

1, 3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯干预下断奶期小鼠肠道菌群及其代谢变化

罗时雨¹, 庞超¹, 杨继国^{1,2*}, 杨占东³

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

(2. 岭南现代农业科学与技术广东省实验室河源分中心, 广东河源 517000) (3. 广州实验室, 广东广州 510320)

摘要: 为了研究 1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯 (OPO) 对断奶期小鼠肠道健康的影响, 通过饲养断奶期小鼠 4 周, 以对照组 (CON 组)、低剂量 OPO 组和高剂量 OPO 组进行比较, 分析血清炎症水平、肠道组织形态、紧密连接蛋白基因表达、肠道通透性指标、肠道菌群多样性和短链脂肪酸变化等指标。结果显示, 与 CON 组相比, LOPO 组小鼠血清中 TNF- α 和 IL-1 β 含量分别降低 9.05% ($P<0.01$) 和 9.71% ($P<0.05$); HOPO 组分别降低 10.71% ($P<0.001$) 和 7.84%。LOPO 组 claudin-1 相对 mRNA 表达量相较 CON 组增加了 31.37% ($P<0.05$), 而 HOPO 组增加了 38.24% ($P<0.001$)。同时, LOPO 组和 HOPO 小鼠血清 LPS 含量相较 CON 组分别下降了 8.43% 和 8.66% ($P<0.05$)。此外, 膳食 OPO 调节了肠道菌群组成, 增加了 *Akkermansia*、*Dubosiella* 和 *Bifidobacterium* 的相对丰度, 减少了 *Desulfovibrio* 的相对丰度。SCFAs 结果显示, 与 CON 组相比, LOPO 组乙酸、丙酸、正丁酸和正戊酸的含量分别增加了 162.32%、72.7%、216.24% 和 25.2%; HOPO 组分别增加了 160.68%、74.58%、163.85% 和 23.03% ($P<0.001$)。综上, 膳食 OPO 可通过调节肠道菌群及相关 SCFAs 代谢, 增强断奶期小鼠肠道屏障功能、抑制全身炎症反应, 为 OPO 靶向调控肠道菌群提供了理论基础。

关键词: OPO 结构脂; 肠道屏障; 肠道菌群; 短链脂肪酸

文章编号: 1673-9078(2026)04-1-10

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.4.0254

Changes in the Intestinal Flora and Metabolism of Weanling Mice under the Intervention of 1,3-Dioleic Acid-2-Palmitic Acid Triglycerides

LUO Shiyu¹, PANG Chao¹, YANG Jiguo^{1,2*}, YANG Zhandong³

(1. College of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. Heyuan Branch, Guangdong Laboratory for Lingnan Modern Agriculture, Heyuan 517000, China)

(3. Guangzhou Laboratory, Guangzhou 510320, China)

Abstract: To investigate the effects of 1,3-dioleoyl-2-palmitoyl-glycerol (OPO) on the gut health of weanling mice, we fed weanling mice for four weeks, classified them into three groups: the control group (CON group), the low-dose OPO (LOPO) group, and the high-dose OPO (HOPO) group, and compared the groups. Various indicators were analyzed, such as serum inflammation levels, intestinal tissue morphology, gene expression of tight junction proteins, intestinal permeability markers, gut microbiota

引文格式:

罗时雨, 庞超, 杨继国, 等. 1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯干预下断奶期小鼠肠道菌群及其代谢变化[J]. 现代食品科技, 2026, 42(4): 1-10.

LUO Shiyu, PANG Chao, YANG Jiguo, et al. Changes in the intestinal flora and metabolism of weanling mice under the intervention of 1,3-dioleic acid-2-palmitic acid triglycerides [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(4): 1-10.

收稿日期: 2025-02-24; 修回日期: 2025-05-02; 接受日期: 2025-05-07

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2022YFF1100103)

作者简介: 罗时雨 (2000-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学, E-mail: 1161831281@qq.com

通讯作者: 杨继国 (1977-), 男, 博士, 教授级高级工程师, 研究方向: 食品生物化学, E-mail: yangjg@scut.edu.cn

diversity, and changes in short-chain fatty acids (SCFAs). The results showed that, compared with the CON group, serum levels of TNF- α and IL-1 β decreased by 9.05% ($P<0.01$) and 9.71% ($P<0.05$), respectively, in the LOPO group and 10.71% ($P<0.001$) and 7.84%, respectively, in the HOPO group. The relative mRNA expression of claudin-1 increased by 31.37% ($P<0.05$) in the LOPO group when compared with the CON group, whereas the value increased by 38.24% ($P<0.001$) in the HOPO group. Additionally, serum LPS levels in the LOPO and HOPO groups decreased by 8.43% and 8.66% ($P<0.05$), respectively, compared with the CON group. Furthermore, dietary OPO regulated the gut microbiota composition, increasing the relative abundance of *Akkermansia*, *Dubosiella*, and *Bifidobacterium* and decreasing the relative abundance of *Desulfovibrio*. SCFA results indicated that, compared with the CON group, the contents of acetic acid, propionic acid, butyric acid, and valeric acid increased by 162.32%, 72.7%, 216.24%, and 25.2%, respectively, in the LOPO group and by 160.68%, 74.58%, 163.85%, and 23.03%, respectively, in the HOPO group ($P<0.001$). In conclusion, dietary OPO may enhance intestinal barrier function and inhibit systemic inflammatory responses in weanling mice by modulating gut microbiota and related SCFA metabolism. These findings provide a theoretical basis for targeted regulation of gut microbiota by OPO.

Key words: OPO structural lipids; intestinal barrier; intestinal flora; short chain fatty acids

随着对婴幼儿营养研究的不断深入, 母乳成分对婴儿生长发育的重要性日益凸显。脂质是母乳的重要营养成分, 虽然仅占母乳成分的 3%~5%, 但却能为婴儿提供每日能量摄入的 50%~60%^[1]。有研究发现, 在母乳脂肪中可观察到大约 400 种三酰甘油 (TAG), 其中 70% TAG 的 Sn-2 位置被棕榈酸占据^[2,3]。相较于动物乳脂, 人类母乳脂肪的酰基链呈现出更长的特征, 且 1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯 (OPO) 的含量更为丰富^[4]。鉴于 OPO 独特的 Sn-2 位棕榈酸结构, 在婴儿小肠内遭遇胰脂肪酶水解过程中, 所生成的游离棕榈酸数量相对较少, 从而能够促进钙和脂肪酸的吸收、改善肠道健康并减少婴儿便秘的发生, 这种结构使其在婴儿营养吸收方面展现出显著的优势^[5,6]。

