

# 基于粪菌移植探究熊果酸对酒精性肝损伤小鼠的保护作用及机制研究

赵雪<sup>1</sup>, 郭腾飞<sup>1</sup>, 刘佳欣<sup>1</sup>, 许怀阳<sup>1</sup>, 冯缘缘<sup>1</sup>, 张文龙<sup>2</sup>, 戈娜<sup>1</sup>, 包艳<sup>1</sup>, 高龙<sup>1</sup>

1. 包头医学院营养与食品健康研究所, 包头医学院公共卫生学院, 内蒙古包头 014040;

2. 包头医学院第一附属医院骨外科

**摘要:**目的 观察熊果酸(ursolic acid)补充对酒精性肝损伤的保护作用,通过粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)实验明确肠道菌群在其中的作用并探究其机制。方法 8 周龄 C57BL/6 小鼠随机分为正常对照组、酒精模型组、熊果酸干预组,每组 6 只。8 周造模期间,后 2 周每日留取各组小鼠粪便制备粪菌液。受体小鼠经肠源性细菌清除后,随机分为 FMT- 对照组、FMT- 模型组、FMT- 熊果酸组,于第 7 周始,每日灌胃相应粪菌液 200  $\mu$ l,持续 2 周。苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色法观察各组小鼠肝组织病理学变化,比色法检测各组小鼠血清谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、总胆汁酸(total bile acid, TBA),16S rRNA 基因测序分析供体小鼠肠道菌群变化,免疫印迹法(western blotting, WB)检测受体小鼠肝法尼醇受体(farnesoid X receptor, FXR)蛋白表达量。采用 SPSS 22.0 统计软件对实验数据进行方差分析,显著性水平( $\alpha$  值)设定为 0.05。结果 与酒精模型组相比,熊果酸的干预能够改善酒精性肝损伤小鼠的肝脏损伤,表现为血清 ALT 活性降低 39.3%( $P<0.05$ )、AST 活性降低 16.7%( $P<0.05$ ),同时可恢复小鼠肠道菌群的多样性。各组受体小鼠的肝脏病理学出现与供体小鼠相似的变化。对受体小鼠 ALT、AST、TBA 检测发现,与 FMT- 对照组相比,FMT- 模型组小鼠的血清 ALT、AST 活性及 TBA 水平分别升高了 124%、47.4%、97.5%( $P<0.05$ );FMT- 熊果酸组 ALT、AST 活性及 TBA 水平较 FMT- 模型组均显著降低( $P<0.05$ )。WB 结果显示,FMT- 模型组小鼠肝组织中 FXR 蛋白表达水平低至 FMT- 对照组的 17.8%( $P<0.05$ );与 FMT- 模型组相比,FXR- 熊果酸组小鼠的肝脏 FXR 蛋白表达升高了 2.09 倍( $P<0.05$ )。结论 熊果酸对酒精性肝损伤小鼠具有保护作用,其作用机制可能与熊果酸调节肠道菌群,调控肝 FXR 蛋白表达,进而维持胆汁酸稳态有关。

**关键词:**熊果酸;酒精性肝损伤;肠道菌群;粪菌移植;法尼醇受体

中图分类号:R15;R575.5 文献标志码:A 文章编号:1003-8507(2025)11-2074-06

DOI: 10.20043/j.cnki.MPM.202501072

## Investigation of the protective effect and mechanism of ursolic acid on alcoholic liver injury in mice based on fecal microbiota transplantation

ZHAO Xue\*, GUO Teng-fei, LIU Jia-xin, XU Huai-yang, FENG Yuan-yuan, ZHANG Wen-long, GE Na, BAO Yan, GAO Long

\*Institute of Nutrition and Food Health, Baotou Medical College; School of Public Health, Baotou Medical College, Baotou, Inner Mongolia 014040, China

**Abstract: Objective** To investigate the protective effect of ursolic acid (UA) supplementation on alcoholic liver injury and to clarify the role of gut microbiota through fecal microbiota transplantation (FMT) experiments, as well as to explore the underlying mechanisms. **Methods** Eight-week-old C57BL/6 mice were randomly divided into a normal control group, an alcohol model group, and a UA intervention group, with six mice in each group. During the 8-week modeling period, fecal samples from each group were collected daily for the last two weeks to prepare fecal microbiota solutions. After the recipient mice underwent gut-derived bacterial clearance, they were randomly assigned to FMT-control, FMT-model, and FMT-UA groups. Starting from the seventh week, each group received daily gavage of 200  $\mu$ l of the corresponding fecal microbiota solution for two weeks. Hematoxylin-Eosin (HE) staining was used to observe the histopathological changes in liver tissues of the mice, and colorimetric assays were performed to measure serum levels of aspartate aminotransferase (AST), alanine

