

基于16S rDNA测序分析酒精性脂肪肝病 进展中小鼠肠道菌群变化

董晓伟¹, 吴长亮², 王振常², 覃素萍¹, 何坚科¹, 黄慧仪¹

(1. 广西中医药大学, 南宁 530200; 2. 广西中医药大学附属国际壮医医院, 南宁 530201)

摘要 **目的:**采用16S rDNA测序技术分析酒精性脂肪肝病(AFLD)发展过程中小鼠肠道菌群的变化,并探讨小鼠AFLD进展的可能机制。**方法:**将60只雄性C57BL/6小鼠随机分为对照组(35只)和模型组(25只)。适应性喂养5 d后,对照组小鼠每天喂食Lieber-DeCarli对照流质饲料(TP4030C),模型组小鼠每天喂食含有4%乙醇的Lieber-DeCarli流质饲料(TP4030B),连续30 d后,采用苏木精-伊红(HE)染色法观察肝脏病理变化;16S rDNA测序法分析肠道菌群组成结构。**结果:**与对照组相比,AFLD模型组小鼠肠道菌群的 α 多样性结果显示其物种丰富度降低($P<0.05$)。Beta多样性结果表明两组小鼠肠道菌群结构组成和丰度存在显著差异($P<0.05$)。与对照组相比,模型组粪杆菌属(*Faecalibaculum*)、杜博菌属(*Dubosiella*)、异杆菌属(*Allobaculum*)、瘤胃球菌属 UCG-013(*Ruminococcaceae UCG-013*)等菌属相对丰度升高,乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)、毛螺菌属(*Lachnospiraceae NK4A136 group*)等菌属相对丰度降低。模型组小鼠肠道菌群在丙氨酸转移酶、谷胱甘肽水解酶和组蛋白乙酰转移酶通路活性显著增加($P<0.05$)。**结论:**含4%乙醇的Lieber-DeCarli流质饲料成功构建了AFLD C57BL/6小鼠模型,AFLD小鼠肠道菌群的结构和组成均发生变化,酒精可能通过破坏肠道微生物稳态,增加丙氨酸转移酶、谷胱甘肽水解酶和组蛋白乙酰转移酶通路活性加快AFLD的进展。

关键词 酒精性脂肪肝病;16S rDNA基因测序;肠道菌群;优势菌

中图分类号:R575 文献标志码:A 文章编号:1005-930X(2024)08-1134-07

DOI:10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.08.005

Analysis of gut microbiota changes in alcoholic fatty liver disease in progression based on 16S rDNA sequencing technology

DONG Xiaowei¹, WU Changliang², WANG Zhenchang², QIN Suping¹, HE Jianke¹, HUANG Huiyi¹. (1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China; 2. Guangxi International Zhuang Medicine Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530201, China)

Abstract **Objective:** To analyze the changes of gut microbiota in the progression of alcoholic fatty liver disease (AFLD) using 16S rDNA sequencing technology, and to explore the possible mechanism of AFLD progression in mice. **Methods:** A total of 60 male C57BL/6 mice were randomly divided into control group ($n=35$) and model group ($n=25$). After adaptive feeding for 5 days, mice in the control group were fed a control Lieber-DeCarli fluid feeds (TP4030C) daily, and mice in the model group were fed Lieber-DeCarli fluid feeds (TP4030B) containing 4% ethanol daily. After 30 consecutive days, hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the pathological changes of the liver. 16S rDNA sequencing was used to analyze the composition and structure of gut microbiota. **Results:** Compared with the control group, Alpha diversity results of the gut microbiota of mice in the AFLD model group showed reduced species richness ($P<0.05$). Beta diversity results indicated significant differences in the structural composition and abundance of the gut microbiota of the two groups of mice ($P<0.05$). Compared with the control group, the relative abundance of *Faecalibaculum*, *Dubosiella*, *Allobaculum*, *Ruminococcaceae UCG-013* were higher in the model group, while the relative abundance of *Lactobacillus* and *Lachnospiraceae*

[基金项目] 广西特色壮瑶药医院制剂及产业化研究创新团队资助项目(No. GZKJ2309);

广西中医药大学博士科研启动基金资助项目(No. XP020093)

[通信作者] 吴长亮, E-mail: wcl0505@163.com

[收稿日期] 2024-04-30

ae NK4A136 group were lower in the model group. The activity of gut microbiota in alanyltransferase, glutathione hydrolase and histone acetyltransferase pathways was significantly increased in the model group of mice ($P < 0.05$). **Conclusion:** AFLD C57BL/6 mouse model is successfully constructed on Lieber-DeCarli fluid feeds containing 4% ethanol, and both the structure and composition of the gut microbiota of AFLD mice are altered. Alcohol may accelerate the progression of AFLD by disrupting gut microbial homeostasis and increasing the activities of alanyltransferase, glutathione hydrolase, and histone acetyltransferase pathways.

