

降脂理肝汤对高脂饮食诱导的非酒精性脂肪肝大鼠肠道微生物及酶活性的影响*

唐标 肖新云 刘又嘉 姚天振 尹抗抗** 谭周进**

湖南中医药大学 长沙 410208

摘要 为了解降脂理肝汤对非酒精性脂肪肝病 (NAFLD) 大鼠肠道微生物及其酶活性的影响, 建立高脂饮食诱导的NAFLD大鼠模型, 以降脂理肝汤治疗4周后, 分析比较体重、肝重、肝指数、肠道菌群数和酶活。结果显示, 模型组大鼠体重、肝重和肝指数明显高于正常组 ($P < 0.01$), 肠道细菌总数、大肠杆菌和乳酸菌数量明显多于正常组 ($P < 0.05$), 肠道木聚糖酶、淀粉酶和蛋白酶活性高于正常组 ($P < 0.05$); 降脂理肝汤显著降低NAFLD大鼠体重、肝重和肝指数 ($P < 0.05$), 并且能抑制肠道细菌的生长, 抑制大肠杆菌和乳酸菌的生长 ($P < 0.05$), 使细菌总数和乳酸菌数量恢复至正常组水平 ($P > 0.05$)。此外, 降脂理肝汤还能抑制NAFLD大鼠肠道木聚糖酶、淀粉酶和蛋白酶活性 ($P < 0.05$), 使其恢复到正常组水平 ($P > 0.05$)。综上表明降脂理肝汤能调整NAFLD大鼠肠道菌群种群, 改善高脂饮食诱导的NAFLD, 结果可为该方的临床应用提供科学依据。(图3 表2 参18)

关键词 降脂理肝汤; 非酒精性脂肪肝; 肠道微生物; 肠道酶

CLC R285.5

Effects of Jiangzhiligan Decoction on intestinal microbiota and enzyme activities of rats with non-alcoholic fatty liver disease induced by high-fat diet*

TANG Biao, XIAO Xinyun, LIU Youjia, YAO Tianzhen, YIN Kangkang** & TAN Zhoujin**

Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

Abstract This research aimed to provide scientific basis for clinical use of Jiangzhiligan Decoction (JZLGT) by exploring its effect on intestinal microbiota and enzyme activities of rats with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). The NAFLD model was constructed with high-fat diet in rats, and then the modeled rats were treated with JZLGT for four weeks. The body weight, liver weight, liver index, intestinal microbiota and enzyme activities were determined. The results showed higher body weight, liver weight and liver index in the model group than in the normal group ($P < 0.01$); the quantities of intestinal bacteria, *Escherichia coli* and *Lactobacillus*, the activities of xylanase, protease and amylase were also higher in the model group than the normal group ($P < 0.05$). After treatment, rats in the JZLGT group had significantly lower body weight, liver weight and liver index than those of the model group ($P < 0.05$); the quantities of intestinal bacteria, *Escherichia coli* and *Lactobacillus*, as well as the activities of xylanase, protease and amylase of the JZLGT group were also significantly lower ($P < 0.05$). Comparison with the normal group showed that the quantities of intestinal bacteria and *Lactobacillus*, the activities of xylanase, protease and amylase in the JZLGT group recovered to the normal level ($P > 0.05$). The results suggested that JZLGT can inhibit intestinal bacterial overgrowth and relieve NAFLD induced by high fat diet.

Keywords Jiangzhiligan Decoction; nonalcoholic fatty liver disease; intestinal microorganisms; intestinal enzyme

非酒精性脂肪肝 (Nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是全球最常见的慢性肝脏疾病, 在我国是第二位常见肝病, 随着肥胖等相关代谢综合征全球化流行, NAFLD已经成为一个全球性的重要卫生问题, 并且其患病率还在逐年增加。NAFLD是以肝实质细胞脂肪变性和储存为特征的病理综合征, 包括单纯性脂肪肝以及由其演变的非酒精性脂肪肝炎、肝硬化和肝癌。

