

分类号:  
学 号: 20232013002

密 级:  
单位代码: 10759

# 石河子大学

## 硕 士 学 位 论 文



### 猪源丁酸梭菌的分离筛选及其 改善肌内脂肪沉积的研究

学 位 申 请 人	刘浩域
指 导 教 师	马曦 教授 聂存喜 教授
申请学位门类级别	农学硕士
学 科 、 专 业 名 称	畜牧学
研 究 方 向	动物营养与饲料科学
所 在 学 院	动物科技学院

中国·新疆·石河子  
2026年5月

分类号:  
学号: 20232013002

密级:  
单位代码: 10759

# 石河子大学

## 硕士学位论文



### 猪源丁酸梭菌的分离筛选及其 改善肌内脂肪沉积的研究

学位申请人	刘浩域
指导教师	马曦 教授 聂存喜 教授
申请学位门类级别	农学硕士
学科、专业名称	畜牧学
研究方向	动物营养与饲料科学
所在学院	动物科技学院

中国·新疆·石河子  
2026年5月

**Isolation and screening of porcine-derived *Clostridium butyricum* and  
its effect on improving intramuscular fat deposition**

A Dissertation Submitted to

**Shihezi University**

In Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of

**Master of Agriculture**

By Haoyu Liu

**(Animal Nutrition and Feed Science)**

Dissertation Supervisor:  
**Prof. Xi Ma and Prof. Cunxi Nie**

May, 2026  
Shihezi, Xinjiang, China

# 石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

## 学位论文独创性声明

本人所提交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：刘浩域

时间：2026年5月22日

## 使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：刘浩域

时间：2026年5月22日

导师签名：



时间：2026年5月22日

## 摘要

### 目的:

肌内脂肪 (IMF) 含量是影响猪肉品质的关键因素, 肠道微生物及其代谢产物可能参与宿主肌肉脂质代谢调控。我国的优质地方猪种 IMF 沉积能力显著优于杜×长×大 (DLY) 三元杂交商品猪, 本研究通过比较肌内脂肪沉积存在差异的地方猪与三元猪的 IMF 沉积特性及肠道菌群组成, 从 IMF 沉积含量高的地方猪肠道内容物中分离候选菌株丁酸梭菌 (*Clostridium butyricum*), 进一步在小鼠模型中初步评价其对 IMF 沉积及肠道炎症状态下脂质代谢的调控作用, 以为后续猪 IMF 调控研究提供候选菌株和实验依据。

### 方法:

(1) 不同肌内脂肪沉积特性猪的肠道菌群差异分析及丁酸梭菌的分离鉴定。以 IMF 沉积能力高的地方猪和 DLY 猪为研究对象, 测定其 IMF 含量、血清甘油三酯 (TG) 水平和脂肪代谢的关键基因 mRNA 表达水平, 比较两个品种间 IMF 沉积差异。结合 16S rRNA 高通量测序分析特征差异菌群, 筛选两品种间的特征差异菌属, 并以此作为分离目标, 进行菌株的分离、鉴定, 同时测定其生长性能和耐受性。

(2) 丁酸梭菌对健康小鼠肌内脂肪沉积的调控作用。以健康 BALB/c 小鼠为试验对象, 连续 6 周分别灌胃生理盐水及高、中、低三个剂量的丁酸梭菌菌液 ( $1 \times 10^9$ 、 $1 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^7$  CFU/mL), 评估小鼠生长性能, 检测脂肪代谢基因表达量、TG 及 IMF 含量等指标, 初步确定适宜干预剂量。

(3) 丁酸梭菌对肠道炎症小鼠肌内脂肪沉积的调控作用。体外试验, 利用丁酸梭菌菌悬液、菌体、上清分别与 IPEC-J2 细胞共孵育评估其抗炎潜力。体内试验, 构建葡聚糖硫酸钠 (DSS) 诱导的肠炎小鼠模型, 分为对照组 (CK)、肠炎模型组 (DSS) 和丁酸梭菌干预组 (*C. butyricum* + DSS), 检测小鼠生长性能、肠道炎症缓解情况、TG 含量、肌纤维油红 O 染色及脂肪代谢关键基因表达量, 结合血清非靶向代谢组学分析, 探究其可能参与的脂肪代谢调控途径。