Keywords alcoholic fatty liver disease; 16S rRNA gene sequencing; gut microbiota; dominant bacteria

酒精性肝病是由于长期大量饮酒导致的肝脏疾病^[1],早期多表现为酒精性脂肪肝病(alcoholic fatty liver disease, AFLD)^[2]。AFLD存在健康危害,随着生活水平的提高和生活方式的改变,酗酒者在人口中的比例逐年上升^[3-5],导致AFLD的发生率也在不断增高^[6]。AFLD是可以逆转的,但若不及时干预,可发展为酒精性肝炎、肝纤维化、肝硬化,甚至肝癌^[7]。尽管国内、外对AFLD的发病机制进行了大量的研究,但临床上仍缺乏针对AFLD的有效治疗方法^[8]。

研究表明,肠道菌群可通过肠-肝轴与肝脏沟通^[9-10]。肠道菌群的组成和失调在AFLD的发生、发展中发挥着重要作用^[11-12]。长期过量饮酒可导致肠道菌群的组成和分布紊乱,进而损害肠道屏障,增加肠壁通透性,使进入肝脏的有害代谢物增加^[9-10]。因此,维持肠道微生物群落稳态,保护肠黏膜屏障,防止细菌及其产物移位,对调节AFLD进程至关重要。Guo等^[13]发现,使用Lieber-DeCarli酒精饲料喂养的动物,其肝功能损伤加剧。目前使用Lieber-DeCarli流质饲料建立动物酒精性肝病模型的方法有多种,如NIAAA模型^[14]、Lieber-DeCarli模型^[15]、GaoBinge模型^[16]等。其中NIAAA模型和GaoBinge模型均通过慢性酒精喂养加急性酒精灌胃的方式来模拟人类长期酗酒和大量饮酒相结合的饮酒行为,易产生肝脏炎症反应,进而导致酒精性肝炎^[14]。然而,为降低酒精强制性摄入(灌胃)对AFLD模型建立的影响,本研究复制Lieber-DeCarli模型,通过在C57BL/6小鼠中使用Lieber-DeCarli酒精饲料长期喂养的方式来模拟人类长期饮酒行为,旨在观察酒精性肝病早期(AFLD发展时期)小鼠肠道菌群的变化,并尝试从小肠微生物群变化的角度,进一步利用该模型研究AFLD的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

60只雄性C57BL/6小鼠,6周龄,体质量(22±2)g,

由广西医科大学实验动物中心提供,动物生产许可证号为SCXK桂2020-000。本实验已通过广西中医药大学动物实验福利伦理审查(批准编号:DW20231115-261)。Lieber-DeCarli对照流质饲料(TP4030C)和乙醇Lieber-DeCarli流质饲料(TP4030B)购自南通特洛菲饲料科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 动物造模 将60只小鼠随机分为对照组(35只)和模型组(25只)。两组小鼠均用不含乙醇的TP4030C适应性喂养5 d后,对照组每天喂食TP4030C,连续30 d;模型组小鼠每天喂食含有4%乙醇的TP4030B,连续30 d。

1.2.2 取材 造模结束后,使用1%戊巴比妥钠溶液,以0.05 mL/10 g剂量对C57BL/6小鼠进行腹腔注射麻醉;开腹,迅速取出肠道,冷生理盐水清洗肠道外表面后,用无菌镊子取小肠内容物置于无菌2.0 mL EP管中,标记好小鼠品系、编号、采样日期等,于-80℃冰箱保存待用。

收集小鼠肝脏左叶,固定在10%多聚甲醛溶液中,制作石蜡切片,行苏木精-伊红(HE)染色,于显微镜下观察肝脏组织病理形态。并根据《酒精性肝病诊疗指南(2023版)》判断AFLD分期,以确定是否造模成功。依据肝细胞脂肪变性占据所猎取肝脏组织标本量的范围,分为4度($F_0 \sim F_4$): F_0 : <5%肝细胞脂肪变; F_1 : 5%~30%肝细胞脂肪变; F_2 : 31%~50%肝细胞脂肪变性; F_3 : 51%~75%肝细胞脂肪变; F_4 : 75%以上肝细胞脂肪变。

