

跑台运动对高脂膳食小鼠肠黏膜屏障功能和细胞焦亡的影响

林炜¹ 袁顺灵¹ 吴基右² 郭伟昌^{2*} 邱良武^{2*}

¹福建师范大学体育科学学院, 运动与健康福建省高校重点实验室, 福州 350117;

²昆明医科大学体育部, 昆明 650500)

摘要 该研究旨在探讨跑台运动对高脂膳食小鼠肠黏膜屏障功能及细胞焦亡的影响。选取 C57BL/6J 小鼠, 随机将其分为对照组(WT组)、高脂膳食组(HFD组)和高脂膳食运动组(HFD-EX组), 其中对 HFD-EX 组进行 12 周跑台运动干预。干预结束后, 检测小鼠体质量及血浆 TG、TC、HDL 和 LDL 水平; 采用 ELISA 检测血浆 DAO 和 LPS 含量; 采用 HE 染色观察回肠组织病理学形态; 采用免疫荧光检测回肠组织 ZO-1 和 occludin 表达情况; 采用 Western blot 检测回肠组织 NF- κ B、NLRP3、Caspase-1、GSDMD、GSDMD-N 及 IL-18 蛋白表达水平。结果显示, 跑台运动可显著减少高脂膳食小鼠体质量, 降低血脂水平, 表现为 TG、TC 及 LDL 水平显著下降, HDL 水平显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。同时, 跑台运动显著降低高脂膳食小鼠血浆 DAO 和 LPS 水平 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 减轻回肠黏膜病理损伤, 逆转绒毛排列紊乱和黏膜上皮变薄等异常改变; 显著增加回肠组织 ZO-1 和 occludin 荧光面积百分比 ($P < 0.01$); 并显著下调 NF- κ B、NLRP3、Caspase-1、GSDMD、GSDMD-N 及 IL-18 蛋白表达 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。这表明跑台运动可调节高脂膳食小鼠脂质代谢紊乱, 减轻回肠黏膜屏障损伤, 并抑制 NF- κ B/NLRP3 相关细胞焦亡信号通路活化; 其保护作用可能与上调紧密连接蛋白表达、减少 LPS 易位及抑制 Caspase-1/GSDMD 介导的细胞焦亡相关过程有关。

关键词 高脂膳食; 跑台运动; 细胞焦亡; 肠道屏障; 紧密连接蛋白

Treadmill Exercise Attenuates High-Fat Diet-Induced Intestinal Mucosal Barrier Dysfunction and Pyroptosis in Mice

LIN Wei¹, YUAN Shunling¹, WU Jiyu², GUO Weichang^{2*}, QIU Liangwu^{2*}

¹Provincial University Key Laboratory of Sport and Health Science, School of Physical Education and Sport Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou 350117, China; ²Department of Physical Education, Kunming Medical University, Kunming 650500, China)

Abstract This study aimed to investigate the effects of treadmill exercise on intestinal mucosal barrier function and pyroptosis in high-fat diet-fed mice. C57BL/6J mice were randomly divided into a control group (WT group), a high-fat diet group (HFD group), and a high-fat diet plus exercise group (HFD-EX group). Mice in the HFD-EX group underwent treadmill exercise for 12 weeks. After the intervention, body mass was measured and plasma samples were collected for the determination of TG (triglycerides), TC (total cholesterol), HDL (high-density lipoprotein), and LDL (low-density lipoprotein) levels. Plasma DAO (diamine oxidase) and LPS (lipopolysaccharide) levels were determined by ELISA. Histopathological changes in ileal tissue were observed by HE (hematoxylin

收稿日期: 2026-04-19

接受日期: 2026-06-04

昆明医科大学一流学科团队(批准号: 2024XKTDYPY19)资助的课题

*通信作者。Tel: 0871-65922911, E-mail: guoweichang@kmmu.edu.cn; Tel: 0871-65922827, E-mail: qiuliangwu@kmmu.edu.cn

Received: April 19, 2026

Accepted: June 4, 2026

This work was supported by the First-Class Discipline Team of Kunming Medical University (Grant No.2024XKTDYPY19)