### 结果:

(1) 地方猪的 TG、IMF 含量及脂肪合成摄取相关基因 (*FASN*、*CD36*) 表达量均显著高于 DLY 猪 ( $P < 0.05$ ), 油红 O 染色显示其肌肉内脂滴分布更密集。梭菌属 (*Clostridium sensu stricto\_1*) 是地方猪肠道中特征特征差异菌群, 以此为目标, 从地方猪肠道内容物中成功分离获得一株丁酸梭菌 ML5358。该菌株生长性能良好, 培养 18 h 活菌数达  $1 \times 10^8$  CFU/mL, 最低 pH 约 4.0, 具有较强耐酸性。

(2) 健康小鼠灌胃结果显示, 低、中剂量组 ( $1 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^8$  CFU/mL) 可观察到显著促进小鼠体重增长 ( $P < 0.05$ ), 而高剂量组 ( $1 \times 10^9$  CFU/mL) 未表现出促生长优势, 反而引起脾脏指数显

著升高 ( $P < 0.05$ )。脂肪代谢方面, 中、高剂量干预显著上调脂肪合成摄取相关基因 (*Fabp4*) 的 mRNA 水平, 下调脂肪分解氧化相关基因 (*Ppara*、*Cpt1b*) 的 mRNA 水平 ( $P < 0.05$ ), 同时升高 TG 和 IMF 含量, 提示该菌株具有促进 IMF 沉积的潜力。综合考虑调控效果与安全性, 后续研究选择中剂量 ( $1 \times 10^8$  CFU/mL) 为适宜干预浓度。

(3) 体外试验表明, 丁酸梭菌上清液与菌悬液可显著降低 IPEC-J2 细胞中 *TNF- $\alpha$*  和 *IL-6* 的 mRNA 水平 ( $P < 0.05$ ), 菌体处理组无显著差异。体内试验显示, 该菌株可显著降低肠炎小鼠促炎因子 (*TNF- $\alpha$* 、*IL-6*) mRNA 水平 ( $P < 0.05$ ), 上调紧密连接蛋白 (*Zo-1*、*Occludin*) 的 mRNA 水平, 改善肠道屏障功能。同时, 丁酸梭菌干预可以富集脂质代谢、芳香族氨基酸代谢等通路, 上调脂肪合成基因 (*Srebf1*、*Acc1*、*Fabp4*) ( $P < 0.05$ ) 和下调脂肪分解基因 (*Cpt1b*) mRNA 水平, 最终增加小鼠肌肉 TG 含量 ( $P < 0.05$ ) 和改善肌纤维内脂滴分布。

#### 结论:

地方猪比 DLY 猪具有更高的 IMF 沉积能力, 梭菌属 (*Clostridium sensu stricto\_1*) 是地方猪肠道中的特征差异菌群。据此, 从地方猪肠道成功分离获得一株生长优良、耐受性良好的丁酸梭菌。初步研究结果提示, 该菌株能够通过调控脂肪代谢相关基因影响健康小鼠的 IMF 沉积, 并确定  $1 \times 10^8$  CFU/mL 为适宜的干预剂量。同时, 该菌株表现出抗炎活性, 可能通过调节脂质代谢及芳香族氨基酸代谢通路, 在肠道炎症状态下参与调控 IMF 沉积与肌肉脂肪代谢。本研究为后续在猪体内验证其改善 IMF 沉积作用提供候选菌株和初步依据。

**关键词:** 肌内脂肪; 肠道菌群; 丁酸梭菌; 小鼠; 脂质代谢

## Abstract

### Objective:

Intramuscular fat (IMF) content is a key determinant of pork quality, and gut microbiota along with their metabolites may play a role in regulating lipid metabolism in host muscle. Indigenous Chinese pig breeds exhibit significantly superior IMF deposition capacity compared to Duroc × Landrace × Yorkshire (DLY) crossbred commercial pigs. In this study, by comparing IMF deposition characteristics and gut microbiota composition between indigenous pigs and crossbred pigs with differential intramuscular fat accumulation, a candidate strain, *Clostridium butyricum*, was isolated from the intestinal contents of indigenous pigs exhibiting high IMF content. Furthermore, its regulatory effects on IMF deposition and lipid metabolism under intestinal inflammatory conditions were preliminarily evaluated in a mouse model, aiming to provide a candidate bacterial strain and experimental basis for future studies on IMF regulation in pigs.