1.2.3 DNA提取及16S rDNA测序 对所有小鼠小肠内容物进行16S rDNA高通量测序,高通量测序及测序文库构建由广西爱生生命科技有限公司完成。主要步骤包括样本总DNA抽提与质检、PCR扩增、DNA文库构建、Illumina上机测序,物种注释使用Silva 132数据库。

1.3 生物信息学方法

使用在R软件中运行的DADA2进行质量修整、推断扩增子序列变异(ASV)和分类学分类。样本复杂度分析(Alpha Diversity)由QIIME2软件计

算 Observed species 指数、Chao1 指数、Simpson 指数、Shannon 指数, 这些指数反映样本内微生物群落的丰富度和多样性, Alpha(α)多样性可定义为样本内多样性的衡量标准, 使用 ASV 级别的数据进行分析, 并在 $P < 0.05$ 的 Alpha 截止条件下进行 Wilcoxon 秩和检验。使用 R 软件进行多样(Beta(β) Diversity)比较分析; 使用 ade4、ggplot2 等软件包进行主坐标分析(PCA)和 ANOSIM 相似性分析; LEfse 分析采用阈值 LDA 得分 ≥ 2 分筛选组间具有显著差异的细菌种群; 根据测序数据使用 PICRUST2 生物信息软件包, 进行基于 KEGG 数据库的功能预测。

2 结果

2.1 小鼠一般情况

对照组小鼠毛发光泽顺滑, 精神状态较好, 活动良好。模型组小鼠毛发紊乱, 易怒, 精神状态下降。

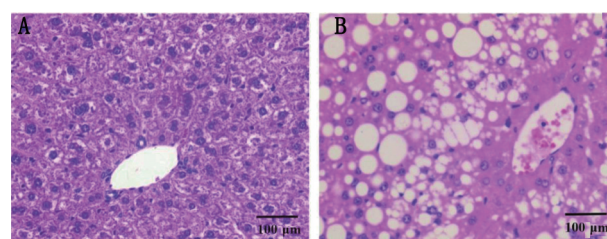
2.2 肝脏病理形态变化

肝脏 HE 染色结果如图 1 所示, 对照组小鼠(图 1A)肝脏小叶结构正常, 肝脏板条索状, 围绕中央静脉排列紧密, 无炎症、充血、水肿或脂肪变性; 模型组(图 1B)小鼠肝脏小叶结构不规整, 约 70% 肝细胞出现小泡、中泡及大泡性脂肪变性, 说明小鼠 AFLD 模型建立成功, 肝细胞脂肪变性均达 F_3 级。

2.3 小鼠肠道菌群分析

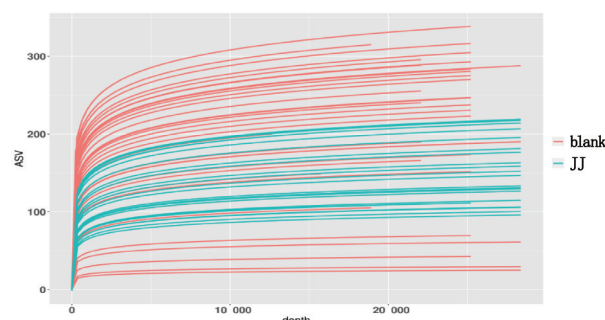
2.3.1 小鼠肠道微生物稀释曲线 从稀释曲线分析, 纳入全部 60 个样本(对照组 35 个样本, 模型组 25 个样本)后, 16S rDNA 基因文库的测序平均深度超过 25 000, 并且随着测序深度的增加, 曲线也趋于平缓, 菌群中的 ASV 总数将不再随着新样本的加入而显著增加, 表明测序的深度已足以反映群落的物

种组成, 见图 2。



A: 对照组; B: 模型组。

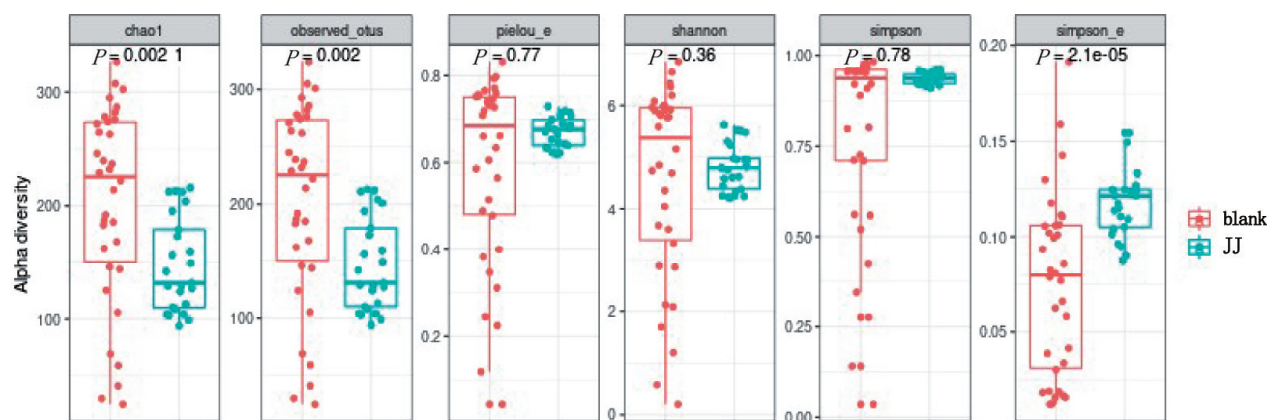
图1 小鼠肝组织 HE 染色图($\times 200$)