*Corresponding authors. Tel: +86-871-65922911, E-mail: guoweichang@kmmu.edu.cn; Tel: +86-871-65922827, E-mail: qiuliangwu@kmmu.edu.cn

and eosin) staining. The expression of ZO-1 and occludin in ileal tissue was assessed by immunofluorescence, and the protein levels of NF- κ B, NLRP3, Caspase-1, GSDMD, GSDMD-N, and IL-18 in ileal tissue were determined by Western blot. The results showed that treadmill exercise significantly reduced body mass and improved dyslipidemia in high-fat diet-fed mice, as evidenced by significant decreases in TG, TC, and LDL levels and a significant increase in HDL level ($P<0.05$, $P<0.01$). Meanwhile, treadmill exercise significantly decreased plasma DAO and LPS levels in high-fat diet-fed mice ($P<0.05$, $P<0.01$), attenuated ileal mucosal pathological injury, ameliorated abnormalities such as villus disorganization and thinning of the mucosal epithelium, significantly increased the percentage of fluorescence area for ZO-1 and occludin in ileal tissue ($P<0.01$), and markedly downregulated the protein expression levels of NF- κ B, NLRP3, Caspase-1, GSDMD, GSDMD-N, and IL-18 ($P<0.05$, $P<0.01$). These findings indicate that treadmill exercise improves lipid metabolism disorders, attenuates ileal mucosal barrier injury, and inhibits activation of NF- κ B/NLRP3-related pyroptotic signaling in high-fat diet-fed mice. Its protective effects may be associated with upregulation of tight junction protein expression, reduction of LPS translocation, and suppression of Caspase-1/GSDMD-mediated pyroptosis-related processes.

Keywords high-fat diet; treadmill exercise; pyroptosis; intestinal barrier; tight junction proteins

脂肪是一把“双刃剑”。作为人体必需的能量物质,长期过量摄入脂肪会诱发机体代谢紊乱。随着社会的发展和生活方式的改变,长期摄入高脂膳食导致的肥胖及其相关代谢性疾病已成为威胁人类健康的重要公共卫生难题^[1]。高脂膳食不仅可导致体质量增加、脂质代谢紊乱和慢性低度炎症发生,还与肠道微生态失衡及肠黏膜屏障功能受损密切相关^[2]。近年来,肠道在肥胖发生发展中的作用受到广泛关注,研究认为,肠黏膜屏障损伤是介导高脂膳食、菌群紊乱、内毒素血症和全身炎症反应的重要病理环节^[3]。尤其是在高脂膳食持续刺激下,肠上皮通透性增加可使肠源性脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)进入外周血液循环,进而诱导机体出现慢性炎症和代谢异常,促进肥胖相关并发症的发生发展^[4]。

肠黏膜屏障主要由机械屏障、化学屏障、免疫屏障和生物屏障共同构成,其中由肠上皮细胞及其紧密连接蛋白组成的机械屏障是维持肠道稳态的结构基础^[5]。闭锁小带蛋白-1(zonula occludens-1, ZO-1)、闭合蛋白(occludin)等紧密连接蛋白的完整表达,对于限制腔内细菌产物和有害代谢物跨上皮转运具有重要意义。已有研究表明,高脂膳食可通过改变肠道菌群组成、促进氧化应激并破坏紧密连接结构,最终导致肠道屏障完整性下降和代谢性内毒素血症形成^[6]。因此,从肠黏膜屏障损伤角度阐明高脂膳食相关肠道病理变化的内在机制,对于认识肥胖相关炎症反应具有重要意义。除紧密连接破坏外,细胞焦亡作为一种炎症性程序性细胞死亡方式,近年来被

认为是肠道炎症损伤发生的重要机制之一^[7]。经典细胞焦亡途径通常由NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD-like receptor pyrin domain-containing protein 3, NLRP3)炎性小体活化介导,活化的NLRP3炎性小体可诱导Caspase-1自我切割并活化,活化后的Caspase-1裂解GSDMD(gasdermin D)产生N-端活性片段GSDMD-N。该片段可在细胞膜上形成膜孔,同时可促进白细胞介素-18(interleukin-18, IL-18)等促炎细胞因子的成熟与释放,从而放大局部炎症反应^[8]。研究表明,NLRP3炎性小体及其介导的细胞焦亡在多种消化系统疾病及肥胖相关炎症中均发挥重要作用,其上游信号分子还与TLR4/NF- κ B等炎症信号通路密切相关^[9-10]。因此,细胞焦亡可能是高脂膳食诱导肠黏膜损伤和炎症反应持续存在的关键分子基础之一。