### Methods:

(1) Analysis of gut microbiota differences in pigs with distinct IMF deposition characteristics and isolation and identification of *C. butyricum*. Indigenous pigs and DLY pigs were used as subjects. IMF content, serum triglyceride (TG) level, and mRNA expression levels of key genes involved in lipid metabolism were measured to compare inter-breed differences in IMF deposition. 16S rRNA high-throughput sequencing was performed to analyze differential gut microbiota and to screen for differential genera between the two breeds. These genera were then targeted for bacterial isolation and identification, followed by assessment of growth performance and tolerance.

(2) Regulatory effect of *C. butyricum* on IMF deposition in healthy mice. Healthy BALB/c mice were orally gavaged with either normal saline or *C. butyricum* suspension at three doses ( $1 \times 10^9$ ,  $1 \times 10^8$ , and  $1 \times 10^7$  CFU/mL) for 6 weeks. Growth performance was evaluated, and indices including lipid metabolism gene expression, TG content, and IMF content were measured to preliminarily determine the appropriate intervention dose.

(3) Regulatory effect of *C. butyricum* on IMF deposition in mice with intestinal inflammation. *In vitro*, the anti-inflammatory potential of *C. butyricum* was assessed by co-incubating IPEC-J2 cells with bacterial suspension, cell pellets, or supernatant. *In vivo*, a mouse model of colitis was induced using dextran sulfate sodium (DSS). Mice were assigned to control group (CK), intestinal inflammation model group (DSS), and *C. butyricum* intervention group (*C. butyricum* + DSS). Growth performance and intestinal inflammation remission were assessed; TG content, Oil Red O staining of muscle fibers, and expression levels of key lipid metabolism genes were examined. These analyses were combined with serum untargeted metabolomics to

investigate the possible metabolic pathways through which *C. butyricum* may regulate lipid metabolism.

#### Results:

(1) Indigenous pigs exhibited significantly higher TG content, IMF content, and mRNA expression levels of lipogenesis and uptake-related genes (*FASN* and *CD36*) than DLY pigs ( $P < 0.05$ ). Oil Red O staining revealed a denser distribution of intramuscular lipid droplets in indigenous pigs. *Clostridium sensu stricto\_1* was identified as a differential genus in the gut microbiota of indigenous pigs. Targeted isolation from indigenous pig gut contents yielded a strain of *C. butyricum* designated ML5358, which showed favorable growth performance, reaching  $1 \times 10^8$  CFU/mL at 18 h of culture, with a minimum pH of approximately 4.0, indicating strong acid tolerance.

(2) Gavage results in healthy mice showed that the low- and medium-dose groups ( $1 \times 10^7$  and  $1 \times 10^8$  CFU/mL) exhibited significantly increased body weight gain ( $P < 0.05$ ), whereas the high-dose group ( $1 \times 10^9$  CFU/mL) did not show a growth-promoting advantage but instead displayed a significantly elevated spleen index ( $P < 0.05$ ). Regarding lipid metabolism, medium- and high-dose interventions significantly upregulated the mRNA level of the lipogenesis and uptake-related gene *Fabp4*, downregulated mRNA levels of lipolysis and oxidation-related genes (*Ppara* and *Cpt1b*) ( $P < 0.05$ ), and concurrently increased TG and IMF content, suggesting that this strain has the potential to promote IMF deposition. Considering both regulatory efficacy and safety, the medium dose ( $1 \times 10^8$  CFU/mL) was selected as the appropriate intervention dose for subsequent studies.

