the intestinal flora of the mice. Short-chain fatty acids were detected by gas chromatography-mass spectrometry. Results: After 12 weeks of lactoferrin intervention, the visceral fat percentage of mice in Y2 group decreased by 31.05% compared with mice in M group. Blood glucose (5.92 mmol/L), insulin (19.60 mmol/L), total cholesterol (3.17 mmol/L), triglyceride (0.28 mmol/L), low density lipoprotein (1.84 mmol/L) levels were all decreased and the differences were significant compared with group M ($P < 0.05$). The high density lipoprotein level (1.88 mmol/L) was significantly increased compared with that of group M ($P < 0.05$). Lactoferrin intervention decreased the ratio of Firmicutes/Bacteroidetes and increased the relative abundance of Bacteroidetes, decreased the relative abundance of *Colidextribacter* and *Deferribacteres*, regulated the abnormal metabolism of short-chain fatty acids, and controlled the accumulation of fat. Conclusions: Lactoferrin regulates the accumulation of fat by regulating the structure of intestinal flora, and improves the disorder of glucose and lipid metabolism in high-fat diet mice.

Keywords lactoferrin; intestinal flora; metabolic disorder; short-chain fatty acid