肠道作为人体规模最大的消化及免疫器官, 与肠道菌群之间存在着复杂且紧密的相互作用关系。肠道菌群在人体健康中扮演着至关重要的角色, 其参与食物的消化吸收、免疫反应的调节, 还与多种慢性疾病的发生和发展密切相关^[7]。研究表明, OPO 极有可能对肠道菌群造成意义深远的作用, 并以此为基础对肠道菌群代谢物进行调控^[8]。短链脂肪酸 (SCFAs) 是肠道菌群的关键代谢产物, 主要涵盖乙酸、丙酸和丁酸, 在肠道生态环境的稳定以及宿主整体健康的维系方面具有至关重要的意义^[9,10]。有研究发现, SCFAs 能够显著促进肠道上皮细胞的增殖与分化, 从而有助于增强肠道黏膜屏障的完整性^[11,12]。例如, 丁酸通过激活 AMPK 信号通路去上调紧密连接蛋白 (如 ZO-1 和 claudin-1) 的表达水平, 进而降低肠道通透性, 维持肠道屏障完整性^[13]。此外, SCFAs 能够与免疫细胞表面的多种受体, 诸如 GPR41、GPR43 等, 发生特异性结合并相互作用。这一过程对免疫细胞的分化路径、

增殖速率以及功能活性产生显著影响, 进而使 SCFAs 深度参与到宿主免疫系统的调节进程之中^[14-16]。研究发现, SCFAs 能够促进调节性 T 细胞 (Tregs) 的分化和功能增强, 同时抑制促炎细胞因子 (如 TNF- α 、IL-1 β 等) 的产生, 从而维持肠道免疫稳态^[17]。

然而, 尽管已有研究表明 OPO 与肠道菌群相互作用, 但很少研究其对 SCFAs 的影响, 并且从未与肠道屏障和炎症反应联系起来。断奶期是肠道微生物群落发生显著变化的时期, 其组成和结构对宿主的生长发育和健康状况具有深远影响。本研究通过构建断奶期小鼠模型, 探讨 OPO 对肠道菌群及其重要代谢物 SCFAs 之间的内在关系, 进一步阐述其对肠道屏障功能和炎症反应的作用机制, 为 OPO 改善肠道菌群结构、促进肠道有益 SCFAs 产生, 从而改善肠道健康提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

3 周龄 SPF 级 C57BL/6J 雄性小鼠 24 只, 购于广东药康生物科技有限公司, 实验动物许可证号 K2024-02-026。动物饲养在恒温恒湿动物实验房中, 光照 / 黑暗周期为 12 h, 自由进食和饮水。适应性喂养普通饲料 1 周后, 实验小鼠随机分为 3 组, 分别为健康对照组 (CON 组)、低剂量 OPO 饮食组 (LOPO 组) 和高剂量 OPO 饮食组 (HOPO 组), 其中 CON 组给予正常饲料, LOPO 组和 HOPO 组分别给予 OPO 质量分数为 2.25% 和 9% 的饲料, 每组 8 只, 饲养周期为 4 周。所有实验操作均获得批准, 实验过程遵循动物实验伦理委员会的动物福利指导原则 (伦理批准号: K2024-02-026)。

表 1 用于实时荧光定量PCR引物序列

Table 1 Primers used for quantitative real-time PCR

基因名称	正向引物序列 (5'-3')	反向引物序列 (3'-5')
ZO-1	GCCGCTAAGAGCACAGCAA	TCCCCACTCTGAAAATGAGGA
claudin-1	GGGGACAACATCGTGACCG	AGGAGTCGAAGACTTTGCACT
occludin	TTGAAAGTCCACCTCCTTACAGA	CCGGATAAAAAGAGTACGCTGG
GAPDH	GGATTTGGTCGTATTGGG	GGAAGATGGTGATGGGATT

1.2 主要试剂

乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸和异戊酸标准品，购自上海阿拉丁生化科技有限公司；色谱乙醚（批号：34860-4L-R），购自美国 Sigma-Aldrich 公司；酶联免疫吸附测定（ELISA）试剂盒，购自江苏酶免实业有限公司；反转录试剂盒、实时荧光定量 PCR（Quantitative Real-time PCR）试剂盒，购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司。

1.3 主要仪器

BSA224S 精密天平，德国赛多利斯科学仪器有限公司；BS-QT-013 微孔有机滤膜（0.22 μm），北京兰杰柯科技有限公司；DB-FATWAX 气相色谱柱，美国安捷伦公司；GC2010plus 气相色谱仪，日本岛津公司；GX16R 台式高速冷冻离心机，湖南恒诺仪器设备有限公司；5910Ri 冷冻离心机，德国 Eppendorf 公司；Multiskan Sky 酶标仪，赛默飞世尔科技有限公司；T100 Thermal Cycler 实时荧光定量 PCR 仪，美国 Bio-Rad 公司；Aperio Versa 8 病理切片扫描系统，德国 Leica 公司；LUKYM-I 样品冷冻研磨仪，广州露卡测序仪器有限公司。

1.4 样本采集与处理

在饲养结束后无菌采集各组小鼠新鲜粪便，置于无酶冻存管中，-80℃保存；饲养结束后，测量空腹体重，并立即腹腔注射进行麻醉处死，迅速切开胸腔后进行心脏穿刺采血。收集的血液置于无抗凝剂的离心管中，室温下静置 30 min 后，离心 10 min（4℃，3 000 r·min⁻¹），收集上层血清，-80℃储存待检；解剖取出小鼠的结肠组织，均置于无酶冻存管中，-80℃保存。

1.5 检测指标与方法

1.5.1 血清LPS检测

采用 ELISA 试剂盒测定血清中脂多糖（LPS）的含量。实验步骤严格按照试剂盒中的说明书进行。

1.5.2 炎症因子水平检测

采用 ELISA 试剂盒测定血清中肿瘤坏死因子 α

（TNF-α）和白细胞介素 1β（IL-1β）的表达水平。实验步骤严格按照试剂盒说明书进行。

1.5.3 结肠组织HE染色

取结肠组织样品，置于多聚甲醛溶液固定 48 h，然后包埋在石蜡中。切片（厚 5 μm）后用苏木素伊红（Hematoxylin Eosin, HE）染色观察肠道病理结构。

1.5.4 肠道屏障相关基因表达测定

取适量结肠组织样本，用组织匀浆机匀浆处理，参照试剂盒说明书提取结肠组织内总 RNA，利用反转录试剂盒合成 cDNA。按照 q-PCR 试剂盒配制反应液，用实时荧光定量 PCR 系统进行 PCR 扩增，以甘油醛-3-磷酸脱氢酶（Glyceraldehyde-3-phosphate Dehydrogenase, GAPDH）为内参基因。采用 2-ΔΔCt 法进行计算，最终结果用相对表达水平表示。目的基因 mRNA 引物序列见表 1。

1.5.5 短链脂肪酸含量测定

样品预处理：冷冻保存的小鼠粪便样本在室温下解冻后，称取 50 mg 左右于 2 mL 离心管。加入 500 μL 饱和 NaCl 溶液，室温平衡 30 min，待其无明显团块后，添加 20 μL 体积分数为 10% 的硫酸溶液震荡 30 s 进行酸化混匀。在通风橱内加入 800 μL 分析纯乙醚，旋涡震荡 30 s 后，在 8 000 r·min⁻¹，4℃条件下，离心 15 min。小心吸取上清有机相转移至另一干净无菌离心管中，添加适量无水 Na₂SO₄ 以吸附残留水分，3 min 后，将上清液经 0.22 μm 微孔滤膜到气相色谱进样小瓶中待测。