**基金项目:**国家自然科学基金地区项目(82160618, 81760586); 内蒙古自然科学基金(2023MS08041); 内蒙古自治区卫生健康科技计划项目(202201373); 包头医学院创新团队发展计划(byextd-11); 包头医学院 2023 年硕士研究生科研创新资助项目(bycx2023004); 包头医学院 2024 年度“花蕾计划”项目(HLJH202428)

**作者简介:**赵雪(1999—),女,硕士在读,研究方向:营养与疾病

**通信作者:**戈娜, E-mail: genanihao80@163.com

aminotransferase (ALT), and total bile acid (TBA). The changes in gut microbiota of donor mice were analyzed by 16S rRNA gene sequencing, and Western blotting (WB) was used to detect the expression levels of Foresaid X receptor (FXR) protein in the liver of recipient mice. Statistical analysis was conducted using SPSS 22.0, with a significance level ( $\alpha$ ) set at 0.05. **Results** Compared to the alcohol model group, UA intervention improved liver injury in mice with alcoholic liver damage, evidenced by a 39.3% reduction in serum ALT activity ( $P < 0.05$ ) and a 16.7% reduction in AST activity ( $P < 0.05$ ), while also restoring the diversity of gut microbiota. The liver pathology of recipient mice exhibited changes similar to those of donor mice. Analysis of ALT, AST, and TBA levels in recipient mice revealed that, compared to the FMT-control group, the serum ALT, AST, and TBA levels in the FMT-model group increased by 124%, 47.4%, and 97.5%, respectively ( $P < 0.05$ ); the FMT-UA group showed significant reductions in ALT, AST, and TBA levels compared to the FMT-model group ( $P < 0.05$ ). WB results indicated that FXR protein expression in the liver tissue of the FMT-model group was only 17.8% of that in the FMT-control group ( $P < 0.05$ ); compared to the FMT-model group, the FXR protein expression in the liver of the FXR-UA group increased by 2.09 times ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** UA exhibits a protective effect against alcoholic liver injury in mice, and its mechanism may be associated with the regulation of gut microbiota and the modulation of liver FXR protein expression, thereby maintaining bile acid homeostasis.

**Keywords:** Ursula acid; Alcoholic liver injury; Gut microbiota; Fecal microbiota transplantation; Foresaid X receptor

酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)又称酒精性肝损伤,是因长期和/或大量饮酒引发的肝脏疾病,可发展成肝硬化甚至肝癌。在我国,因饮酒导致的肝病死亡人数占所有死亡人数的 20%<sup>[1]</sup>。目前,ALD 的治疗主要靠戒酒和营养支持,缺乏特效药。研究表明,ALD 与肠道菌群密切相关,表现为肠道菌群的多样性降低,厚壁菌门和拟杆菌门的比例失衡<sup>[2]</sup>。胆汁酸等肠道代谢产物可作为信号分子干预通路<sup>[3]</sup>,影响肠道微生态,经肠肝循环影响酒精性肝损伤进展。法尼醇受体(farnesoid X receptor, FXR)作为一种核受体,在胆汁酸代谢中起关键作用。FXR 基因敲除小鼠研究显示<sup>[4]</sup>,FXR 缺乏会加重乙醇诱导的肝损伤。以上提示酒精摄入可干扰肠道菌群平衡和胆汁酸代谢,这可能是影响 ALD 发生发展的重要机制。

熊果酸(ursolic acid)是一种天然五环三萜类化合物,有抗炎、抗氧化、抗癌等生物学作用<sup>[5]</sup>。课题组前期研究发现,熊果酸可逆转酒精所致肠道菌群紊乱<sup>[6]</sup>,上调肝脏 FXR 的表达,抑制酒精引起的大鼠胆汁酸的异常增高<sup>[7]</sup>,对肝脏有保护作用。粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)是重建肠道菌群的有效手段,被应用于多种疾病的治疗<sup>[8]</sup>,但在肝病中研究较少。本研究以熊果酸为干预物,借助 FMT 小鼠模型,深入探讨熊果酸是否通过改善肠道微生态发挥保肝护肝作用。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 36只 C57BL/6 小鼠,SPF 级,雄性 8 周龄,体重 20~23 g,购自斯贝福(北京)生物科技有限公司,许可证号:SCXK(京)2019-0010;伦理委员会实验编号:包医伦审 2022 第(105)号;Lieber-DeCarli 液体饲料,小黍有泰(北京)生物科技有限公司;熊果酸,