目前认为NAFLD是遗传-环境-代谢相关性疾病, 其发病机制最为成熟的是“二次打击学说”, 首先由胰岛素抵抗等因素引起的肝脏脂质代谢紊乱以及肝细胞脂肪沉积; 继而脂质的过氧化、氧化应激以及内毒素血症等诸多因素参与和诱导肝细胞变性和坏死等炎症反应, 并且进一步导致肝纤维化和硬化的发生^[2]。

人类肠道内寄生了大量微生物, 即肠道菌群, 肠道菌群组成和数量的改变影响宿主的能量代谢、免疫应答和炎症状态, 与肥胖和糖尿病等代谢性疾病有密切的关系。近期研究表明肠道菌群能够诱发能量代谢紊乱和胰岛素抵抗, 介导了NAFLD的发生发展过程^[3]。

收稿日期 Received: 2015-11-01 接受日期 Accepted: 2015-11-30

*国家自然科学基金项目 (81573951) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (81573951)

**通讯作者 Corresponding authors (E-mail: tanzhjin@sohu.com; njtangbiao@126.com)

降脂理肝汤为张云鹏教授的临床经验方,由泽泻、决明子、丹参、郁金、海藻、荷叶6味中药组成,临床研究表明其治疗NAFLD疗效确切^[4],但是其机制尚不明确,本研究探讨降脂理肝汤对非酒精性脂肪肝大鼠肠道微生物及其酶活性的影响,旨在阐明降脂理肝汤治疗非酒精性脂肪肝的肠道生态机理,为该方的临床应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SPF级雄性大鼠56只,体质量 $150\text{ g} \pm 10\text{ g}$,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,生产许可证号为SYXK(湘)2011-0003,合格证号为43004700002454。

1.1.2 药物 降脂理肝汤:泽泻10 g,决明子30 g,丹参10 g,郁金10 g,海藻30 g,荷叶10 g。药物的制备和剂量参照前期研究^[5],经鉴定后,由制剂室煎制成含生药为 0.92 g/mL 的浓缩液。

1.1.3 培养基 参考文献[6],牛肉膏蛋白胨琼脂培养基用于培养细菌;伊红美蓝琼脂培养基(EMB)用于培养大肠杆菌;乳酸菌琼脂培养基(MRS)用于培养乳酸菌;双歧杆菌选择性琼脂培养基(BBL)用于培养双歧杆菌。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 实验前大鼠先适应性饲养5 d,正常组(Normal diet group, ND) ($N = 12$)以普通饲料饲养,其余大鼠采用高脂饲料诱导NAFLD大鼠模型,饲养12周后,处死正常组和模型组大鼠各4只,取肝组织苏木精-伊红染色(HE染色),观察组织病理学变化,观察到模型组肝脏出现不同程度的脂肪变性和空泡样变,验证模型成功后,将造模组剩余20只大鼠随机分为模型组(High fat diet group, HFD)和降脂理肝汤组(Jiangzhiligan decoction group, JZLGT),每组10只,继续以高脂饮食喂养。

1.2.2 造模方法 参照前期研究^[5],采用高脂饲料饲养12周诱导NAFLD大鼠模型。高脂饲料配方:2%胆固醇,10%猪油,88%基础饲料。

1.2.3 给药方法和剂量 造模成功后,降脂理肝汤组按临床剂量等效灌胃给药,即 $4.6\text{ g kg}^{-1}\text{ d}^{-1}$,正常组和模型组给予等容积的生理盐水灌胃,持续4周。降脂理肝汤剂量为临床给药剂量的20倍。

1.2.4 实验动物一般状态观察 实验中大鼠的精神状况、毛发光泽度、活动情况、食量和大小便等。

1.2.5 体重和肝脏的变化 药物治疗结束后,大鼠称重,处死大鼠,摘取肝脏,生理盐水冲洗后滤纸吸干,称量肝脏质量。计算肝指数,公式如下:肝指数=肝重量(g)/大鼠体重(g) $\times 100\%$ 。