(3) *In vitro*, both *C. butyricum* supernatant and bacterial suspension significantly reduced mRNA levels of *TNF- $\alpha$*  and *IL-6* in IPEC-J2 cells ( $P < 0.05$ ), whereas the cell pellet showed no significant effect. *In vivo*, *C. butyricum* intervention significantly decreased mRNA levels of pro-inflammatory cytokines (*TNF- $\alpha$*  and *IL-6*) ( $P < 0.05$ ), upregulated mRNA levels of tight junction proteins (*Zo-1* and *Occludin*), and improved intestinal barrier function in colitic mice. Furthermore, *C. butyricum* intervention enriched pathways related to lipid metabolism and aromatic amino acid metabolism, upregulated mRNA levels of lipogenesis-related genes (*Srebf1*, *Acc1*, *Fabp4*) ( $P < 0.05$ ), downregulated the lipolysis-related gene (*Cpt1b*), and ultimately increased muscle TG content ( $P < 0.05$ ) and improved intramuscular lipid droplet distribution.

#### Conclusion:

Indigenous pigs possess a greater capacity for IMF deposition than DLY pigs, and *Clostridium sensu stricto\_1* is a characteristic gut microbiota genus indigenous pigs. Based on this finding, a *C. butyricum* strain with favorable growth and tolerance was successfully isolated from the gut of indigenous pigs. Preliminary findings suggest that this strain affects IMF deposition in healthy mice by modulating lipid metabolism-related genes, and  $1 \times 10^8$  CFU/mL was identified as an appropriate intervention dose. Moreover, this strain exhibits anti-inflammatory activity and may participate in regulating IMF deposition and muscle lipid metabolism under intestinal inflammatory conditions, potentially through the modulation of lipid metabolism

and aromatic amino acid metabolic pathways. This study provides candidate strains and preliminary evidence for subsequent *in vivo* validation of their role in improving IMF deposition in pigs.

**Key words:** Intramuscular fat; Gut microbiota; *Clostridium butyricum*; Mouse; Lipid metabolism

# 目录

摘要.....	I
<b>Abstract.....</b>	<b>III</b>
第 1 章 绪论.....	1
1.1 研究目的与意义.....	1
1.2 国内外研究现状.....	2
1.2.1 肌内脂肪的定义及形成机制.....	2
1.2.2 肠道微生物及其代谢产物对肌内脂肪沉积的调控作用.....	4
1.2.3 肠道屏障功能和炎症信号对肌内脂肪沉积的调控作用.....	6
1.2.4 丁酸梭菌的研究进展.....	7
1.3 研究内容.....	8
1.4 技术路线.....	9
第 2 章 不同肌内脂肪沉积特性猪的肠道菌群差异分析及丁酸梭菌的分离鉴定.....	10
2.1 材料与方法.....	10
2.1.1 主要试剂.....	10
2.1.2 仪器设备.....	11
2.1.3 试验方法.....	11
2.1.4 数据统计与分析.....	16
2.2 结果与分析.....	16
2.2.1 不同品种猪肌内脂肪沉积特性的比较.....	16
2.2.2 不同品种猪肠道菌群结构差异及特征差异菌属的筛选.....	18
2.2.3 丁酸梭菌的分离鉴定与生长特性及其体外耐受性.....	21
2.3 讨论.....	23
2.4 本章小结.....	25
第 3 章 丁酸梭菌对健康小鼠肌内脂肪沉积的调控作用.....	26
3.1 材料与方法.....	26
3.1.1 主要试剂.....	26
3.1.2 仪器设备.....	26
3.1.3 试验方法.....	27
3.1.4 数据统计与分析.....	28
3.2 结果与分析.....	29