西安瑞林生物科技有限公司,纯度 98%;抗生素,上海易恩化学技术有限公司;谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT),北京索莱宝科技有限公司;总胆汁酸(total bile acids, TBA)试剂盒,南京建成生物工程研究所;ECL 发光试剂、山羊抗兔二抗和山羊抗鼠二抗,北京中杉金桥公司;抗 FXR 抗体,BIOS 公司。

Synergy HT/SIAFRTI 酶标仪, BioTek 美国伯腾仪器有限公司;DYCZ-24DN 电泳仪,北京六一公司;WSE-4040 半干转膜仪系统,ATTO 公司;ChemiDoc 超高灵敏度免染型化学发光成像系统,美国 Bio-Rad 公司。

## 1.2 实验方法

**1.2.1 Lieber-DeCarli 液体饲料配制**<sup>[9]</sup> 对照饲料配制:取 221.78 g 主料,加入去离子水,定容至 1 L,30 s 内充分混匀;酒精饲料配制:取 132.18 g 主料,加入 95%乙醇 57.3 ml 后添加去离子水,定容至 1 L,酒精含量为 5%。对照饲料与酒精饲料主料不同,均由试剂公司提供。

**1.2.2 ALD 小鼠模型的建立** 8 周龄 C57BL/6 小鼠 18 只,饲养在稳定环境中,温度(23±2)℃,相对湿度为 50%~60%,12 h/12 h 昼夜循环。适应性喂养一周后,将小鼠随机分为正常对照组、酒精模型组、熊果酸干预组,每组 6 只。各组小鼠处理方式如下:酒精模型组及熊果酸干预组采用配制好的 Lieber-DeCarli 酒精液体饲料喂养,正常对照组给予对照饲料;此外,熊果酸干预组给予熊果酸灌胃[150 mg/(kg·bw·d),溶于玉米油],对照组及模型组给予等体积玉米油灌胃;造模时间为 8 周。

**1.2.3 粪菌移植方案** ALD 造模 6 周后,将正常对照组、酒精模型组、熊果酸干预组小鼠作为 FMT 实验

的供体小鼠,另引入 18 只 C57BL/6 小鼠作为受体。受体小鼠在进行正式 FMT 实验前,进行为期三周的广谱抗生素干预<sup>[9]</sup>,称重后随机分为三组(6 只/组):FMT- 对照组、FMT- 模型组、FMT- 熊果酸组。每日供体小鼠灌胃后,收集每只供体小鼠的新鲜粪便颗粒,将同一组小鼠的粪便颗粒置于同一一次性粪便采集管内,按 0.1 g/1 ml 生理盐水制备混悬液,经振荡、离心后取上清液即为所需供体小鼠粪菌液(离心半径为 8 cm,转速为 800 r/min,时间为 3 min)。将各组供体粪便上清液分别灌胃给 FMT 对照组、FMT- 模型组和 FMT- 熊果酸组的小鼠,每只小鼠每天一次性灌胃 200  $\mu$ l,共持续 2 周。

**1.2.4 实验动物取材** ALD 模型建立与 FMT 实验同步结束,末次灌胃后,收集供体组小鼠粪便储存于  $-80^{\circ}\text{C}$  条件,用于肠道菌群测序。实验完成后,小鼠禁食不禁水 12 h,选用 0.3% 戊巴比妥钠对小鼠进行麻醉,摘眼球取血,分离血清,取部分肝组织于 4% 多聚甲醛内固定,用于病理学观察,剩余部分冻存于  $-80^{\circ}\text{C}$  超低温冰箱。

**1.2.5 小鼠肝组织病理学观察** 取 1 cm  $\times$  1 cm  $\times$  0.5 cm 大小的肝组织,于 4% 多聚甲醛中固定 24 h,脱水、石蜡包埋、苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色、封片、光镜下观察病理改变。