blank: 对照组; JJ: 模型组。

图2 稀释曲线

2.3.2 小鼠肠道微生物 α 多样性分析 α 多样性主要评估组内物种的多样性、均匀度、覆盖度等情况。Chao1、Observed_otus 数值越大, 说明物种越丰富; Shannon、Simpson 指数越大, 说明物种多样性越高。结果显示, 与对照组相比, 模型组小鼠微生物物种多样性 Chao1 ($P=0.0021$)、Observed_otus 数值 ($P=0.002$) 显著降低, 而 Simpson e 指数显著增高 ($P < 0.001$), 其他指数无显著差异 ($P > 0.05$), 表明 AFLD 模型小鼠肠道微生物物种丰富度显著减少, 而物种多样性无显著变化, 见图 3。



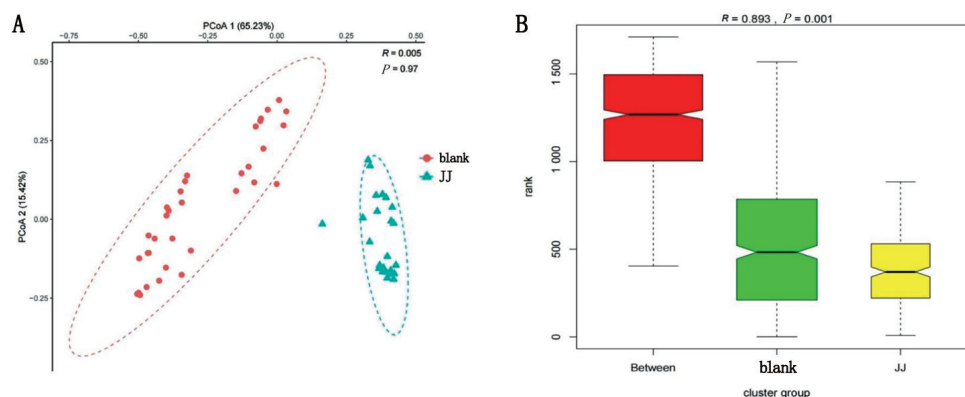
blank: 对照组; JJ: 模型组。

图3 小鼠肠道微生物 α 多样性分析

2.3.3 小鼠肠道微生物 β 多样性分析 β 多样性是对微生物群落构成的比较,表示群落中组间的差异。PCoA图(图4A)中样本的距离可反映样本组成和丰度的相似度,距离越近,代表样本组成和丰度越接近。PCoA1为第1主坐标,对肠道菌群的代表性为65.23%;PCoA2为第2主坐标,代表性为15.42%。PCoA1轴上可见对照组和模型组距离相

差较大。

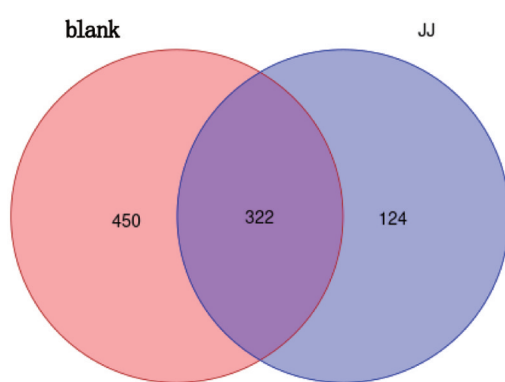
利用Bray-Curtis算法计算两两样品间的距离,然后将所有距离从小到大进行排序,再进行ANOSim相似性分析,如图4B所示, $R>0$ 提示组间差异大于组内差异,且差异显著($P=0.001$),该结果进一步表明本研究的分组合理。