3.2.1 丁酸梭菌对小鼠体重和器官指数的影响 .....	29
3.2.2 丁酸梭菌对小鼠肌肉脂肪沉积和脂肪代谢相关基因表达的影响 .....	30
3.2.3 丁酸梭菌对小鼠肌肉组织油红 O 染色的影响 .....	31
3.3 讨论 .....	31
3.4 本章小结 .....	32
第 4 章 丁酸梭菌对肠道炎症小鼠肌肉脂肪沉积的调控作用 .....	33
4.1 材料与方法 .....	33
4.1.1 细胞系 .....	33
4.1.2 主要试剂 .....	33
4.1.3 仪器设备 .....	34
4.1.4 试验方法 .....	34
4.1.5 数据统计与分析 .....	38
4.2 结果与分析 .....	38
4.2.1 丁酸梭菌对 IPEC-J2 细胞炎症水平的影响 .....	38
4.2.2 丁酸梭菌对小鼠肠道炎症的影响 .....	39
4.2.3 丁酸梭菌对肠道炎症小鼠肌肉脂肪沉积和脂肪代谢相关基因表达的影响 .....	40
4.2.4 血清代谢组学分析 .....	42
4.3 讨论 .....	46
4.4 本章小结 .....	47
第 5 章 结论 .....	48
第 6 章 创新点与不足 .....	49
6.1 本研究的创新点 .....	49
6.2 本研究的不足之处 .....	49
参考文献 .....	50
致谢 .....	60
作者简介 .....	61

缩略词表 (Abbreviation)

英文缩写	英文全称	中文名称
AMPK	5'-AMP-activated protein kinase	腺苷 5'-单磷酸活化蛋白激酶
ATGL	Adipose triglyceride lipase	脂肪甘油三酯脂酶
BAs	Bile acids	胆汁酸
BCAAs	Branched-chain amino acids	支链氨基酸
CD36	Cluster of differentiation 36	分化簇 36
C/EBP $\alpha$	CCAAT/enhancer-binding protein $\alpha$	CCAAT/增强子结合蛋白 $\alpha$
CPT1b	Carnitine palmitoyltransferase 1b	肉碱棕榈酰转移酶 1b
DLY	Duroc $\times$ Landrace $\times$ Yorkshire Pig	杜长大 (杜洛克 $\times$ 长白 $\times$ 约克夏猪)
DSS	Dextran sulfate sodium	葡聚糖硫酸钠
FABP4	Fatty acid binding protein 4	脂肪酸结合蛋白 4
FASN	Fatty acid synthase	脂肪酸合成酶
FMT	Fecal microbiota transplantation	粪便微生物移植
GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	甘油醛-3-磷酸脱氢酶
GAS	Gastrocnemius	腓肠肌
GIP	Glucose-dependent insulintropic polypeptide	葡萄糖依赖性促胰岛素多肽
GSS	Guangdong Small-ear Spotted Pig	广东小耳花猪
HSL	Hormone-sensitive lipase	激素敏感脂肪酶
IL-6	Interleukin-6	白细胞介素-6
IL-1 $\beta$	Interleukin-1 $\beta$	白细胞介素-1 $\beta$
IL-1 $\alpha$	Interleukin-1 $\alpha$	白细胞介素-1 $\alpha$
IMF	Intramuscular fat	肌肉脂肪
LD	Longissimus dorsi	背最长肌
LDA	Linear discriminant analysis	线性判别分析

## 缩略词表 (Abbreviation)

英文缩写	英文全称	中文名称
LEfSe	Linear discriminant analysis Effect Size	线性判别分析效应大小
LPL	Lipoprotein lipase	脂蛋白脂肪酶
mTOR	Mechanistic target of rapamycin	哺乳动物雷帕霉素靶蛋白
MSTN	Myostatin	肌肉生长抑制素
NF- $\kappa$ B	Nuclear factor kappa-B	核因子 $\kappa$ B
NMDS	Non-metric multidimensional scaling	非度量多维尺度分析
OCT	Optimal cutting temperature compound	冷冻切片包埋剂
OPLS-DA	Orthogonal partial least squares discriminant analysis	正交偏最小二乘法判别分析
PCA	Principal component analysis	主成分分析
PCoA	Principal coordinate analysis	主坐标分析
PGC-1 $\alpha$	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 $\alpha$	过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ 辅激活因子 1 $\alpha$
PI3K/Akt	Phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B	磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B
PLS-DA	Partial least squares discriminant analysis	最小二乘法判别分析
PPAR $\alpha$	Peroxisome proliferator-activated receptor $\alpha$	过氧化物酶体增殖物激活受体 $\alpha$
PPAR $\delta$	Peroxisome proliferator-activated receptor $\delta$	过氧化物酶体增殖物激活受体 $\delta$
RT-qPCR	Real-time quantitative PCR	实时荧光定量 PCR
SCFAs	Short-chain fatty acids	短链脂肪酸
SREBP-1	Sterol regulatory element-binding protein-1	固醇调节元件结合蛋白-1
TA	Tibialis anterior	胫骨前肌
TG	Triglyceride	甘油三酯