**1.2.6 小鼠血清 AST、ALT 和 TBA 水平的测定** 用比色法测定小鼠血清中的 AST、ALT、TBA,按试剂盒说明进行,于酶标仪读取吸光度后计算各指标活性/含量。

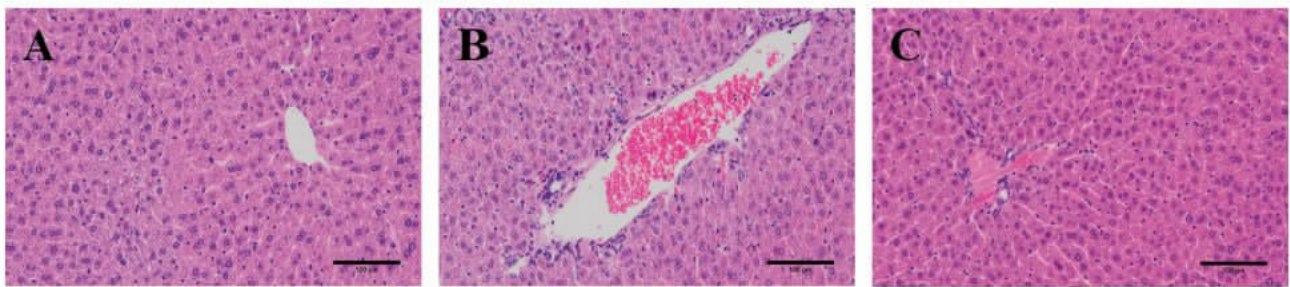
**1.2.7 免疫印记法(western blotting, WB)检测受体小鼠肝 FXR 蛋白的表达情况** 取小鼠肝组织 100 mg,加入 1 ml 裂解液并研磨后,在  $4^{\circ}\text{C}$ ,离心半径 8 cm,12 000 r/min 离心 10 min,留上清,测定蛋白浓度。95  $^{\circ}\text{C}$  变性 10 min 制备样品后,进行 SDS-PAGE 电泳分离蛋白并转印至 PVDF 膜。依次孵育 FXR 一抗和 HRP 标记二抗,最后用 ImageJ 软件测量 WB 结果条带的灰度值。

**1.2.8 肠道菌群测序** 用 DNA 提取试剂盒从小鼠粪便中提取微生物的总 DNA,并以此为模板对 16S rRNA 基因中 V3 和 V4 可变区进行 PCR 扩增。采用 Illumina 公司的 TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit 构建测序文库,对其进行测序。利用 Vsearch 软件进行 OTUs 分析,根据 OTUs 的聚类结果对肠道菌群的变化进行测序。

**1.3 数据统计与分析** 用 SPSS 22.0 对实验结果进行处理与分析,计量资料使用( $\bar{x} \pm s$ )进行表示,多组间的比较运用单因素方差分析,进一步两两比较应用 LSD-*t* 法,以  $\alpha=0.05$  作为检验水准。

## 2 结果

**2.1 供体小鼠肝组织病理学观察** 如图 1 所示,正常对照组小鼠肝小叶结构完整、细胞排列整齐,未见脂肪空泡形成;模型组小鼠的肝小叶边界模糊并伴有大量炎症细胞浸润,出现少量脂滴;熊果酸干预组小鼠肝小叶结构较模型组小鼠明显改善,脂肪空泡及炎症细胞数量有所下降,并趋于正常对照组。



注:A 为正常对照组;B 为酒精模型组;C 为熊果酸干预组。

图 1 供体小鼠肝组织病理学观察(HE 染色,  $\times 200$ )

Figure 1 Histopathological observations on the liver of donor mice (HE,  $\times 200$ )

**2.2 供体小鼠血清转氨酶活性的测定** 从表 1 可知,酒精模型组小鼠与正常对照组比较,ALT 和 AST 活性明显增高( $P<0.05$ ),熊果酸干预后,与模型组相比,ALT 活性降低了 39.3%( $P<0.05$ )、AST 活性降低了 16.7%( $P<0.05$ )。

**2.3 供体小鼠粪便肠道菌群的结果分析** 与正常组相比,模型组小鼠肠道菌群的 Simpson 指数显著降低( $P<0.05$ );与模型组相比,熊果酸干预组 Simpson 指

表 1 各组供体小鼠血清 ALT、AST 的活性( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

Table 1 Activity of serum ALT and AST in groups of donor mice ( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

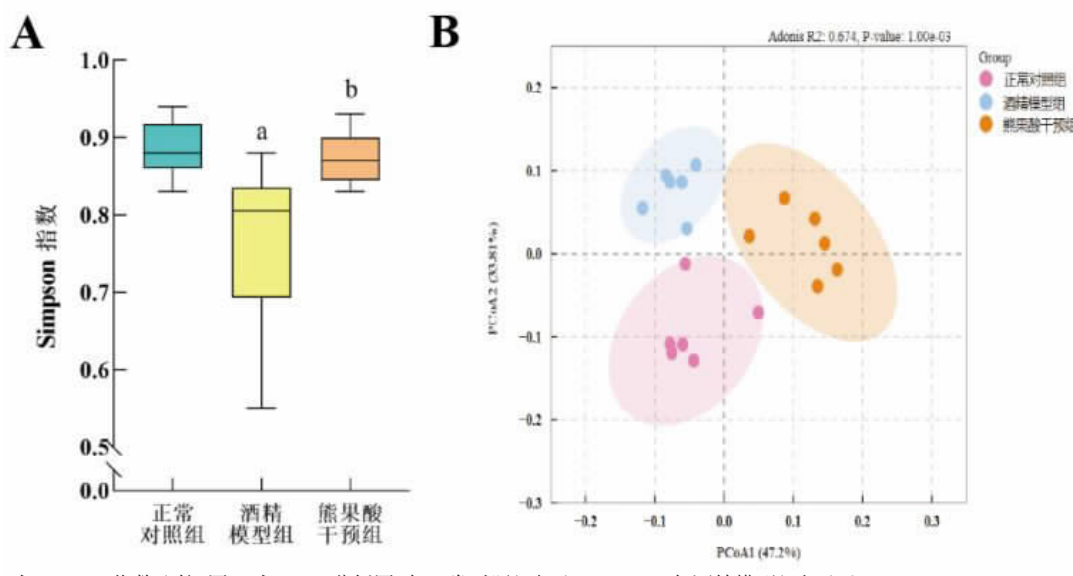
组别	ALT(U/ml)	AST(U/ml)
正常对照组	0.59 $\pm$ 0.06	2.38 $\pm$ 0.35
酒精模型组	1.45 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>	3.05 $\pm$ 0.43 <sup>a</sup>
熊果酸干预组	0.88 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>	2.54 $\pm$ 0.19 <sup>b</sup>