SCFAs 混合标准品配制：在通风橱中分别取乙酸、丙酸、异丁酸、正丁酸、异戊酸和正戊酸标准品各 250 μL，用分析纯乙醚定容至 25 mL，制备成体积分数为 10 μL·mL⁻¹ 的 SCFA 标准品母液，随后使用乙醚将母液进一步稀释至 0.05、0.1、0.15、0.2、0.25、0.5 μL·mL⁻¹ 六个梯度，作为标准曲线。

样品处理与分析程序：SCFAs 含量采用安捷伦 7890A 气相色谱仪配备火焰离子化检测器进行测定。使用安捷伦 DB-FATWAX 毛细管色谱柱（规格：30 m×0.25 mm×0.25 μm），温度程序设置为：柱温箱初始温

度 110 ℃, 保持 1 min, 以恒定速率 5 ℃·min⁻¹ 升至 150 ℃后保持 5 min。每个样品总分析时间为 14 min, 进样器和检测器温度分别设定为 270 ℃和 280 ℃, 高纯氮气作为载气且流量为 2.0 mL·min⁻¹。采用分流进样模式, 分流比为 10:1, 进样量为 5 μL。每批样品分析前, 使用 HPLC 级乙醚进样, 采用同样条件空跑三针以冲洗色谱柱。

1.6 数据统计分析

用 SPSS 软件进行方差分析、单因素方差分析, $P < 0.05$ 即判定为差异显著。采用 GraphPad Prism 9.5 软件进行作图。

2 结果与讨论

2.1 膳食 OPO 对断奶期小鼠血清炎症水平的影响

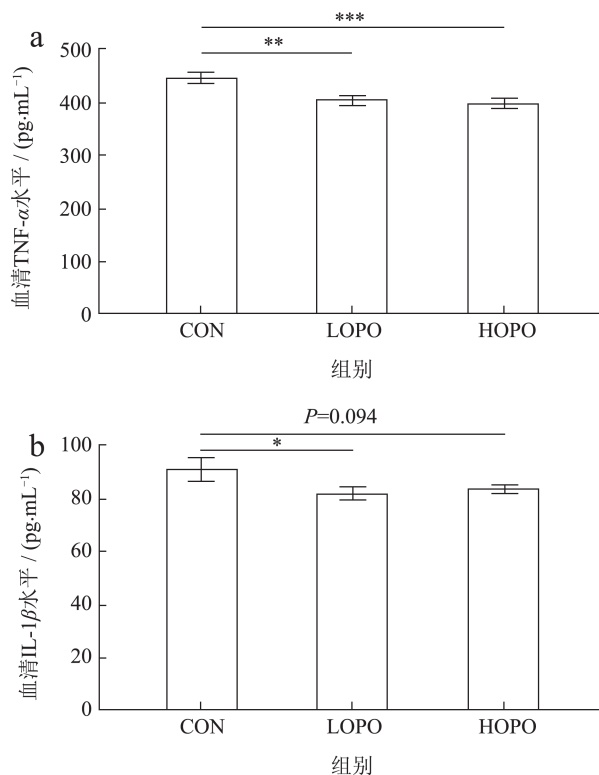


图1 膳食 OPO 对小鼠血清 TNF-α 和 IL-1β 水平的影响

Fig.1 Effect of dietary OPO on serum TNF-α and IL-1β levels in mice

注: *表示 HOPO 组和 LOPO 组与 CON 组间具有显著差异 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$)。

通过测量断奶期小鼠血清中肿瘤坏死因子 α (TNF-α) 和白细胞介素 1β (IL-1β) 含量来评估小鼠炎症状态。如图 1 所示, 与 CON 组相比, LOPO 组小鼠血清中 TNF-α 和 IL-1β 含量分别降低 9.05% 和 9.71%, 均呈现显著下降趋势 ($P < 0.01$, $P < 0.05$);

HOPO 组小鼠血清中 TNF-α 和 IL-1β 含量分别降低 10.71% 和 7.84%, 其中 TNF-α 含量呈现显著下降趋势 ($P < 0.001$)。

TNF-α 和 IL-1β 是两种重要的促炎细胞因子, 能通过多种机制促进炎症反应, 并且在很多免疫和炎症反应中相互作用, 在慢性炎症、免疫紊乱等疾病的发生中起到重要作用^[18]。结果表明, 膳食 OPO 可下调血清中 TNF-α 和 IL-1β 含量, 有利于抑制全身炎症反应。

2.2 膳食 OPO 对断奶期小鼠肠道屏障功能的影响

2.2.1 肠道组织形态学变化

对小鼠结肠组织进行 HE 染色, 并进行组织病理学切片观察。如图 2 所示, 在 CON 组中, 肠组织和粘膜局部受损, 绒毛脱落, 表层上皮细胞和杯状细胞消失, 肠道组织有炎性细胞浸润; 在 LOPO 组和 HOPO 组中, 炎性细胞浸润明显减少, 粘膜损伤部分恢复, 表层上皮细胞和杯状细胞基本恢复正常。结果表明膳食 OPO 能部分恢复肠道组织结构, 对肠道健康具有积极意义。

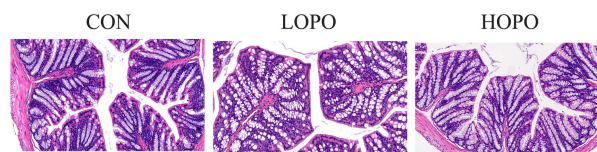


图2 各组间小鼠结肠组织 HE 染色

Fig.2 HE staining of mouse colon tissue between groups

2.2.2 紧密连接蛋白基因表达

肠道物理屏障主要依赖于肠道上皮细胞间的紧密连接, 通过考察结肠中 ZO-1、claudin-1 和 occludin 三种重要的紧密连接蛋白的相对 mRNA 表达来评估结肠物理屏障功能的完整性。如图 3 所示, 与 CON 组相比, OPO 处理组 claudin-1 的相对 mRNA 表达量显著升高。其中 HOPO 组 claudin-1 相对 mRNA 表达量增加了 38.24%, 呈现显著上升趋势 ($P < 0.001$); LOPO 组 claudin-1 相对 mRNA 表达量增加了 31.37%, 呈现显著上升趋势 ($P < 0.05$)。此外, ZO-1 和 occludin 相对 mRNA 表达量无显著变化。结果表明 OPO 可能通过上调结肠 claudin-1 相对 mRNA 表达, 以达到保护肠道的作用。

小肠是消化和吸收 OPO 的主要部位, 膳食 OPO 可能直接影响小肠屏障功能, 同时通过调节肠道菌群间接影响结肠屏障功能。此外, 之前的一项研究表明, OPO 的消化产物 Sn-2 单棕榈酸酯对肠道菌群有益影响^[19]。