## 第 1 章 绪论

### 1.1 研究目的与意义

作为全球最大的猪肉生产与消费国家，中国正迎来畜牧业转型与消费升级的双重机遇期。在此驱动下，消费者对高品质猪肉的需求与日俱增<sup>[1,2]</sup>。肌内脂肪（IMF）是指沉积于肌纤维内部和肌束之间的脂肪，作为形成肌肉“大理石花纹”的物质基础，其含量是评价猪肉品质等级的核心指标，更通过影响肌肉的横切纤维结构和风味物质进一步影响了肉的嫩度、多汁性与风味<sup>[3,4]</sup>。然而，在以高生长速度、高饲料转化率和瘦肉率为主要目标的现代商品猪育种体系中，生产效率提升与肉品质改善之间存在一定矛盾。以杜×长×大（DLY）猪为代表的商品猪虽然具有良好的生产性能，但其 IMF 沉积能力和风味品质相对不足，已成为限制商品猪肉品质提升的重要因素。相比之下，中国地方猪种如广东小耳花（GSS）猪，虽然生长速度相对较慢，但通常具有较高的 IMF 沉积能力和优良的肉质性状，是解析猪肉品质形成机制和挖掘肉质调控资源的重要研究对象。

传统的增强 IMF 的策略主要依赖于品种、年龄和性别等遗传因素的改良<sup>[5-7]</sup>，这些方法调控周期长、灵活性不足。相比之下，营养调控具有干预方式灵活、作用阶段可控和生产转化潜力较高等优势，已成为改善肉品质的重要研究方向。近年来，肠道微生物及其代谢产物在宿主营养吸收、免疫稳态和能量代谢调控中的作用受到广泛关注。肠道健康不仅直接影响饲料营养物质的消化吸收，还可能通过代谢物释放、炎症因子调节和内分泌信号改变等途径影响外周组织脂质代谢<sup>[8]</sup>。在此基础上，“肠-肌轴”理论的提出为解析肌肉与脂肪代谢的调控机制提供了新视角。该理论认为，肠道菌群及其代谢产物可通过双向调控网络，系统性影响骨骼肌的生理状态与代谢功能<sup>[9,10]</sup>。

已有研究表明，肠道微生物在调控宿主脂肪沉积中发挥着关键作用：宁乡猪源罗伊氏乳杆菌（*Limosilactobacillus reuteri* XY227）能够通过重塑肠道菌群结构、增加戊酸生成，上调肌肉中脂肪酸结合蛋白 4（FABP4）及氨基酸转运蛋白 SLC7A5 的表达，进而显著改善 DLY 猪的 IMF 沉积与肉品质<sup>[11]</sup>；金华猪来源的普雷沃氏菌（*Prevotella stercorea*）相关研究提示，其可通过调控鞘脂信号通路，促进无菌小鼠的脂肪沉积<sup>[12]</sup>。这些研究共同提示，来源于高 IMF 沉积地方猪种的肠道微生物中，可能存在参与调控肌肉脂质沉积的潜在功能菌株。基于地方猪肠道菌群差异挖掘候选益生菌，并进一步评价其对宿主肌肉脂质代谢的影响，可能为改善商品猪肉品质提供新的微生物资源和营养调控思路。值得注意的是，肠道稳态的破坏往往伴随着代谢调控网络的紊乱。断奶、饲养环境变化及

病原刺激等因素均可诱发肠道炎症和屏障功能损伤,进而影响营养吸收、生长性能和外周组织代谢平衡<sup>[13,14]</sup>。肠道炎症状态下,促炎因子升高、屏障通透性增加和微生物代谢物谱改变,可能通过系统性炎症反应影响肌肉蛋白质周转和脂肪代谢。然而,目前关于肠道炎症状态下肠道微生物如何参与调控肌肉脂质沉积的研究仍相对有限。