注:与正常对照组相比,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与酒精模型组相比,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

数显著升高( $P < 0.05$ ),见图 2A。对菌群进行  $\beta$  多样性分析,PCoA 主坐标分析显示,各组之间差距较远,表明小鼠之间肠道菌群结构发生显著差异( $P < 0.001$ ),见图 2B。

对小鼠肠道菌群在门水平上的相对丰度进行分

析,结果显示:相较于对照组,酒精模型组小鼠厚壁菌门和变形菌门相对丰度明显增加,厚壁菌门/拟杆菌门比值显著升高;经熊果酸干预后,可以改善此变化,纠正肠道菌群紊乱。见表 2。



注:图 A 为 Simpson 指数比较;图 B 为 PCoA 分析图;与正常对照组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与酒精模型组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

图 2 熊果酸对各组供体小鼠肠道菌群多样性的影响

Figure 2 Effect of ursolic acid on the diversity of gut microbiota in each group of donor mice

表 2 供体小鼠各菌门相对丰度及厚壁菌门/拟杆菌门比值[ $n=6, (\bar{x} \pm s), \%$ ]

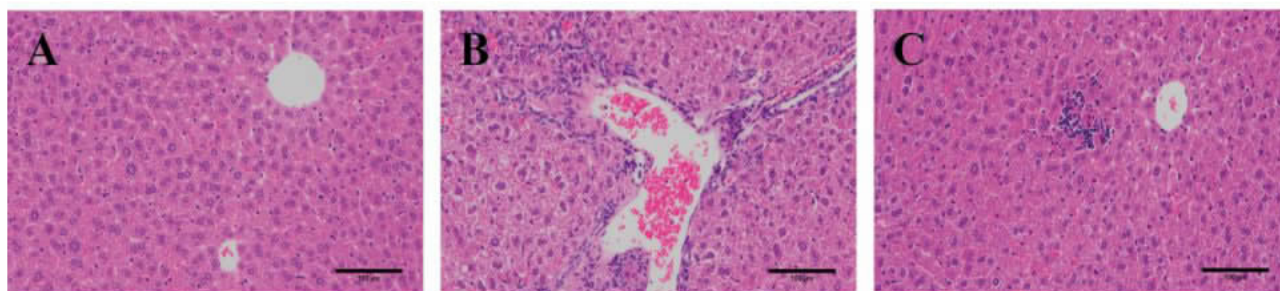
Table 2 Relative abundance of each phyla and Firmicutes / Bacteroidetes ratio of donor mice [ $n=6, (\bar{x} \pm s), \%$ ]

组别	厚壁菌门	拟杆菌门	变形菌门	厚壁菌门/拟杆菌门
正常对照组	35.72 ± 12.64	21.29 ± 5.17	14.73 ± 6.23	1.73 ± 0.66
酒精模型组	48.91 ± 7.71 <sup>a</sup>	18.00 ± 3.85	26.96 ± 6.75 <sup>a</sup>	2.90 ± 1.10 <sup>a</sup>
熊果酸干预组	37.40 ± 5.34 <sup>b</sup>	20.49 ± 1.67	20.25 ± 3.46	1.83 ± 0.27 <sup>b</sup>

注:与正常对照组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与酒精模型组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