1.2.6 大鼠肠道内容物的提取 操作于超净工作台上进行,无菌操作采集各组大鼠空肠到回肠段的肠道内容物,混匀,备用。

1.2.7 肠道微生物数量的测定 参考文献[7-8],无菌操作称量一定量的肠道内容物放入装有玻璃珠的已灭菌的水瓶中,于摇床上120 r/min振摇30 min后,不同的微生物根据其可能的多少选择合适的稀释度,采用混菌法计数。乳酸菌、双歧杆菌于37℃厌氧培养箱中培养48 h后进行菌落计数,好氧

细菌、大肠杆菌于37℃培养箱中培养24 h后进计数,每一个稀释度重复3次,得到平均值并计算每克肠道内容物所含的菌数。

1.2.8 大鼠肠道酶活性的分析 参考文献[8],将无菌操作取出的肠道内容物用无菌水稀释后,于40℃水浴中孵育30 min,酶蛋白充分溶出后,2 000 r/min离心10 min,吸取上层清液,分别用于分析蛋白酶、木聚糖酶、纤维素酶、淀粉酶的活性。采用DNS比色法测定木聚糖酶活、纤维素酶活和淀粉酶活,木聚糖酶活以1 g肠道内容物于50℃作用30 min生成1 μg 还原糖定义为一个酶比活单位(U/g),纤维素酶活以1 g肠道内容物于50℃作用30 min生成1 μg 还原糖定义为一个酶比活单位(U/g),淀粉酶活以1 g肠道内容物于40℃作用30 min生成1 μg 还原糖定义为一个酶比活单位(U/g),采用福林-酚法测定蛋白酶活,以1 g肠道内容物于37℃作用30 min生成1 μg 氨基酸定义为一个酶比活单位(U/g)。

1.2.9 统计分析 用SPSS23.00软件处理数据,各组所得计量数据采用平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间均数比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 表示有显著性差异, $P < 0.01$ 表示有极显著性差异。

2 结果与分析

2.1 各组大鼠一般情况观察

正常组大鼠食欲正常,神志清楚,好动,毛色光洁,行动灵活,食量及大便正常;体重增加,未出现异常特征。与正常组大鼠比较,模型组大鼠和降脂理肝汤药物干预组大鼠神情萎靡,懒散不动,毛发油亮,有些大鼠出现背部毛发脱落,尾巴粗大,大便正常,食量各组之间无明显差别。

2.2 降脂理肝汤对NAFLD大鼠体质量、肝重和肝指数的影响

与正常组相比,高脂饮食喂养的模型组大鼠体重(图1)、肝重(图2)和肝指数(图3)极显著增加($P < 0.001$),降脂理肝汤干预后,药物组体重和肝重极显著降低($P < 0.01$),肝指数显著降低($P < 0.05$),但与正常组相比,药物组体重仍极显著增加($P < 0.01$),而肝重和肝指数无明显差异($P > 0.05$)。

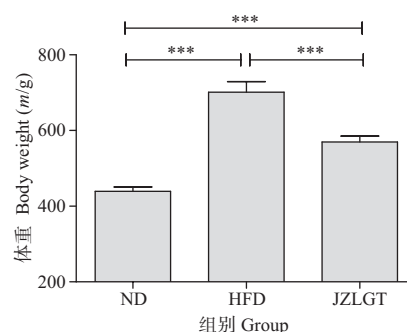


图1 降脂理肝汤对NAFLD大鼠体重的影响。ND: 正常饮食组; HFD: 高脂饮食模型组; JZLGT: 降脂理肝汤组。* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ 。竖条表示标准偏差($N = 8-10$)。

Fig. 1 Effect of Jiangzhiligan Decoction (JZLGT) on the body weight of NAFLD rats. ND: control group; HFD: model group; JZLGT: Jiangzhiligan Decoction group. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$. Bars indicate standard deviation ($N = 8-10$).