丁酸梭菌 (*Clostridium butyricum*) 是一种严格厌氧、产芽孢的革兰氏阳性菌,因其能够产生短链脂肪酸 (SCFAs) 和其他活性物质而引起了很多关注<sup>[15,16]</sup>。丁酸梭菌具有多重生物学功能,不仅可以通过抑制白细胞介素-15 等炎症因子表达、增强机体抗氧化能力来改善生长性能<sup>[17]</sup>,还可以促进杯状细胞增殖及黏蛋白分泌,激活表皮生长因子受体通路以强化肠道屏障,从而缓解结肠炎<sup>[18]</sup>。此外,在肌肉与脂肪代谢调控方面,丁酸梭菌也被报道可通过上调胰岛素样生长因子-1/蛋白激酶 B(Akt)/雷帕霉素靶蛋白(mTOR) 通路促进肌肉蛋白质合成<sup>[19]</sup>,并可能增强固醇调节元件结合蛋白-1 (SREBP-1) 等成脂基因表达以推动 IMF 沉积<sup>[20]</sup>。上述发现提示,丁酸梭菌可能同时具备改善肠道健康和调节肌肉脂质代谢的潜在功能,是开展肠道微生物调控 IMF 沉积研究的重要候选菌类。

基于上述背景,本研究首先以 IMF 含量差异显著的中国地方猪种 (GSS 猪) 和现代商品猪 (DLY 猪) 为研究对象,对比分析了两品种猪 IMF 沉积的差异,并结合 16S rRNA 测序技术分析了其肠道菌群结构和组成,筛选出 GSS 猪与 DLY 猪之间的特征差异菌群。其中梭菌属 (*Clostridium sensu stricto\_1*) 是 GSS 猪的特征差异菌群,基于此,从 GSS 猪肠道内容物中分离鉴定出一株丁酸梭菌 ML5358,并系统评估该菌的体外生长特性、产酸能力及耐受性。在此基础上,进一步利用 IPEC-J2 细胞模型评价该菌株对炎症反应的调控潜力,并通过构建健康小鼠和肠道炎症小鼠模型,初步探究其对宿主肌肉脂质沉积及炎症状态下脂质代谢相关通路的影响。结合非靶向代谢组学技术,进一步探索丁酸梭菌 ML5358 可能参与调节肌肉脂质代谢的代谢通路。总体而言,本研究旨在从高 IMF 沉积地方猪肠道中挖掘潜在功能菌株,并初步评价其调控宿主肌肉脂质沉积的作用,为后续开展猪体内 IMF 调控研究提供候选菌株、实验依据和理论参考。

## 1.2 国内外研究现状

### 1.2.1 肌内脂肪的定义及形成机制

IMF 指的是那些能够沉积于肌肉组织内部、肌纤维之间的脂肪组织。从组成成分来看,IMF 中约 80% 为甘油三酯 (TG),其余部分包括磷脂、胆固醇、脂肪酸、少量蛋白质和水分<sup>[21]</sup>。

从代谢的角度看,IMF 沉积的本质是脂肪生成与脂肪分解之间的动态平衡。脂肪酸代谢是这一平衡的核心环节,如图 1-1 所示,外源性脂肪酸通过 CD36 等转运蛋白和脂

脂肪酸结合蛋白 (FABP1、FABP3) 被肌细胞摄取转运, 进入胞质后在酰基辅酶 A 合成酶的作用下活化为脂酰辅酶 A。活化的脂肪酸随后进入两条不同的代谢途径: 一是通过肉碱棕榈酰转移酶 1 (CPT1) 系统进入线粒体基质后进行  $\beta$ -氧化供能; 二是在甘油-3-磷酸酰基转移酶等酶作用下, 被酯化合成为 TG, 储存在脂滴中。这两条途径存在底物竞争关系, 当 CPT1 活性受到抑制时脂肪酸更多的会被酯化存储; 当  $\beta$ -氧化受阻或乙酰辅酶 A 过度积累时, 可诱导线粒体功能障碍和活性氧产生, 进而损害细胞正常功能。