运动干预是防治肥胖及代谢性疾病的重要非药物手段。既往研究表明,规律运动不仅能够抑制高脂膳食诱导的肥胖表型的形成,还可改善肠道菌群组成、提高肠上皮完整性并上调ZO-1、occludin等紧密连接蛋白表达^[11]。研究发现,中等强度跑台运动能够改善高脂膳食小鼠肠道屏障功能,降低肠道通透性,并通过SESN2/AMPK α 1/HIF-1 α 等通路发挥保护作用^[12]。与此同时,运动还可在肥胖相关病理状态下抑制脂肪组织NLRP3炎性小体活化,减轻炎症反应^[13]。然而,跑台运动是否能够通过调控肠组织NF- κ B/NLRP3相关细胞焦亡途径,改善高脂膳食小鼠肠黏膜屏障功能,仍有待进一步明确。

基于此,本研究对小鼠进行高脂膳食喂养,并设置跑台运动干预。通过检测小鼠体质量、血脂水平、回肠组织形态学改变情况、肠道屏障相关蛋白表达以及NF- κ B/NLRP3/Caspase-1/GSDMD等细胞焦亡相关分子的水平,比较各组指标差异,系统评价跑台运动对高脂膳食小鼠肠黏膜屏障功能和细胞焦亡相关过程的影响,以期运动防治肥胖相关肠道损伤提供实验依据和理论支持。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

本研究以30只2月龄SPF级雄性C57BL/6J小鼠为实验对象,所有小鼠均购自常州卡文斯实验动物有限公司,其生产许可证号为SCXK(苏)2021-0013。适应性饲养7 d后,采用随机分组方法将小鼠分为正常对照组(WT组)、高脂膳食组(HFD组)和高脂膳食运动组(HFD-EX组)(图1),每组10只。所有实验小鼠均饲养于SPF级屏障环境中,WT组提供普通饲料,高脂膳食组提供胆固醇含量为0.15%、脂肪含量为60%的高脂肪饲料,所有小鼠均自由摄取饲料和饮水。所有实验动物均于22~25 °C条件下饲养,饲养环境设置为12 h光照、12 h黑暗的光暗循环模式。实验实施全过程严格遵循动物实验伦理准则,相关

方案已通过福建师范大学动物伦理委员会审核批准(批准号:20250410)。

1.2 主要试剂

本研究所用小鼠高脂饲料(货号:Boaigang-12492M)购自北京博爱港生物技术有限公司。4%多聚甲醛固定液(货号:P0099)购自上海碧云天生物科技股份有限公司。在血脂相关检测试剂中,甘油三酯(triglyceride, TG)和总胆固醇(total cholesterol, TC)测定试剂盒(货号:A110-1-1、A111-1-1)购自南京建成生物工程研究所;高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)、二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)及LPS ELISA检测试剂盒(货号:RX200220M、RX202979M、RX201098M、JRXW202535)购自泉州睿信生物科技有限公司。Western blot实验所用抗体包括NF- κ B、NLRP3、Caspase-1、GSDMD、IL-18(货号:80979-1-RR、30109-1-AP、87271-4-RR、80918-1-RR、30587-1-AP)均购自武汉三鹰生物技术有限公司;GSDMD-N(货号:A24059)购自武汉爱博泰克生物科技股份有限公司。另外,苏木精-伊红(hematoxylin and eosin, HE)染色试剂盒(货号:G1076)、RIPA裂解液(货号:G2002)、cocktail蛋白酶抑制剂(货号:G2006-250UL)、BCA蛋白定量试剂