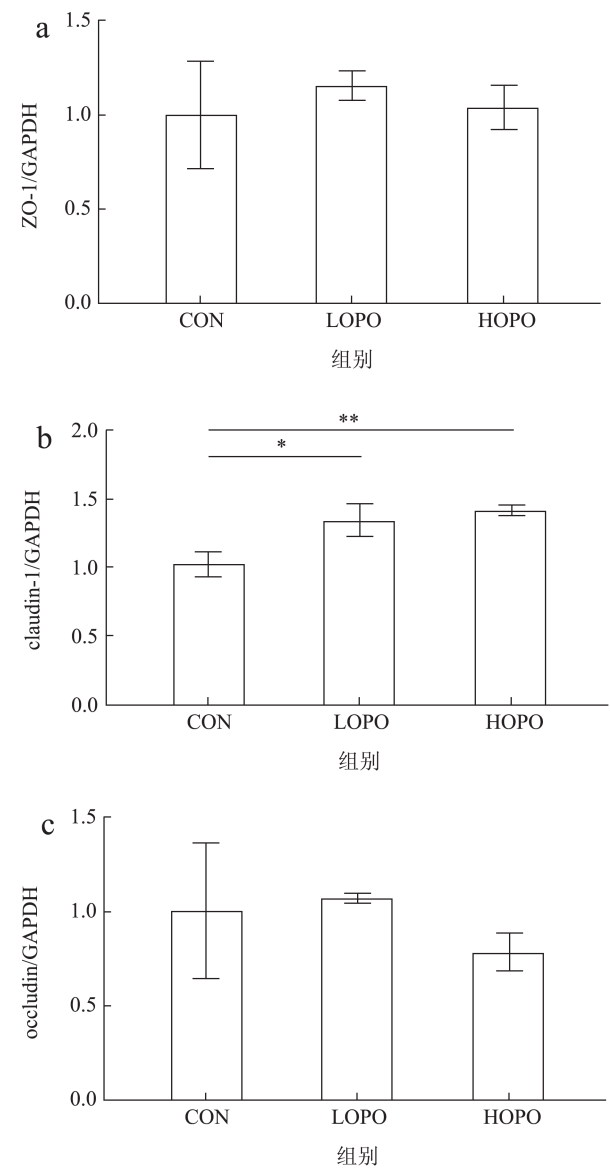


图3 膳食 OPO 对小鼠结肠 ZO-1、claudin-1、occludin 相对 mRNA 表达的影响

Fig.3 Effect of dietary OPO on relative mRNA expression of ZO-1, claudin-1, and occludin in the mouse colon

注: *表示 HOPO 组和 LOPO 组与 CON 组间具有显著差异 (* $P<0.05$, ** $P<0.01$)。

2.2.3 肠道通透性指标 (LPS测定)

当肠道屏障受损时,病原体和有害细菌会进入循环系统,导致肠道炎症和感染^[20]。LPS 存在于大多数革兰氏阴性细菌的外膜中,能强烈激活宿主的免疫系统,诱导产生多种促炎细胞因子^[21]。如图 4 所示,通过测定血清中脂多糖 (LPS) 含量来评估肠道屏障功能的完整性。与 CON 组相比,LOPO 组和 HOPO 小鼠血清中 LPS 含量分别下降了 8.43% 和 8.66%,均呈现显著降低趋势 ($P<0.05$)。结果表明,膳食 OPO 会降低肠道通透性,与上述结果共同证明膳食 OPO 对肠

道屏障功能具有显著的提升作用。

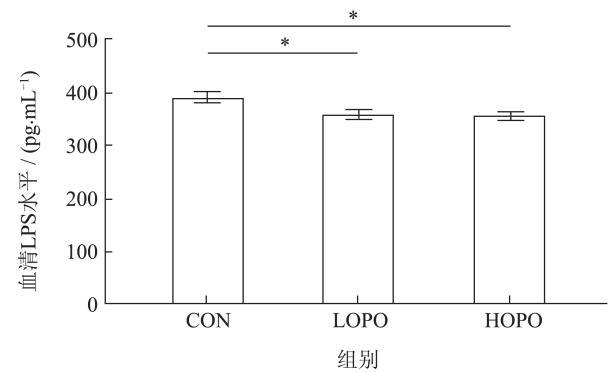


图4 膳食 OPO 对小鼠血清 LPS 水平的影响

Fig.4 Effect of dietary OPO on serum LPS levels in mice

注: *表示 HOPO 组和 LOPO 组与 CON 组间具有显著差异 (* $P<0.05$)。

2.3 膳食OPO对肠道菌群的影响

2.3.1 各组小鼠肠道菌群β多样性

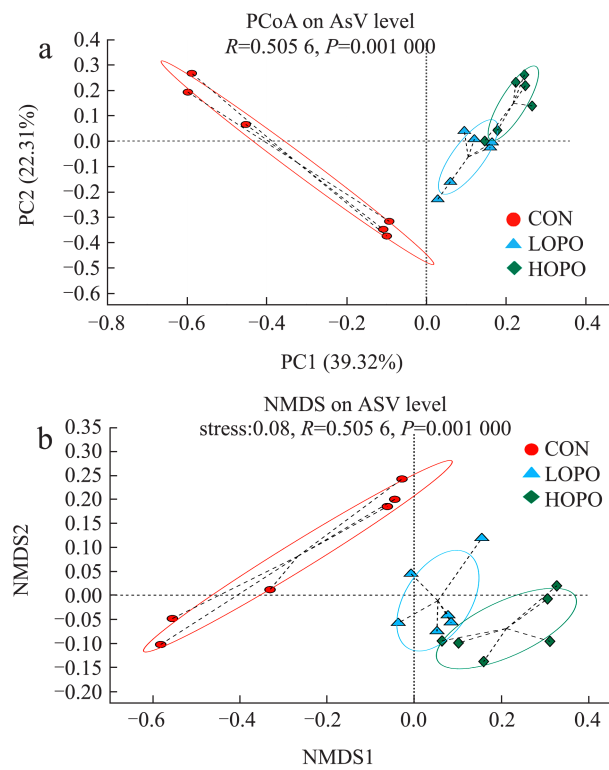


图5 膳食 OPO 对断奶期小鼠肠道菌群 β 多样性的影响

Fig.5 Effect of dietary OPO on the beta diversity of intestinal flora in weaning mice

注: (a) 主坐标分析 PCOA 图; (b) 非度量多维尺度分析 NMDS 图。

通过主坐标分析 (PCoA) 和非度量多维尺度分析 (NMDS) 研究样本群落组成的相似性或差异性,分析断奶期小鼠肠道微生物样本的 β 多样性。如图 5 所示,

PCoA 图显示,在基于 Bray_Curtis 的方法下,CON 组、LOPO 组和 HOPO 组之间存在明显的分离。同样, NMDS 图表明 CON 组、LOPO 组和 HOPO 组之间的微生物群落组成存在明显的聚类。同时,结果表明,与 CON 组相比,LOPO 组和 HOPO 组的样本更加聚集。因此,膳食 OPO 对粪便肠道菌群的组成和结构有显著影响。