A:PCoA分析;B:ANOSim相似性分析;blank:对照组;JJ:模型组。

图4 肠道菌群 β 多样性分析

2.3.4 小鼠肠道微生物组成和结构差异 使用韦恩图统计两组小鼠肠道微生物共有和特有ASV数目,发现两组小鼠肠道微生物构成存在差别,其中对照组独有的ASV数目为450个,模型组独有的ASV数目为124个,两组共有ASV数目322个,见图5。



blank:对照组;JJ:模型组。

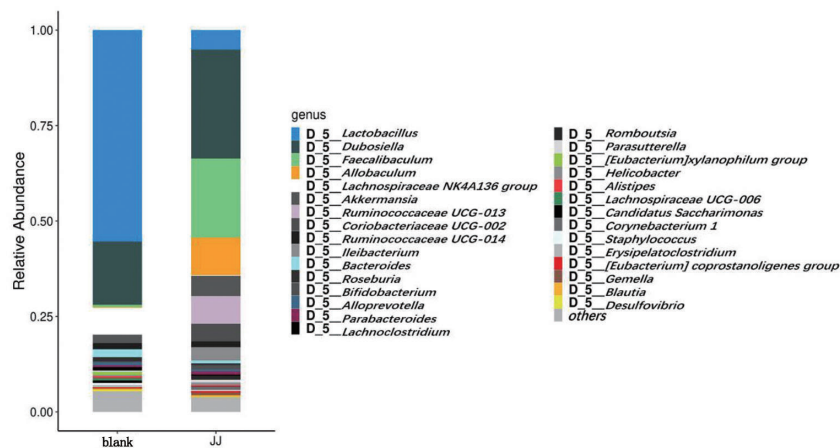
图5 小鼠肠道菌群ASV分布Venn图

2.3.5 小鼠肠道微生物群落结构分析 在属水平上,两组小鼠的优势菌属存在差异。对照组前3位的优势菌属分别为乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)、杜博菌属(*Dubosiella*)和毛螺菌属(*Lachnospiraceae NK4A136 group*);模型组前3位的优势菌属分别为杜博

菌属(*Dubosiella*)、粪杆菌属(*Faecalibaculum*)和异杆菌属(*Allobaculum*)。与对照组相比,模型组小鼠肠道菌群中乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)、毛螺菌属(*Lachnospiraceae NK4A136 group*)相对丰度下降,而粪杆菌属(*Faecalibaculum*)、异杆菌属(*Allobaculum*)、杜博菌属(*Dubosiella*)、瘤胃球菌 UCG-013(*Ruminococcaceae UCG-013*)属相对丰度上升,见图6。

2.3.6 小鼠肠道菌群组间差异物种分析 在属水平上,乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)、粪杆菌属(*Faecalibaculum*)、回肠杆菌属(*Ileibacterium*)、瘤胃球菌 UCG-013(*Ruminococcaceae UCG-013*)、*Coriobacteriaceae UCG-002*、异杆菌属(*Allobaculum*)等菌属的组间的群落结构差异相对显著,且乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)的组间的群落结构差异最显著,见图7。

2.3.7 LEfSe差异分析 LEfSe分析鉴定了小鼠肠道微生物群落的特征性微生物(LDA阈值2)。结果显示,对照组的差异性优势菌属是乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)和毛螺菌属(*Lachnospiraceae NK4A136 group*);模型组的差异性优势菌属是粪杆菌属(*Faecalibaculum*)、杜博菌属(*Dubosiella*)、异杆菌属(*Allobaculum*)、瘤胃球菌 UCG-013(*Ruminococcaceae UCG-013*)、*Coriobacteriaceae UCG-002*、回肠杆菌属(*Ileibacterium*),见图8。



blank: 对照组; JJ: 模型组。

图6 小鼠属水平物种丰度展示图

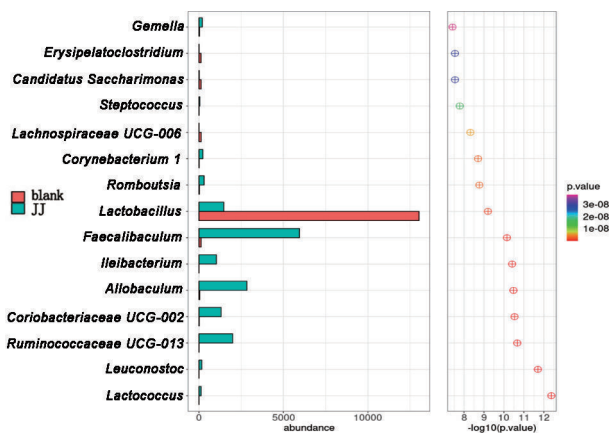


图7 组间差异物种分析

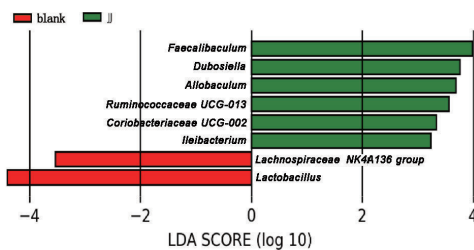


图8 LEfSe 差异分析

酶(histone acetyltransferase)的 KEGG 途径上显著增加($P<0.05$),而 α -半乳糖苷酶(alpha-galactosidase)通路显著降低($P<0.05$),见图9、表1。