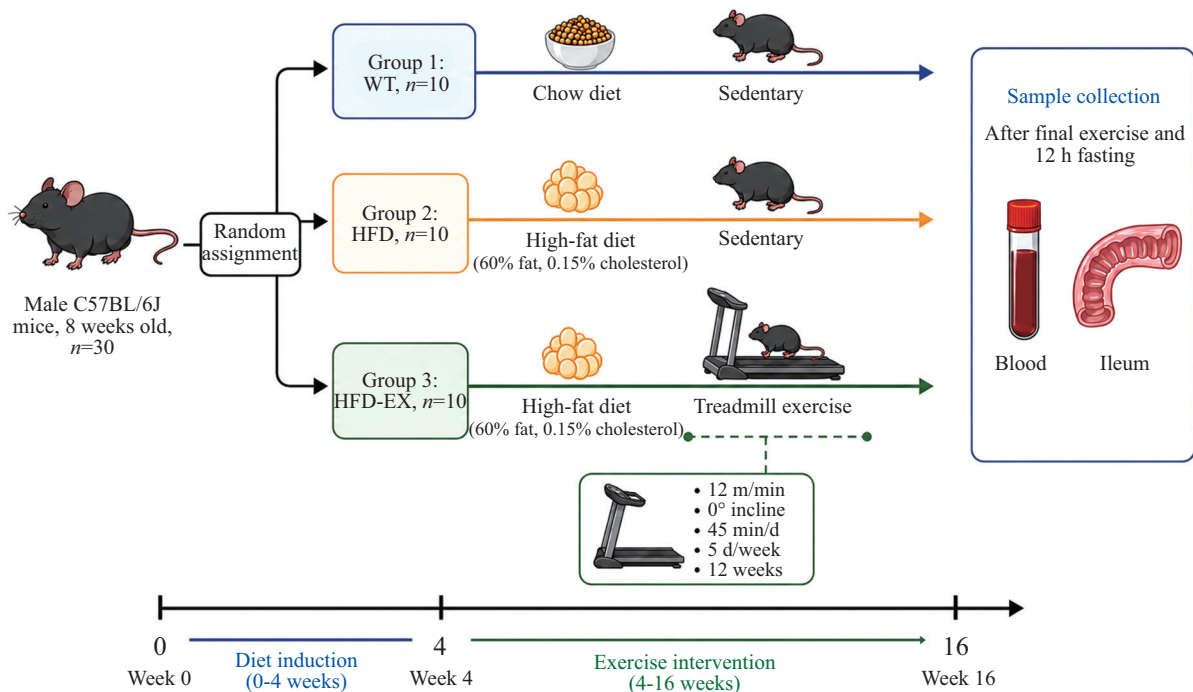


图1 实验设计

Fig.1 Experimental design

盒(货号: G2026-200T)和ECL化学发光检测试剂盒(货号: G2074-50ML)均购自武汉赛维尔生物科技有限公司。

1.3 主要实验仪器

主要仪器包括: 动物实验跑台(KW-PT-6型, 南京卡尔文生物科技有限公司)、高速冷冻离心机(ALX-20R型, 青岛澳柯玛生物医疗有限公司)、酶标仪(Multiskan FC型, ThermoFisher Scientific公司, 美国)、垂直电泳仪(DY CZ-24DN型, 北京六一生物科技有限公司)、切片机(RM2235型, Leica Biosystems公司, 德国)、倒置荧光显微镜(DMi8型, Leica Microsystems公司, 德国)、化学发光凝胶成像系统(ChemiDoc XRS+型, Bio-Rad Laboratories公司, 美国)。

1.4 运动方案

参考既往高脂膳食小鼠中等强度跑台运动干预研究, 并结合本研究小鼠运动耐受情况设置运动方案^[14-15]。如图1所示, 小鼠达3月龄时, 高脂膳食运动组(HFD-EX)小鼠接受12周跑台训练, 训练速度为12 m/min, 坡度设为0°, 每周5次, 每次持续45 min。同期, WT组和HFD组小鼠不进行运动干预, 仅维持日常笼养状态。为尽量排除操作及环境因素干扰, 运动干预期间将WT组和HFD组小鼠置于静止跑台上进行同步处理。