2.3.2 各组小鼠肠道菌群优势门、属的变化

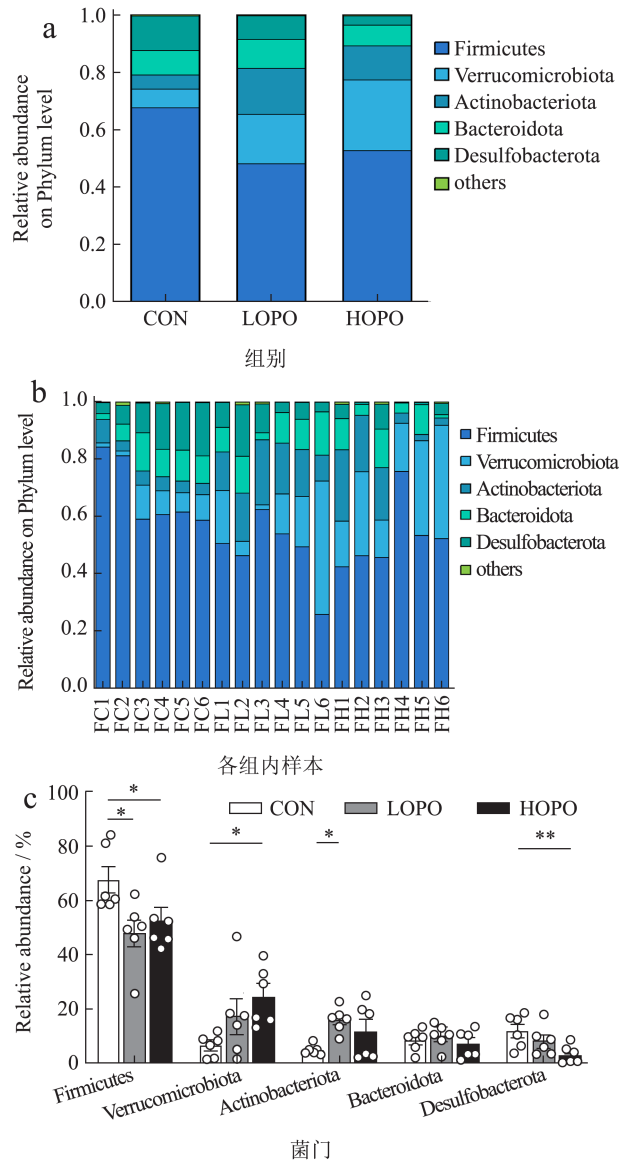


图 6 膳食 OPO 对肠道微生物群门水平结构的影响

Fig.6 Effect of dietary OPO on the phylum level structure of the gut microbiota

注:(a) 门水平菌群结构图;(b) 单个样本门水平菌群结构图;(c) 各优势菌门相对丰度图。*表示 HOPO 组和 LOPO 组与 CON 组间具有显著差异 ($P<0.05$, $**P<0.01$)。

图 6 显示了各组小鼠肠道菌群在门水平上最大丰度排名前 5 的物种。结果表明,在粪便微生物群中,厚壁

菌门 (Firmicutes)、疣微菌门 (Verrucomicrobiota)、拟杆菌门 (Bacteroidota)、脱硫杆菌门 (Desulfobacterota) 和放线菌门 (Actinobacteriota) 是最主要的菌门。膳食 OPO 显著降低了厚壁菌门和脱硫杆菌门的相对丰度 ($P<0.05$),显著增加了疣微菌门的相对丰度 ($P<0.05$)。同时,与 CON 组相比,LOPO 组放线菌门的相对丰度显著增加 ($P<0.05$),HOPO 组放线菌门的相对丰度有所增加但没有显著差异。

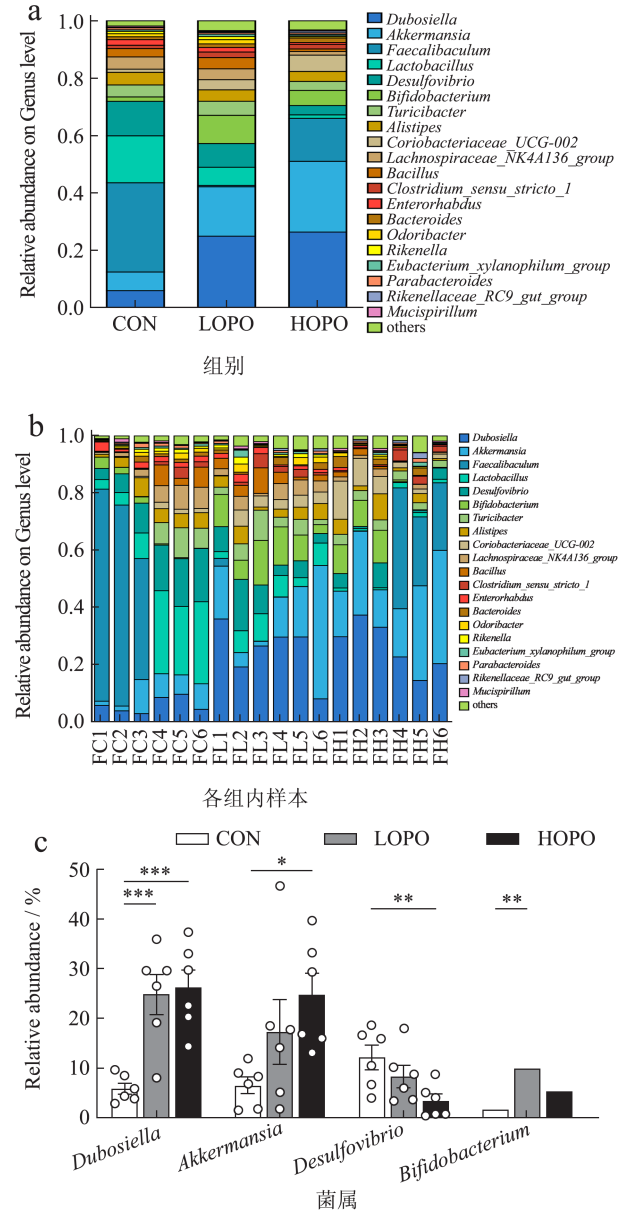


图 7 膳食 OPO 对肠道微生物群属水平结构的影响

Fig.7 Effect of dietary OPO on the genus level structure of the gut microbiota

注:(a) 属水平菌群结构图;(b) 单个样本属水平菌群结构图;(c) 各优势属相对丰度图。*表示 HOPO 组和 LOPO 组与 CON 组间具有显著差异 ($P<0.05$, $**P<0.01$, $***P<0.001$)。