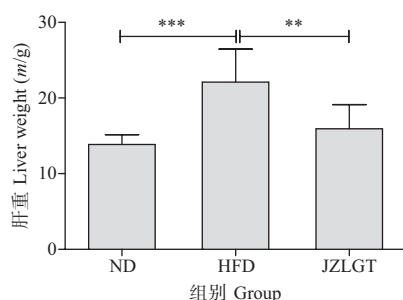


图2 降脂理肝汤对NAFLD大鼠肝重的影响。ND: 正常饮食组; HFD: 高脂饮食模型组; JZLGT: 降脂理肝汤组。 ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ 。竖条表示标准偏差 ($N = 8-10$)。

Fig. 2 Effect of Jiangzhiligan Decoction (JZLGT) on the liver weight of NAFLD rats. ND: control group; HFD: model group; JZLGT: Jiangzhiligan Decoction group. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$. Bars indicate standard deviation ($N = 8-10$).

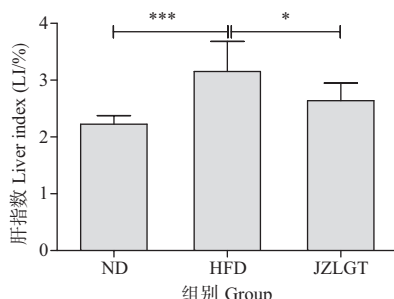


图3 降脂理肝汤对NAFLD大鼠肝指数的影响。ND: 正常饮食组; HFD: 高脂饮食模型组; JZLGT: 降脂理肝汤组。 ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ 。竖条表示标准偏差 ($N = 8-10$)。

Fig. 3 Effect of Jiangzhiligan Decoction (JZLGT) on the liver index of NAFLD rats. ND: control group; HFD: model group; JZLGT: Jiangzhiligan Decoction group. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$. Bars indicate standard deviation ($N = 8-10$).

2.3 降脂理肝汤对NAFLD大鼠肠道微生物的影响

大肠杆菌、双歧杆菌及乳酸菌在选择性培养基和培养条件下进行培养计数,由表1可见,和高脂饮食喂养的模型组细菌总数、大肠杆菌数、双歧杆菌数和乳酸菌数极显著增加 ($P < 0.01$),而降脂理肝汤干预后,药物组的细菌总数、大肠杆菌数、双歧杆菌数和乳酸菌数与模型组相比极显著降低 ($P < 0.01$),其中细菌总数、双歧杆菌数量和乳酸菌数量恢复到正常水平,与正常组相比无显著差异 ($P >$

表1 降脂理肝汤对NAFLD大鼠肠道微生物的影响 ($N = 6$)

Table 1 Effect of Jiangzhiligan Decoction on intestinal microbes in NAFLD rats ($N = 6$)

组别 Group	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i> ($n_{CFU}/10^7 g^{-1}$)	细菌 Bacteria ($n_{CFU}/10^8 g^{-1}$)	双歧杆菌 <i>Bifidobacteria</i> ($n_{CFU}/10^7 g^{-1}$)	乳酸菌 <i>Lactobacillus</i> ($n_{CFU}/10^7 g^{-1}$)
正常组 Normal diet group	6.00 ± 0.58	1.72 ± 27.54	2.80 ± 3.61	6.33 ± 1.53
模型组 High fat diet group	170.00 ± 12.01 ^a	4.56 ± 6.56 ^a	24.70 ± 56.86 ^a	15.7 ± 5.03 ^a
降脂理肝汤组 Jiangzhiligantang Decoction group	53.70 ± 6.67 ^{ab}	1.83 ± 16.00 ^b	2.07 ± 3.78 ^b	2.67 ± 0.58 ^b

a: $P < 0.01$ (和正常组比较); b: $P < 0.01$ (和模型组比较)。

a: $P < 0.01$ compared with the control group; b: $P < 0.01$ compared with the model group.