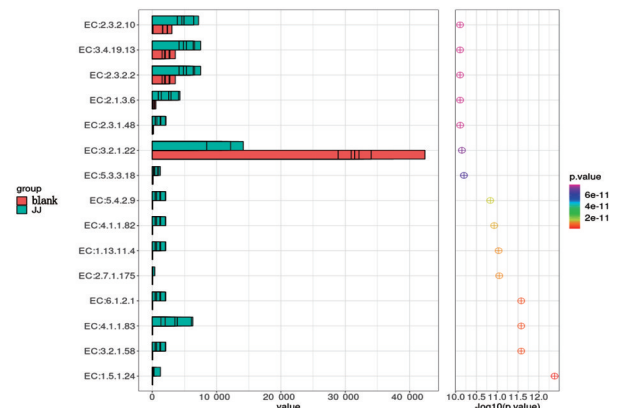


图9 功能预测 KO 差异分析

表1 相关代谢通路名称

编号	名称
EC:1.5.1.24	N (5)-(carboxyethyl) ornithine synthase
EC:3.2.1.58	Glucan 1,3-beta-glucosidase
EC:4.1.1.83	4-hydroxyphenylacetate decarboxylase
EC:6.1.2.1	D-alanine--(R)-lactate ligase
EC:2.7.1.175	Maltokinase
EC:1.13.11.4	Gentisate 1,2-dioxygenase
EC:4.1.1.82	Phosphonopyruvate decarboxylase
EC:5.4.2.9	Phosphoenolpyruvate mutase
EC:5.3.3.18	2-(1,2-epoxy-1,2-dihydrophenyl) acetyl-CoA isomerase
EC:3.2.1.22	Alpha-galactosidase
EC:2.3.1.48	Histone acetyltransferase
EC:2.1.3.6	Putrescine carbamoyltransferase
EC:2.3.2.2	Gamma-glutamyltransferase
EC:3.4.19.13	Glutathione hydrolase
EC:2.3.2.10	UDP-N-acetylmuramoylpentapeptide-lysine N (6)-alanyltransferase

2.3.8 肠道菌群功能预测分析 为了进一步评估 AFLD 发展过程中对小鼠肠道菌群的影响,本研究采用 PRCRUS2 软件通过 EC 数据库,将菌群与功能建立了映射,进行功能预测,并对差异功能进行 KEGG 通路富集分析。与对照组相比,模型组小鼠肠道菌群在丙氨酸转移酶(UDP-N-acetylmuramoylpentapeptide-lysine N(6)-alanyltransferase)、谷胱甘肽水解酶(glutathione hydrolase)、 γ -谷氨酰转移酶(gamma-glutamyltransferase)、腐胺氨甲酰转移酶(putrescine carbamoyltransferase)、组蛋白乙酰转移

3 讨论

本研究中,对照组小鼠每天喂食TP4030C,模型组小鼠每天喂食含有4%乙醇的TP4030B,连续30 d后,HE病理结果显示,模型组小鼠大约70%肝细胞出现小泡、中泡及大泡性脂肪变性,根据《酒精性肝病诊疗指南(2023版)》可诊断为AFLD F₃度,小鼠AFLD造模成功。

16S rDNA测序分析揭示了AFLD进展过程中肠道微生物群落组成的变化。结果表明,相较于对照组,通过酒精饲料喂食显著降低了小鼠肠道微生物的 α 多样性指数,导致菌群丰富度受损。 β 多样性分析显示,模型组与对照组组间差异显著大于组内差异,揭示通过酒精饲料喂食显著改变了小鼠肠道菌群结构。这一变化与AFLD的发生可能相关,与既往研究^[1]结果相一致。此外,在属水平上,各组优势菌属存在差异。在对照组中,潜在有益菌如乳酸杆菌属、杜博菌属等占据优势。酒精饲料喂食处理后,异杆菌属的相对丰度在模型组中显著增加,异杆菌属通常被视为有益菌,对肠道屏障功能的维持和抗炎作用至关重要^[17-18]。酒精饲料喂食小鼠引起的肝组织变化可能导致肠屏障破坏,进而影响肠道菌群结构,异杆菌属数量的增加,反映了肠道微生物群落在维持结构平衡和肠屏障完整性方面的自然调整反应。