图7显示了各组小鼠肠道菌群在属水平上最大丰度排名前20的物种。结果表明,杜博氏菌(*Dubosiella*)、阿克曼氏菌(*Akkermansia*)、粪杆菌属(*Faecalibaculum*)、乳酸杆菌(*Lactobacillus*)、脱硫弧菌属(*Desulfovibrio*)和双歧杆菌(*Bifidobacterium*)是粪便微生物群中的主要菌属。值得注意的是,膳食OPO增加了杜博氏菌、阿克曼氏菌和双歧杆菌的相对丰度,降低了脱硫弧菌属的相对丰度。其中,LOPO组和HOPO组杜博氏菌的相对丰度显著上升($P<0.001$);HOPO组阿克曼氏菌的相对丰度显著上升($P<0.05$),而LOPO组有上升趋势但无统计学意义;LOPO组双歧杆菌的相对丰度显著上升($P<0.01$),而HOPO组有上升趋势但无统计学意义;HOPO组脱硫弧菌属的相对丰度显著下降($P<0.01$),而LOPO组有下降趋势但无统计学意义。

越来越多的研究表明,肠道微生物群与宿主免疫和代谢性疾病密切相关^[22-24]。在本研究中,膳食OPO显著增加了粪便微生物群中*Akkermansia*和*Dubosiella*的相对丰度,显著降低*Desulfovibrio*的相对丰度。因此,膳食OPO对肠道屏障功能和炎症反应的有益影响可能与*Akkermansia*和*Dubosiella*的相对丰度增加有关。*Akkermansia muciniphila*被认为是新一代益生菌之一。研究表明,*Akkermansia muciniphila*可诱导Treg细胞的分化和扩增,在预防自身免疫反应和维持免疫平衡方面发挥着重要作用^[25]。此外,有研究发现,*Akkermansia muciniphila*可通过调节肠道菌群的组成和功能,降低肠道渗透性并增强肠道屏障功能,从而减轻炎症反应^[26]。*Dubosiella*在免疫调节和代谢健康方面具有巨大潜力。研究表明,在DSS诱导的结肠炎小鼠模型中,*Dubosiella newyorkensis*通过产生丙酸和L-赖氨酸(Lys)调节Th17/Treg细胞的平衡,并改善肠粘膜屏障的完整性。这种免疫调节与AhR-IDO1-Kyn通路有关^[27]。

为了确定不同分组间的主要功能菌属,即差异型菌属,利用LEfSe分析进行了分类水平从门到属的不同组别之间差异菌属的鉴别。在粪便中,三组共鉴定出146种细菌,其中22种符合LDA SCORE(log10) ≥ 4.0 且 $P<0.05$ (图8)。其中,分别属于放线菌门、脱硫杆菌门和厚壁菌门的*Paludicola*、*Desulfovibrio*和*Lactobacillus*在CON组中显著富集;来自放线菌门的*Bifidobacterium*在LOPO组中显著富集;分别属于厚壁菌门、疣微菌门和放线菌门的*Dubosiella*、*Akkermansia*和*Coriobacteriaceae_UCG-002*在HOPO组中显著富集。

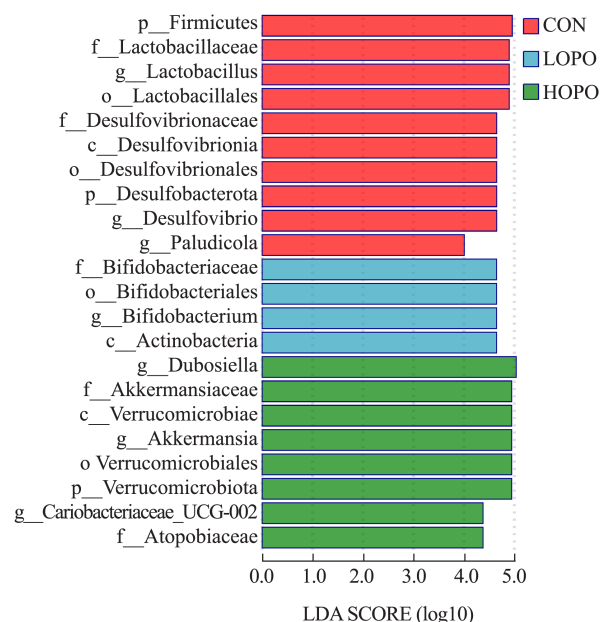


图8 不同分组间差异菌的LEfSe分析

Fig.8 LEfSe analysis of differential bacteria between different groups

2.4 膳食OPO对粪便中SCFAs含量的影响

SCFAs对于肠道生态环境的稳定以及宿主整体健康至关重要,主要包括乙酸、丙酸、正丁酸、异丁酸、正戊酸和异戊酸,其中乙酸、丙酸和正丁酸含量最高。因此,本研究测定6种主要的SCFAs,来探究膳食OPO对小鼠粪便中SCFAs含量的影响。如图9所示,与CON组相比,LOPO组和HOPO组小鼠粪便中乙酸、丙酸、正丁酸和正戊酸含量显著升高($P<0.001$),异丁酸和异戊酸含量没有显著变化。其中,乙酸和正丁酸的含量变化最明显,与CON组相比,LOPO组乙酸和正丁酸的含量分别增加了162.32%和216.24%;HOPO组乙酸和正丁酸的含量分别增加了160.68%和163.85%。丙酸和正戊酸的含量变化次之,与CON组相比,LOPO组丙酸和正戊酸的含量分别增加了72.7%和25.2%;HOPO组丙酸和正戊酸的含量分别增加了74.58%和23.03%。

肠道菌群组成的变化通常伴随着其代谢产物的变化,其中SCFAs在维持肠道稳态方面起着至关重要的作用。SCFAs(尤其是丙酸和丁酸)是肠道上皮细胞的重要能量来源,有助于维持肠道屏障的完整性^[10]。研究发现,丙酸可促进肠上皮细胞分泌粘蛋白,尤其是Muc2的表达^[28]。丁酸通过调节转录因子HIF来降低肠上皮细胞的通透性,从而促进肠上皮屏障功能^[9]。此外,SCFAs还可通过激活G蛋白偶联受体(GPCR)和抑制组蛋白去乙酰化酶(HDAC)来调节免疫反应。例如,丁酸可抑制人体外周血单核细胞中LPS诱导

的 TNF 生成水平，下调 TNF- α 、TNF- β 和 IL-6 的相对 mRNA 表达^[29]。丙酸具有一定的 HDAC 抑制活性，可促进外周胸腺外 Treg 细胞的生成^[16]。乙酸能以 GPR43 依赖性方式降低 DSS 诱导的大鼠结肠炎的炎症反应^[30]。因此，膳食 OPO 促进了肠道微生物群相关 SCFAs（主要是丙酸和丁酸）的代谢，从而增强肠道屏障功能、抑制炎症反应。