0.05),而大肠杆菌数仍显著高于正常组 ($P < 0.01$)。这表明降脂理肝汤能抑制肠道细菌的过度生长,尤其是抑制有害细菌大肠杆菌的生长,调控肠道生态平衡。

2.4 降脂理肝汤对NAFLD大鼠肠道酶活性的影响

由表2可以看出,模型组大鼠肠道木聚糖酶、淀粉酶和蛋白酶活性比正常组高,差异显著 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),而纤维素酶活性无显著差异 ($P > 0.05$),降脂理肝汤治疗后,药物组大鼠肠道木聚糖酶、淀粉酶和蛋白酶活性相对于模型组显著降低 ($P < 0.01$),并且恢复到正常水平,与正常组比较无显著性差异 ($P > 0.05$),这表明降脂理肝汤能抑制NAFLD大鼠肠道酶活性,使其恢复到正常水平。

表2 降脂理肝汤对NAFLD大鼠肠道酶活性的影响 ($N = 6$)

Table 2 Effect of Jiangzhiligan Decoction on intestinal enzymes activities in NAFLD rats ($N = 6$)

组别 Group	木聚糖酶 Xylase ($\lambda/U g^{-1}$)	纤维素酶 Cellulase ($\lambda/U g^{-1}$)	淀粉酶 Amylase ($\lambda/U g^{-1}$)	蛋白酶 Protease ($\lambda/U g^{-1}$)
正常组 Normal diet group	0.018 ± 0.005	0.007 ± 0.002	0.048 ± 0.010	0.287 ± 0.007
模型组 High fat diet group	0.037 ± 0.003 ^a	0.003 ± 0.002	0.091 ± 0.041 ^a	0.350 ± 0.034 ^A
降脂理肝汤组 Jiangzhiligantang Decoction group	0.015 ± 0.005 ^b	0.005 ± 0.004	0.037 ± 0.005 ^b	0.256 ± 0.043 ^b

a: $P < 0.01$; A: $P < 0.05$ (和正常组比较)。 b: $P < 0.01$; B: $P < 0.05$ (和模型组比较)。

a: $P < 0.01$ compared with the control group; b: $P < 0.01$ compared with the model group.

3 讨论

在中医学中NAFLD归于“痰证”、“痞证”、“胁痛”等范畴,常见病理表现有痰瘀互阻、脂浊积聚、肝络不和。降脂理肝法化痰清源,以降脂理浊;活血化痰,以疏理肝络。降脂理肝汤由泽泻、丹参、郁金、决明子、海藻、荷叶组成,方中泽泻降脂理肝,海藻化痰活血,荷叶升清降浊,丹参、郁金活血通络,疏肝经之瘀,行肝中之结,共奏气行郁解、痰化浊降、血活瘀消之功;临床观察表明,降脂理肝汤具有护肝、调脂和减肥作用^[4]。在本研究中,通过体重、肝重以及肝指数的观察,明确了降脂理肝汤对非酒精性脂肪肝大鼠的治疗作用,结果显示降脂理肝汤能降低NAFLD大鼠体重和肝重以及肝指数,使肝重和肝指数恢复到正常水平。

近年来肠道菌群与宿主的相互作用吸引了越来越多的关注,研究表明,肠道菌群与宿主的消化、代谢和免疫密切相关,肠道菌群作为一种环境因素介导了宿主脂肪存储的调控,是肥胖发生的重要条件^[9],而且饮食诱导肠道菌群的变化,增加病菌的数量,破坏肠粘膜屏障,导致肠通透性增加,使得血液中内毒素水平升高,引起慢性炎症,继而产生肥胖、胰岛素抵抗等代谢失调^[10]。这些研究表明肠道菌群除了可以影响宿主脂肪的代谢和储存,并且在宿主慢性炎症中起着重要的中介作用,是膳食结构变化和人体遗传体重的相互作用下导致肥胖等代谢性疾病发生的重要环节。