1.5 取材

所有小鼠完成最后一次运动干预后禁食12 h, 禁食期间自由饮水。次日我们采用异氟烷对小鼠进行麻醉后采集血液标本, 置于含抗凝剂的采血管中, 4 °C条件下以3 000 r/min离心10 min, 分离血浆后取上清, 置于-80 °C冰箱保存备用。与此同时, 迅速取出小鼠回肠组织, 装入冻存管后立即置于液氮中快速冷冻, 随后将其转移至-80 °C冰箱长期保存。此外, 每组随机选取4只小鼠($n=4$), 截取相同部位的回肠组织, 置于4%多聚甲醛中室温固定48 h, 再按常规方法进行石蜡包埋及切片制备。

1.6 HE染色

固定后的小鼠($n=4$)回肠组织按照常规石蜡制片流程进行处理, 依次完成脱水、透明、浸蜡和包埋操作, 随后连续切取厚度为5 μm 的组织切片。切片经脱蜡及复水处理后, 进行HE染色。染色完成后, 室温条件下, 切片依次经75%、85%、95%乙醇和无水乙醇梯度脱水, 每级1~3 min; 再经二甲苯透明2次, 每次5~10 min; 最后滴加中性树胶封片。

1.7 生化检测

取小鼠($n=6$)血浆, 采用TG、TC试剂盒, 严格按照说明书步骤进行实验操作, 检测血浆TG、TC含量。

1.8 ELISA检测

按照各检测试剂盒的操作说明, 先对小鼠($n=6$)血浆样本按照1:5比例稀释, 随后加入预包被抗体的96孔酶标板中, 并同步设置标准孔与空白孔。样本在37 °C条件下孵育60 min后, 加入对应的酶结合抗体并于37 °C条件下继续孵育30 min。随后加入显色底物进行显色, 在10~15 min内终止反应。最后使用酶标仪在450 nm波长下测定各孔吸光度值, 并结合标准曲线换算血浆中HDL、LDL、DAO和LPS的水平。整个检测过程均严格遵循试剂盒说明书进行。

1.9 免疫荧光检测

取小鼠($n=4$)回肠石蜡切片后, 按常规步骤依次进行脱蜡、复水及抗原修复处理, 并用PBS清洗3次。弃去切片表面残液后, 滴加自发荧光淬灭剂, 室温避光孵育5 min, 随后以流动水充分冲洗。之后滴加BSA封闭液, 在室温下孵育20 min, 以减弱非特异性背景信号。封闭完成后, 分别加入按1:500比例稀释的ZO-1和occludin一抗, 于4 °C条件下孵育过夜。次日避光加入相应二抗(1:500), 在室温下继续孵育1 h。孵育结束后, 再用PBS清洗切片以去除未结合的二抗, 并于低温条件下自然晾干。最后使用含DAPI的抗荧光淬灭封片剂封片, 在荧光显微镜下进行观察和图像采集。

1.10 Western blot

取各组小鼠($n=5$)回肠组织, 按组织质量加入约10倍体积RIPA裂解液, 即每10 mg组织加入约100 μL RIPA裂解液, 并按裂解液:蛋白酶抑制剂=100:1的比例加入蛋白酶抑制剂混合液, 充分匀浆裂解后4 °C、12 000 r/min离心15 min, 收集上清作为总蛋白样本。随后依据BCA蛋白定量试剂盒说明书测定各样本蛋白浓度。完成定量后, 依次开展SDS-PAGE电泳分离、转膜及封闭处理, 并于4 °C条件下加入一抗孵育过夜。所用一抗分别为NF- κB (1:5 000)、NLRP3(1:2 000)、Caspase-1(1:2 000)、GSDMD(1:1 000)、GSDMD-N(1:70 000)、IL-18(1:1 000)和GAPDH(1:50 000)。次日使用PBST洗膜3次, 每次10 min, 随后加入按1:5 000稀释的二抗, 在室温振荡条件下孵育1 h。孵

育结束后再次以PBST洗膜3次, 每次10 min, 最后采用ECL化学发光试剂进行显色, 并借助化学发光凝胶成像系统(ChemiDoc XRS+型)完成条带曝光与图像采集。