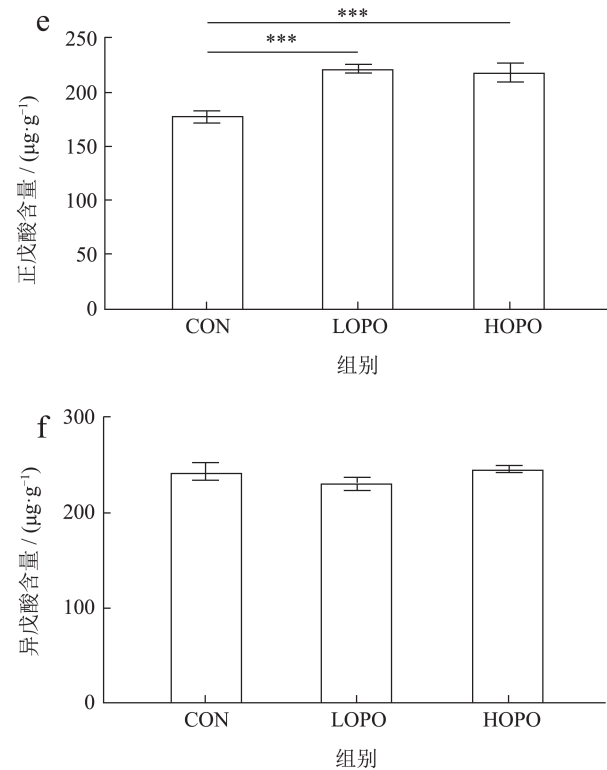
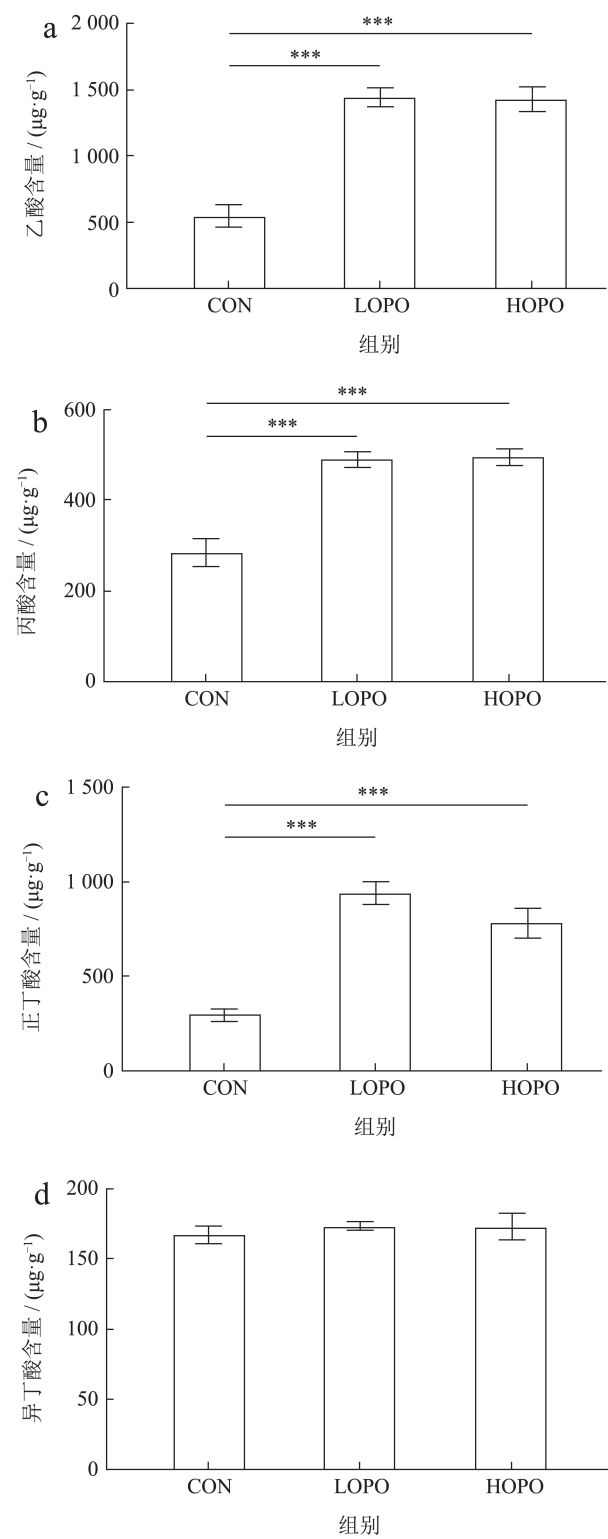


图9 膳食 OPO 对小鼠粪便中短链脂肪酸含量的影响
Fig.9 Effect of dietary OPO on short-chain fatty acid content in mouse faeces

注：*表示 HOPO 组和 LOPO 组与 CON 组间具有显著差异 (** $P<0.001$)。

2.5 生理生化指标与差异肠道微生物群相关性分析

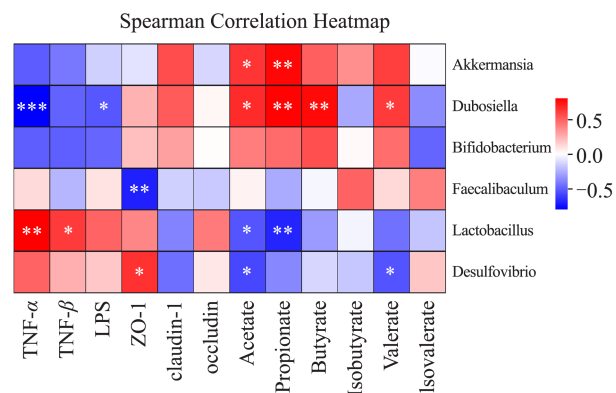


图10 小鼠生理生化指标与差异肠道微生物群的相关性分析
Fig.10 Correlation analysis of physiological and biochemical indices with differential gut microbiota in mice

注：*表示 HOPO 组和 LOPO 组与 CON 组间具有显著差异 (* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$)。

综上，膳食 OPO 对断奶期小鼠的炎症因子、肠道屏障功能、血清生化指标及短链脂肪酸水平等均产生一定的影响，为了进一步确定差异肠道微生物群的关

键作用,进行了属水平的 Spearman 相关性分析。结果如图 10 所示, *Akkermansia* 与小鼠粪便乙酸和丙酸含量呈显著正相关; *Dubosiella* 与小鼠粪便乙酸、丙酸、正丁酸和正戊酸与呈显著正相关,与血清 LPS 水平和 TNF- α 水平呈显著负相关; *Faecalibaculum* 与小鼠结肠 ZO-1 相对 mRNA 表达呈显著负相关; *Lactobacillus* 与小鼠血清 TNF- α 和 IL-1 β 水平呈显著正相关,与粪便乙酸和丙酸含量呈显著负相关; *Desulfovibrio* 与小鼠结肠 ZO-1 相对 mRNA 表达呈显著正相关,与粪便乙酸和正戊酸含量呈显著负相关。