NAFLD的发病与遗传基因、饮食环境和生活方式等因素密切相关,而近来的研究揭示肠道菌群在NAFLD的发生和进展中起到了重要作用。一方面,肠道菌群可以调节宿主

的代谢,此外,肠道菌群产生的细菌内毒素也是NAFLD致病的一个重要因素。脂多糖作为革兰氏阴性菌细胞壁的组成成分,进入血液后可以引发机体的炎症反应,加重NAFLD的病情^[11]。在临床研究发现,多数NAFLD患者都有肠道细菌过度增生,而细菌的过度生长改变紧密连接,增加患者肠道通透性,促进脂多糖进入血液引发炎症反应^[12]。另外细菌的一些代谢过程也介导了NAFLD的发生发展过程:细菌发酵过程中产生的乙醇,导致NAFLD的发生;细菌代谢时消耗宿主可利用的胆碱,加重NAFLD的发展^[13]。这些研究表明肠道细菌的过度生长或某些菌群种类和数量的改变以及肠粘膜通透性的增加诱导胰岛素抵抗、诱发肝脏炎症反应,启动纤维化过程,在NAFLD的发生发展中也起到了重要作用。已有很多研究表明益生菌在改善NAFLD方面有效,已被视为一种治疗NAFLD的新方式^[14-15]。鉴于多数中药是口服制剂,会直接进入肠道与菌群发生作用,有研究推测这些中药具有调节肠道微生态的作用。

在本研究中发现,高脂饮食诱导的NAFLD大鼠,肠道细菌数量显著增加,这表明高脂饮食能诱导肠道细菌过度生长,并且已有研究报道肠道细菌过度生长NASH的发生呈正相关^[3],而降脂理肝汤干预后,细菌数量减少,恢复到正常水平。并且在细菌增加的种类中,大肠杆菌的数量增加极为显著,许多研究表明高脂饮食会改变肠道菌群结构,革兰氏阴性细菌增加,而大肠杆菌是革兰氏阴性细菌的优势菌群,其数量增加会引起肠道内的内毒素增加^[16],而降脂理肝汤干预后,大肠杆菌数量显著降低,并且肠道酶活性显著降低,这表明降脂理肝汤可能通过抑制细菌过度生长,尤其是抑制大肠杆菌的过度生长,调节肠道菌落平衡,降低内毒素水平来治疗NAFLD。另外有研究报道,高脂饮食能增加肠道乳酸菌的数量,肠道乳酸菌是胆汁酸抵抗型细菌,能导致胆汁酸早期解离,因胆汁酸是调节肝脏脂质代谢的重要因素,并且胆汁酸能抑制小肠细菌过度生长和细菌位移^[17],因此高脂饮食诱导的乳酸菌过度生长在NAFLD中起到了重要作用,而我们的研究发现降脂理肝汤能抑制高脂饮食诱导的乳酸菌过度生长,这提示降脂理肝汤能通过抑制乳酸菌生长干预非酒精性脂肪肝。此外双歧杆菌是人和动物肠道内重要的益生菌,有抑菌、促进脂类代谢、抗肿瘤和抗衰老等多项生理功能^[18],我们发现高脂饲养的大鼠肠道内的双歧杆菌数量显著增加,这可能与NAFLD大鼠脂代谢增加和细菌过度生长有关,尤其是有害细菌的过度生长代偿性引起双歧杆菌数量增加,而降脂理肝汤干预后能改善脂代谢和抑制肠道细菌的过度生长,从而使双歧杆菌数量恢复到正常。

本研究的结果表明降脂理肝汤能抑制NAFLD肠道细菌的过度生长,降低肠道酶活性可能是降脂理肝汤干预非酒精性脂肪肝的机制之一。

参考文献 [References]