2.4 FMT 受体小鼠肝组织病理学观察 如图 3 所示,在 FMT- 对照组小鼠中,肝脏组织可见肝细胞分布均匀,肝小叶界限清晰,结构相对完整;FMT- 模型

组肝小叶边界不清,结构模糊,可见明显的炎症细胞浸润;而 FMT- 熊果酸组肝索及肝小叶排列更加清晰,炎症细胞明显减少。



注:A 为 FMT- 对照组;B 为 FMT- 模型组;C 为 FMT- 熊果酸组。

图 3 FMT 受体小鼠肝组织病理结构(HE 染色, ×200)

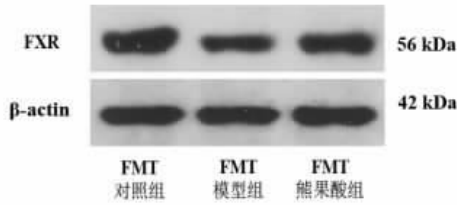
Figure 3 Liver histopathological structure of fecal microbiota transplantation recipient mice (HE, ×200)

2.5 FMT 受体小鼠血清 AST、ALT、TBA 的测定 由表 3 可知,与 FMT- 对照组比较,FMT- 模型组小鼠的血清 ALT 活性升高了 124.1%( $P < 0.05$ ),AST 活

性升高了 47.4%( $P < 0.05$ ),TBA 水平升高了 97.5%( $P < 0.05$ );FMT- 熊果酸组 ALT、AST 活性及 TBA 水平较 FMT- 模型组均显著降低( $P < 0.05$ ),较 FMT-

对照组差异不显著( $P>0.05$ )。

**2.6 FMT 受体小鼠肝 FXR 蛋白表达的检测** 如图 4 所示,相较于 FMT- 对照组,FMT- 模型组小鼠的肝 FXR 蛋白的表达水平明显降低,低至 FMT- 对照组的 17.8%( $P<0.05$ )。与 FMT- 模型组相比,FXR- 熊果酸组小鼠的肝脏 FXR 蛋白表达升高了 2.09 倍( $P<0.05$ )。



注:与 FMT- 对照组相比,\* $P<0.05$ ;与 FMT- 模型组相比,\* $P<0.05$ 。

图 4 粪菌移植受体小鼠肝组织 FXR 蛋白表达量 [ $n=3, (\bar{x} \pm s)$ ]

Figure 4 Expression levels of FXR protein in liver tissue of fecal microbiota transplantation recipient mice [ $n=3, (\bar{x} \pm s)$ ]

### 3 讨论

Lieber-DeCarli 模型是一种经典的构建 ALD 动物模型的方法,不仅可以满足动物日常营养需要,还具有酒精摄入量可控及实验动物应激反应小等优势,但该模型也存在其局限性,主要表现为仅能诱导脂肪变性及炎症反应等早期病变,难以复现更严重的肝损伤表型(如纤维化和肝硬化)<sup>[11]</sup>。本研究主要聚焦于酒精暴露对肝脏损伤早期的影响,因此选择该造模方式进行实验。本实验通过建立酒精性肝损伤小鼠模型,经熊果酸干预后,发现熊果酸可明显改善因酒精所致的肝脏损伤。

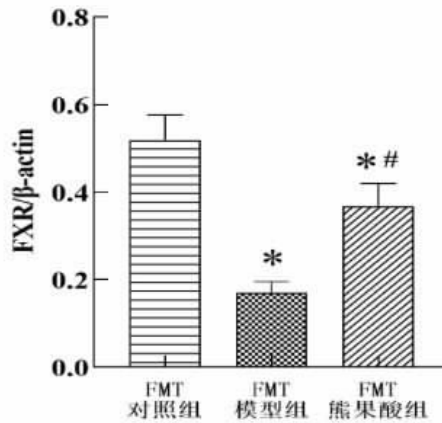
长期和 / 或过量的酒精摄入会破坏肠道菌群平衡,促进肝脏疾病的发展<sup>[12]</sup>。Smirnova 等<sup>[13]</sup>研究显示,酗酒者肠道菌群的多样性下降,厚壁菌门和变形菌门的比例升高,拟杆菌门的比例下降。其中厚壁菌门 / 拟杆菌门的比值是反映肠道菌群平稳的重要指标,其升高与脂肪堆积和代谢障碍相关<sup>[14]</sup>,而变形菌门过度增长会损害肠道黏膜屏障<sup>[15]</sup>。Addolorato 等<sup>[16]</sup>也发现饮酒人群拟杆菌门的相对丰度低于健康人群,而变形菌门富集。本次实验发现酒精诱导的小鼠肠道菌群的多样性降低,厚壁菌门和变形菌门丰度明显提升,厚壁菌门 / 拟杆菌门的比值升高,而熊果酸的干预减缓了这一趋势,表明熊果酸可纠正长期酒精摄入引起的肠道菌群紊乱。