进一步LEfSe差异分析及组间差异分析发现,模型组中有益菌种乳酸杆菌属相对丰度显著降低;某些潜在病原菌如粪杆菌属相对丰度显著升高。乳酸杆菌属是人类肠道中的有益菌之一。研究表明,乳酸杆菌产生大量的挥发性脂肪酸,可抑制需氧性有害菌的过度产生,从而维持肠道菌群的平衡^[19-20]。

KEGG通路富集分析显示,与对照组相比,模型组小鼠肠道菌群在丙氨酸转移酶、谷胱甘肽水解酶、 γ -谷氨酰转移酶、腐胺氨甲酰转移酶、组蛋白乙酰转移酶的KEGG途径上显著增加,而 α -半乳糖苷酶通路显著降低。提示通过酒精饲料喂食显著影响了小鼠肠道菌群功能,尤其是在转移酶代谢相关途径。揭示了AFLD进展过程中肠道内独特的微生物群特征和微生态变化,有助于发现AFLD新型生物标志物和治疗靶点,但其相关性仍需进一步的研究验证。

以上研究提示,AFLD小鼠的肠道菌群物种丰富度显著减少,肠道菌群结构变化显著,某些细菌可以作为微生物群落调节疗法的靶标^[21],例如乳酸杆菌属,可能为AFLD的精准治疗开辟新途径。

此外,以往涉及AFLD的研究表明,使用Lieber-DeCarli流质饲料构建AFLD模型的小鼠,在探索其肠道菌群变化时检测部位多数为粪便^[22]和盲肠^[23],而对小肠微生物群落的研究较少。然而Yan等^[24]发现,每个肠段的功能和菌群是不同的,使用粪便样本作为分析肠道微生物组成的方法存在一个主要缺点,即粪便主要反映了结肠末端的微生物群体。因此,利用粪便或盲肠内容物作为肠道菌群研究的材料,其能否全面地反映整个肠道微生物群落的情况,仍有待证明。

本研究以AFLD小鼠小肠的肠道菌群变化特征为研究对象,揭示了其在小鼠AFLD进展过程中的作用,为AFLD小鼠肠道菌群变化的全面性研究增加了理论依据。此外,通过对微生物群落的干预措施来减轻或逆转AFLD进展也具有一定潜力,本研究的发现也为其奠定基础。

参考文献:

- [1] QIU F, ZENG R, LI D, et al. Establishment and bioinformatics evaluation of the ethanol combined with palmitic acid-induced mouse hepatocyte AFLD model (the Hu-Qiu Model)[J]. *Heliyon*, 2023, 9(9): e19359.
- [2] PARK W Y, SONG G, NOH J H, et al. Raphani Semen (*Raphanus sativus* L.) ameliorates alcoholic fatty liver disease by regulating de novo lipogenesis[J]. *Nutrients*, 2021, 13(12): 4448.
- [3] QI X, ZHENG S, MA M, et al. Curcumin suppresses CCF-mediated hepatocyte senescence through blocking LC3B-Lamin B1 interaction in alcoholic fatty liver disease[J]. *Frontiers in pharmacology*, 2022, 13: 912825.
- [4] WU M F, ZHANG G D, LIU T T, et al. Hif-2 α regulates lipid metabolism in alcoholic fatty liver disease through mitophagy[J]. *Cell & bioscience*, 2022, 12(1): 198.
- [5] ZHU Y W, LI D, YE T J, et al. The study of Yin-Chen-Hao-Tang preventing and treating alcoholic fatty liver disease through PPAR signaling pathway based on network pharmacology and RNA-Seq transcriptomics[J]. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2021, 2021: 8917993.