- Williams CD, Stengel J, Asike MI, Torres DM, Shaw J, Contreras M, Landt CL, Harrison SA. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study [J]. *Gastroenterology*, 2011, **140**: 124-131
- Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits" [J]. *Gastroenterology*, 1998, **114**: 842-845
- Chassaing B, Etienne-Mesmin L, Gewirtz AT. Microbiota-liver axis in hepatic disease [J]. *Hepatology*, 2014, **59**: 328-339
- 吴娅妮,周佩娟,陈铁,陈钦成,张云鹏. 降脂理肝汤治疗非酒精性脂肪肝临床疗效分析[J]. 辽宁中医药大学学报, 2014, **16**: 19-21 [WuYN, Zhou PJ, Chen T, Chen YC, Zhang YP. Analysis on clinical efficacy of lipid-lowering decoction in non-alcoholic fatty liver [J]. *J Liaoning Univ TCM*, 2014, **16**: 19-21]
- 冯梦君,谢佳楠,张怡歆,谭周进,唐标. 降脂理肝汤对非酒精性脂肪肝大鼠肝组织病理的影响[J]. 世界华人消化杂志, **23** (16): 2532-2538 [Feng MJ, Xie JN, Zhang YX, Tan ZJ, TANG B. Influence of lipid-lowering decoction on hepatic morphology and pathological changes in rats with nonalcoholic fatty liver disease [J]. *World Chin J Digestol*, **23** (16): 2532-2538]
- 赵斌,何绍江. 微生物学实验[M]. 北京: 科学出版社, 2002 [Zhao B, He SJ. Microbiology [M]. Beijing: Science Press, 2002]
- 郭抗萧,谭周进,谢梦洲,余颜,王学红. 超微七味白术散与酵母菌协同治疗小鼠菌群失调腹泻[J]. 应用与环境生物学报, 2015, **21** (1): 61-67 [Guo KX, Tan ZJ, Xie MZ, She Y, Wang XH. The synergic effect of ultra-micro powder Qiweibaizhusan combined with yeast on dysbacteriotic diarrhea mice [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2015, **21** (1): 61-67]
- 谭周进,吴海,刘富林,蔡莹,蔡光先,张华玲,曾奥. 超微七味白术散对肠道微生物及酶活性的影响[J]. 生态学报, 2012, **32** (21): 6856-6863 [Tan ZJ, Wu H, Liu FL, Cai Y, Cai GX, Zhang HL, Zeng A. Effect of ultra-micro powder Qiweibaizhusan on the intestinal microbiota and enzyme activities in mice [J]. *Acta Ecol Sin*, 2012, **32** (21): 6856-6863]
- Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity [J]. *Nature*, 2006, **444** (7122): 1022-1023
- Santacruz A, Marcos A, Wärnberg J, Martí A. Interplay between weight loss and gut microbiota composition in overweight adolescents [J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2009, **17** (10): 1906-1915
- Miele L, Valenza V, La Torre G, Montalto M, Cammarota G, Ricci R, Mascianà R, Forgione A, Gabrieli ML, Perotti G, Vecchio FM, Rapaccini G, Gasbarrini G, Day CP, Grieco A. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Hepatology*, 2009, **49** (6): 1877-1887
- Seki E, Schnabl B. Role of innate immunity and the microbiota in liver fibrosis: crosstalk between the liver and gut [J]. *J Physiol*, 2012, **590** (Pt 3): 447-458
- Chassaing B, Etienne-Mesmin L, Gewirtz AT. Microbiota-liver axis in hepatic disease [J]. *Hepatology*, 2014, **59** (1): 328-339
- Ma X, Hua J, Li Z. Probiotics improve high fat diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance by increasing hepatic NKT cells [J]. *J Hepatol*, 2008, **49** (5): 821-830
- Velayudham A, Dolganiuc A, Ellis M, Petrasek J, Kodys K, Mandrekar P, Szabo GV. VSL#3 probiotic treatment attenuates fibrosis without changes in steatohepatitis in a diet-induced nonalcoholic steatohepatitis model in mice [J]. *Hepatology*, 2009, **49** (3): 989-997
- Murphy EF, Cotter PD, Healy S, Marques TM, O'Sullivan O, Fouhy F, Clarke SF, O'Toole PW, Quigley EM, Stanton C, Ross PR, O'Doherty RM, Shanahan F. Composition and energy harvesting capacity of the gut microbiota: relationship to diet, obesity and time in mouse models [J]. *Gut*, 2010, **59** (12): 1635-1642
- Zeng H, Liu J, Jackson MI, Zhao FQ, Yan L, Combs GF Jr. Fatty liver accompanies an increase in lactobacillus species in the hind gut of C57BL/6 mice fed a high-fat diet [J]. *J Nutr*, 2013, **143** (5): 627-631
- Reuter G. The Lactobacillus and Bifidobacterium microflora of the human intestine: composition and succession [J]. *Curr Issues Intest Microbiol*, 2001 (2): 43-53