表 3 FMT 受体小鼠血清 ALT、AST 及 TBA 的活性 [ $n=6, (\bar{x} \pm s)$ ]

Table 3 Serum activities of ALT, AST and TBA in fecal microbiota transplantation recipient mice [ $n=6, (\bar{x} \pm s)$ ]

组别	ALT(U/ml)	AST(U/ml)	TBA( $\mu$ mol/L)
FMT- 对照组	0.58 $\pm$ 0.16	1.94 $\pm$ 0.31	5.69 $\pm$ 1.37
FMT- 模型组	1.30 $\pm$ 0.26*	2.86 $\pm$ 0.53*	11.24 $\pm$ 1.47*
FMT- 熊果酸组	0.83 $\pm$ 0.22#	2.24 $\pm$ 0.20#	7.27 $\pm$ 1.28#

注:与 FMT- 对照组相比,\* $P<0.05$ ;与 FMT- 模型组相比,\* $P<0.05$ 。



为深入探究菌群紊乱对肝脏的影响及其潜在的作用机制,我们进行 FMT 实验。结果显示受体小鼠的肝脏病理学及肝功能指标出现与供体小鼠相似的变化,主要表现为 FMT- 模型组小鼠出现肝细胞水肿、炎性细胞浸润、血清 AST 和 ALT 活性增加的现象,而 FMT- 熊果酸组小鼠肝脏病理学及血清 AST、ALT 活性明显改善,提示熊果酸可通过改善肠道菌群,起到改善肝脏功能的作用。同时可见 FMT- 模型组小鼠血清 TBA 含量显著高于 FMT- 对照组,而 FMT- 熊果酸组较 FMT- 模型组显著下降,提示熊果酸对酒精性肝损伤小鼠胆汁酸的调控作用可能与肠道菌群有关。FMT 的应用仍面临诸多局限性,如供体选择、移植方式及粪菌制备过程均可影响 FMT 效果<sup>[17]</sup>,且供体间微生物组成差异也可能导致实验结果偏差。本研究将正常小鼠、ALD 模型小鼠及熊果酸干预组小鼠作为供体进行研究,证实了不同来源的菌群对受体小鼠产生了不同的影响。在移植方式上,本研究采用经口灌胃法进行 FMT,粪便采集后立即于厌氧条件下处理,以维持菌群活性,从而提高了移植的稳定性。此外,由于粪菌样本中包含复杂的微生物群落,目前难以明确何种菌属在 ALD 中发挥关键作用,未来可聚焦单一菌种移植深入研究。

FXR 是胆汁酸生物合成的关键调节因子,在肝、肠中高表达。肝脏中胆汁酸过量,可激活 FXR,抑制

胆汁酸合成酶 CYP7A1 的表达,从而减少胆汁酸的合成,维持胆汁酸稳态<sup>[8]</sup>。课题组前期已证实熊果酸能够上调因酒精摄入导致的 FXR 表达下降,改善胆汁酸稳态<sup>[7]</sup>。本次 FMT 实验中,FMT-熊果酸组小鼠肝 FXR 表达显著高于 FMT-模型组小鼠,证明了熊果酸对胆汁酸及其介导的 FXR 信号通路的调节作用与肠道菌群密切相关。

综上所述,适量的补充熊果酸能够有效改善酒精所致的小鼠肝脏损伤,纠正肠道菌群紊乱,从而起到保肝护肝的作用。通过 FMT 实验,再次验证了肠道菌群在 ALD 的发生发展中发挥作用,同时也发现了肠道菌群、胆汁酸代谢及肝 FXR 三者之间的紧密联系。故本研究为熊果酸防治 ALD 提供了新的靶标,但关于具体的调控机制还需进一步研究。