- [6] HAN L, WU L, YIN Q, et al. A promising therapy for fatty liver disease: PCSK9 inhibitors[J]. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 2024, 128: 155505.
- [7] LIU J, KONG L, SHAO M, et al. Seabuckthorn polysaccharide combined with astragalus polysaccharide ameliorate alcoholic fatty liver by regulating intestinal flora[J]. *Frontiers in endocrinology*, 2022, 13: 1018557.
- [8] KONG L, CHEN J, JI X, et al. Alcoholic fatty liver disease inhibited the co-expression of Fmo5 and PPAR α to activate the NF- κ B signaling pathway, thereby reducing liver injury via inducing gut microbiota disturbance[J]. *Journal of experimental & clinical cancer research*, 2021, 40(1): 18.
- [9] MA D, HU J, XU W, et al. Phosphoesterase complex modulates microflora and chronic inflammation in rats with alcoholic fatty liver disease[J]. *Life sciences*, 2020, 262: 118509.
- [10] LI K, CUI Y, ZHENG X, et al. Jian Gan powder ameliorates immunological liver injury in mice by modulating the gut microbiota and metabolic profiles[J]. *European journal of medical research*, 2024, 29(1): 240.
- [11] LI B, MAO Q, ZHOU D, et al. Effects of tea against alcoholic fatty liver disease by modulating gut microbiota in chronic alcohol-exposed mice[J]. *Foods*, 2021, 10(6): 1232.
- [12] KANG K, SUN Y, PAN D, et al. Distinctive gut microbial dysbiosis between chronic alcoholic fatty liver disease and metabolic-associated fatty liver disease in mice[J]. *Experimental and therapeutic medicine*, 2021, 21(5): 418.
- [13] GUO R, ZHU J, CHEN L, et al. Dietary camellia seed oil attenuates liver injury in mice chronically exposed to alcohol[J]. *Frontiers in nutrition*, 2022, 9: 1026740.
- [14] MAINZ R E, ALBERS S, HAQUE M, et al. NLRP6 inflammasome modulates disease progression in a chronic-plus-binge mouse model of alcoholic liver disease[J]. *Cells*, 2022, 11(2): 182.
- [15] ZHANG X, WANG H, YIN P, et al. Flaxseed oil ameliorates alcoholic liver disease via anti-inflammation and modulating gut microbiota in mice[J]. *Lipids in health and disease*, 2017, 16(1): 44.
- [16] LOWE P P, GYONGYOSI B, SATISHCHANDRAN A, et al. Alcohol-related changes in the intestinal microbiome influence neutrophil infiltration, inflammation and steatosis in early alcoholic hepatitis in mice[J]. *Plos one*, 2017, 12(3): e0174544.
- [17] LI M, LI N, DONG Y, et al. Soil intake modifies the gut microbiota and alleviates Th2-type immune response in an ovalbumin-induced asthma mouse model[J]. *The world allergy organization journal*, 2024, 17(4): 100897.
- [18] CHEN C, XU J L, GU Z C, et al. Danggui Sini decoction alleviates oxaliplatin-induced peripheral neuropathy by regulating gut microbiota and potentially relieving neuroinflammation related metabolic disorder[J]. *Chinese medicine*, 2024, 19(1): 58.
- [19] WAN S, YOU P, SHI Q, et al. Gut microbiome changes in mouse, Mongolian gerbil, and hamster models following *Clostridioides difficile* challenge[J]. *Frontiers in microbiology*, 2024, 15: 1368194.
- [20] HUA H, YONGTONG W, XUFENG D, et al. Hemp seeds attenuate loperamide-induced constipation in mice[J]. *Frontiers in microbiology*, 2024, 15: 1353015.
- [21] HUANG F, LYU B, XIE F, et al. From gut to liver: unveiling the differences of intestinal microbiota in NAFL and NASH patients[J]. *Frontiers in microbiology*, 2024, 15: 1366744.
- [22] LEBRUN E S, NIGHOT M, DHARMAPRAKASH V, et al. The gut microbiome and alcoholic liver disease: ethanol consumption drives consistent and reproducible alteration in gut microbiota in Mice[J]. *Life*, 2020, 11(1): 7.
- [23] WANG Y, ZOU Z, WANG S, et al. Golden bile powder prevents drunkenness and alcohol-induced liver injury in mice via the gut microbiota and metabolic modulation[J]. *Chinese medicine*, 2024, 19(1): 39.
- [24] YAN G, LI S, WEN Y, et al. Characteristics of intestinal microbiota in C57BL/6 mice with non-alcoholic fatty liver induced by high-fat diet[J]. *Frontiers in microbiology*, 2022, 13: 1051200.

本文引用格式:

董晓伟, 吴长亮, 王振常, 等. 基于 16S rDNA 测序分析酒精性脂肪肝病进展中小鼠肠道菌群变化[J]. 广西医科大学学报, 2024, 41(8): 1134-1140. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.08.005

DONG X W, WU C L, WANG Z C, et al. Analysis of gut microbiota changes in alcoholic fatty liver disease in progression based on 16S rDNA sequencing technology[J]. *Journal of Guangxi medical university*, 2024, 41(8): 1134-1140. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.08.005