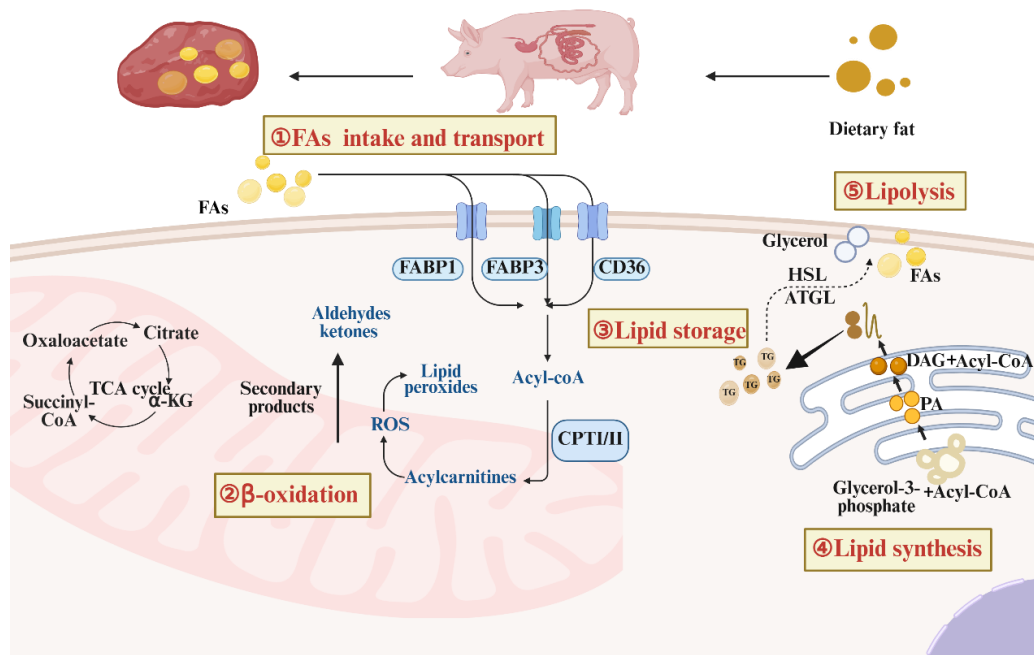


图 1-1 调节肌内脂肪沉积的代谢网络示意图<sup>[22]</sup>

Figure 1-1 Schematic diagram of the metabolic network regulating IMF deposition

除摄取外源脂肪酸外, 细胞本身也具有合成内源性脂肪酸的能力。细胞通过乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC) 和脂肪酸合酶 (FASN) 通过一系列反应可以催化合成脂肪酸<sup>[23]</sup>。反之, 而激素敏感性脂肪酶 (HSL) 和甘油三酯脂肪酶 (ATGL) 则介导脂肪分解过程, 二者共同维持脂肪代谢的动态平衡。在这些调控机制中, 腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK) -mTOR 信号通路作为核心的能量感知枢纽, 通过感知细胞能量状态动态调节脂肪酸合成与氧化之间的平衡。当能量不足时, AMPK 的激活会抑制 mTOR 通路, 并阻断由上游磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) /Akt 通路介导的脂质合成激活<sup>[24]</sup>。此外, 钙离子信号也被确定为一个重要的调控层面, 研究表明钙离子可通过调节线粒体能量代谢和呼吸链关键基因的表达, 使背最长肌 (LD) 中的 TG 含量增加近 1.3 倍, 从而促进 IMF 沉积<sup>[25]</sup>。

值得注意的是, 不同类型的脂肪酸遵循不同的代谢途径。长链脂肪酸需要依赖 CPT 系统跨越线粒体膜进行  $\beta$ -氧化, 而中链脂肪酸和 SCFAs 可以直接进入线粒体进行氧化供能。这意味着如果 CPT1 的活性较低, 长链脂肪酸更容易转化为 TG 储存, 这可能导