利益冲突声明 本研究不存在任何利益冲突

### 参考文献

- [1] Sarin SK, Kumar M, Eslam M, et al. Liver diseases in the Asia-Pacific region: a Lancet Gastroenterology & Hepatology Commission [J]. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, 2020, 5(2): 167-228.
- [2] Wang L, Zheng WY, Sun YY, et al. Fucoidan ameliorates alcohol-induced liver injury in mice through Parabacteroides distasonis-mediated regulation of the gut-liver axis [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 279(Pt 3): 135309.
- [3] Simbrunner B, Trauner M, Reiberger T. Review article: therapeutic aspects of bile acid signalling in the gut-liver axis [J]. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 2021, 54(10): 1243-1262.
- [4] Kong B, Zhang M, Huang MX, et al. FXR deficiency alters bile acid pool composition and exacerbates chronic alcohol induced liver injury[J]. *Digestive and Liver Disease*, 2019, 51(4): 570-576.
- [5] Luan MZ, Wang HY, Wang JZ, et al. Advances in Anti-inflammatory Activity, Mechanism and Therapeutic Application of Ursolic Acid[J]. *Mini - Reviews in Medicinal Chemistry*, 2022, 22(3): 422-436.
- [6] 马浩然,贾海莲,张文龙,等. 熊果酸对酒精性肝损伤大鼠肠道菌群的影响[J]. *食品科学*, 2018, 39(11): 146-151.  
Ma HR, Jia HL, Zhang WL, et al. Effect of ursolic acid on gut microbiota in rats with alcohol-induced liver injury[J]. *Food Science*, 2018, 39(11): 146-151.(In Chinese)
- [7] 孙悦,张文龙,李楠,等. 沙棘熊果酸对酒精性肝损伤大鼠肝 FXR 信号通路的影响 [J]. *食品工业科技*, 2023, 44(5): 363-370.  
Sun Y, Zhang WL, Li N, et al. Effect of ursolic acid extracted from

*Hippophae rhamnoides L.* on FXR signaling pathway in liver of rats with alcoholic liver injury [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(5): 363-370.(In Chinese)

- [8] Haifer C, Paramsothy S, Kaakoush NO, et al. Lyophilised oral faecal microbiota transplantation for ulcerative colitis (LOTUS): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, 2022, 7(2): 141-151.
- [9] Fernando H, Bhopale KK, Kondraganti SS, et al. Alcohol-Induced hepatic steatosis: a comparative study to identify possible indicator(s) of alcoholic fatty liver disease [J]. *Journal of Drug and Alcohol Research*, 2018, 7: 236040.
- [10] Li Y, Hou HQ, Wang XL, et al. Diammonium glycyrrhizinate ameliorates obesity through modulation of gut Microbiota-Conjugated BAs-FXR signaling [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12: 796590.
- [11] Guo FF, Zheng K, Benedé-Ubieto R, et al. The Lieber-DeCarli Diet-A flagship model for experimental alcoholic liver disease [J]. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 2018, 42(10): 1828-1840.
- [12] Kuo CH, Wu LL, Chen HP, et al. Direct effects of alcohol on gut-epithelial barrier: Unraveling the disruption of physical and chemical barrier of the gut-epithelial barrier that compromises the host-microbiota interface upon alcohol exposure [J]. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2024, 39(7): 1247-1255.
- [13] Smirnova E, Puri P, Muthiah MD, et al. Fecal microbiome distinguishes alcohol consumption from alcoholic hepatitis but does not discriminate disease severity [J]. *Hepatology*, 2020, 72(1): 271-286.
- [14] Magne F, Gotteland M, Gauthier L, et al. The firmicutes/bacteroidetes ratio: a relevant marker of gut dysbiosis in obese patients? [J]. *Nutrients*, 2020, 12(5): 1474.
- [15] Xiang HY, Liu ZY, Xiang HY, et al. Dynamics of the gut-liver axis in rats with varying fibrosis severity [J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2022, 18(8): 3390-3404.
- [16] Addolorato G, Ponziani FR, Dionisi T, et al. Gut microbiota compositional and functional fingerprint in patients with alcohol use disorder and alcohol-associated liver disease [J]. *Liver International*, 2020, 40(4): 878-888.
- [17] Wang XJ, Zhao D, Bi DX, et al. Fecal microbiota transplantation: transitioning from chaos and controversial realm to scientific precision era[J]. *Science Bulletin*, 2025, 70(6): 970-985.
- [18] Chiang JYL, Ferrell JM. Discovery of farnesoid X receptor and its role in bile acid metabolism [J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2022, 548: 111618.

收稿日期: 2025-01-07

(上接第 2073 页)

- [18] 郑建君. 政治参与、政治沟通对公共服务满意度影响机制的性别差异——基于 6159 份中国公民调查数据的实证分析[J]. *清华大学学报: 哲学社会科学版*, 2017, 32(5): 164-171.  
Zheng JJ. Political participation, political communication for public service Gender differences in the mechanism of satisfaction -- Empirical analysis based on 6 159 Chinese citizen survey data [J]. *Journal of Tsinghua University: Philosophy and Socia Sciences*,

2017, 32(5): 164-171.(In Chinese)

- [19] 尚彬,罗彩凤,吕妃,等. 社区慢性病共病老年患者心理困扰的潜在类别分析[J]. *中华护理杂志*, 2023, 58(22): 2768-2776.  
Shang B, Luo CF, Lv F, et al. Latent class analysis of psychological distress among older adults with multiple chronic conditions in communities [J]. *Chinese Journal of Nursing*, 2023, 58(22): 2768-2776.(In Chinese)

收稿日期: 2025-01-04