3 结论

综上,膳食 OPO 可通过调节肠道菌群及其相关 SCFAs 代谢增强断奶期小鼠肠道屏障功能、抑制全身炎症反应,主要表现在益生菌 *Akkermansia*、*Dubosiella* 和 *Bifidobacterium* 相对丰度的显著增加、有害菌 *Desulfovibrio* 相对丰度的显著降低以及粪便中丙酸和丁酸含量的显著增加。本研究为 OPO 结构脂进一步应用于功能性食品领域提供科学依据,为肠道菌群预防炎症反应提供了新思路。

参考文献

- [1] WEI T, TAN D, ZHONG S, et al. 1-oleate-2-palmitate-3-linoleate glycerol improves lipid metabolism and gut microbiota and decreases the level of pro-inflammatory cytokines [J]. Food & Function, 2023, 14(13): 5949-5961.
- [2] KALLIO H, NYLUND M, BOSTRÖM P, et al. Triacylglycerol regioisomers in human milk resolved with an algorithmic novel electrospray ionization tandem mass spectrometry method [J]. Food Chemistry, 2017, 233: 351-360.
- [3] QI C, SUN J, XIA Y, et al. Fatty acid profile and the sn-2 position distribution in triacylglycerols of breast milk during different lactation stages [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(12): 3118-3126.
- [4] WEI T, MUEED A, LUO T, et al. 1,3-Dioleoyl-2-palmitoyl-glycerol and 1-oleoyl-2-palmitoyl-3-linoleoyl-glycerol: Structure-function relationship, triacylglycerols preparation, nutrition value [J]. Food Chemistry, 2024, 443: 138560.
- [5] HAGEMAN J H J, DANIELSEN M, NIEUWENHUIZEN A G, et al. Comparison of bovine milk fat and vegetable fat for infant formula: Implications for infant health [J]. International Dairy Journal, 2019, 92: 37-49.
- [6] ZOU L, PANDE G, AKOH C C. Infant formula fat analogs and human milk fat: New focus on infant developmental needs [J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2016, 7(1): 139-165.
- [7] SHREINER A B, KAO J Y, YOUNG V B. The gut microbiome in health and in disease [J]. Current Opinion in Gastroenterology, 2015, 31(1): 69-75.
- [8] AIXIANG H O U, HUAN C, ZONGJUN L I, et al. *In vitro* fermentation characteristics of OPO-enriched formula powder by gut microbiota [J]. Food Science, 2019, 40(12): 115.
- [9] MARTIN-GALLAUSIAUX C, MARINELLI L, BLOTTIÈRE H M, et al. SCFA: mechanisms and functional importance in the gut [J]. Proceedings of the Nutrition Society, 2021, 80(1): 37-49.
- [10] FUSCO W, LORENZO M B, CINTONI M, et al. Short-chain fatty-acid-producing bacteria: Key components of the human gut microbiota [J]. Nutrients, 2023, 15(9): 2211.
- [11] YI C, HUANG S, ZHANG W, et al. Synergistic interactions between gut microbiota and short chain fatty acids: Pioneering therapeutic frontiers in chronic disease management [J]. Microbial Pathogenesis, 2025, 199: 107231.
- [12] YAO Y, CAI X, FEI W, et al. The role of short-chain fatty acids in immunity, inflammation and metabolism [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2022, 62(1): 1-12.
- [13] LIU P, WANG Y, YANG G, et al. The role of short-chain fatty acids in intestinal barrier function, inflammation, oxidative stress, and colonic carcinogenesis [J]. Pharmacological Research, 2021, 165: 105420.
- [14] PARADA VENEGAS D, DE LA FUENTE M K, LANDSKRON G, et al. Short chain fatty acids (SCFAs)-mediated gut epithelial and immune regulation and its relevance for inflammatory bowel diseases [J]. Frontiers in Immunology, 2019, 10: 277.
- [15] LIU X F, SHAO J H, LIAO Y T, et al. Regulation of short-chain fatty acids in the immune system [J]. Frontiers in Immunology, 2023, 14: 1186892.
- [16] MANN E R, LAM Y K, UHLIG H H. Short-chain fatty acids: linking diet, the microbiome and immunity [J]. Nature Reviews Immunology, 2024, 24(8): 577-595.
- [17] HU M J, ALHAMWE B A, SANTNER-NANAN B, et al. Short-chain fatty acids augment differentiation and function of human induced regulatory T cells [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(10): 5740.
- [18] WALSH M J, ALI L R, LENEHAN P, et al. Blockade of innate inflammatory cytokines TNF α , IL-1 β , or IL-6 overcomes virotherapy-induced cancer equilibrium to promote tumor regression [J]. Immunotherapy Advances, 2023, 3(1): Itad011.
- [19] YARON S, SHACHAR D, ABRAMAS L, et al. Effect of high β -palmitate content in infant formula on the intestinal microbiota of term infants [J]. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 2013, 56(4): 376-381.
- [20] MCGUCKIN M A, ERI R, SIMMS L A, et al. Intestinal barrier dysfunction in inflammatory bowel diseases [J]. Inflammatory Bowel Diseases, 2009, 15(1): 100-113.
- [21] 马婉婷,崔博,何利梅,等.黄芪多糖对脂多糖刺激SPF小鼠肠道免疫和菌群组成的影响[J].饲料研究,2025,22:98-103.
- [22] 张贺,王玉娥,陈洪岩.肠道菌群参与宿主免疫应答的作用及机制研究进展[J].微生物学报,2020,60(4):629-640.
- [23] 许爱梅,张方华,商永芳.肠道菌群与代谢疾病关系的研究进展[J].齐鲁医学杂志,2017,32(2):235-237.
- [24] 李奇威,王业胜,周林,等.代谢性疾病与肠道菌群关系的研究进展[J].广州中医药大学学报,2017,34(4):623-626.

- [25] LIU H, HUANG R, SHEN B, et al. Live *Akkermansia muciniphila* boosts dendritic cell retinoic acid synthesis to modulate IL-22 activity and mitigate colitis in mice [J]. *Microbiome*, 2024, 12(1): 275.
- [26] PEÑA-CEARRA A, PALACIOS A, PELLON A, et al. *Akkermansia muciniphila*-induced trained immune phenotype increases bacterial intracellular survival and attenuates inflammation [J]. *Communications Biology*, 2024, 7(1): 192.
- [27] ZHANG Y, TU S, JI X, et al. *Dubosiella newyorkensis* modulates immune tolerance in colitis via the L-lysine-activated AhR-IDO1-Kyn pathway [J]. *Nature Communications*, 2024, 15(1): 1333.
- [28] WILLEMSSEN L E M, KOETSIER M A, DEVENTER S J H van, et al. Short chain fatty acids stimulate epithelial mucin 2 expression through differential effects on prostaglandin E1 and E2 production by intestinal myofibroblasts [J]. *Gut*, 2003, 52(10): 1442-1447.
- [29] 龚福来,林雪,王红权.丁酸对肠道健康的影响及作用机制的研究进展[J].*饲料研究*,2020,43(3):113-117.
- [30] LEE D H, KIM M T, HAN J H. GPR41 and GPR43: From development to metabolic regulation [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2024, 175: 116735.