1.11 统计学分析

实验结果均以均值 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 数据处理与图形绘制均在GraphPad Prism 9.0软件中完成。正式进行组间比较前, 先对各组数据实施正态性检验及方差齐性检验。对于满足正态分布且具备方差齐性的资料, 采用单因素方差分析进行总体比较, 并在此基础上使用LSD法开展事后多重比较。 $P<0.05$ 为差异具有显著性, $P<0.01$ 为差异具有极显著性。

2 结果

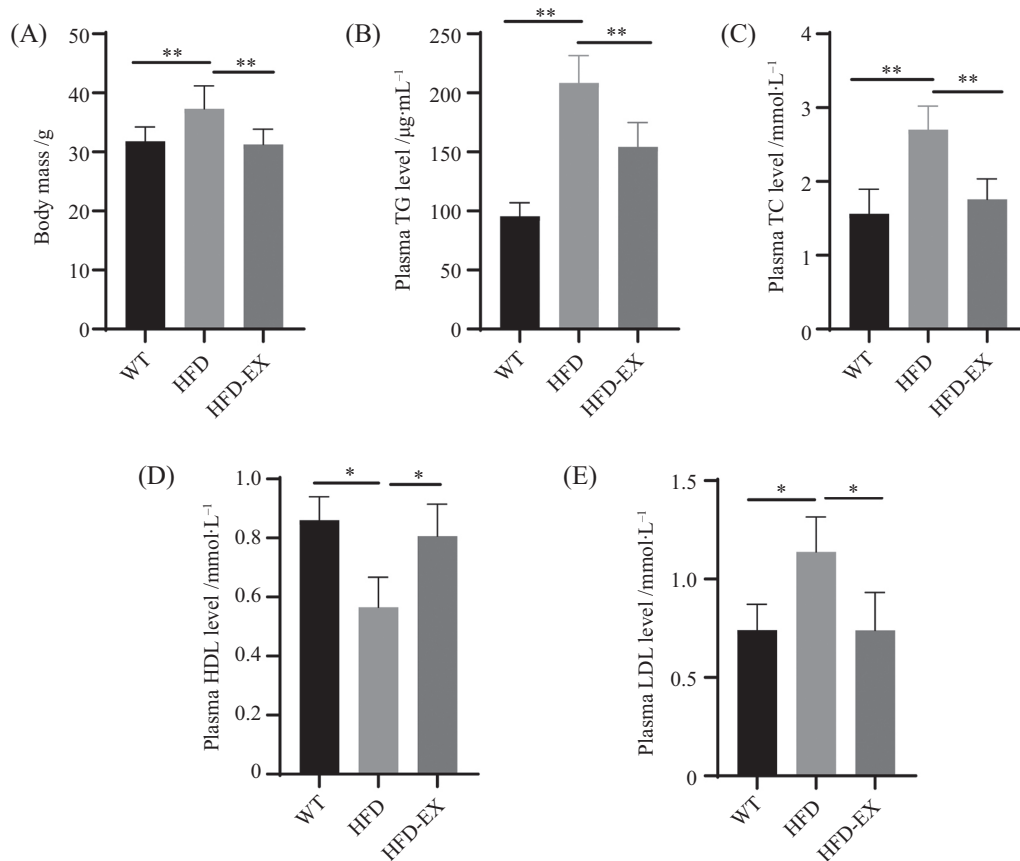
2.1 跑台运动对高脂膳食小鼠体质量和血脂的影响

如图2所示, 与WT组相比, HFD组小鼠体质量显

著增加($P<0.01$), 血浆TG、TC及LDL水平均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 而HDL水平显著降低($P<0.05$), 提示高脂膳食成功诱导了小鼠体质量增加及血脂代谢紊乱。与HFD组相比, HFD-EX组小鼠体质量明显下降($P<0.01$), 血浆TG、TC及LDL水平显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$), HDL水平显著升高($P<0.05$)。整体来看, 跑台运动可明显逆转高脂膳食诱导的体质量增加及血脂代谢异常。

2.2 跑台运动对高脂膳食小鼠血浆肠道屏障相关指标的影响

如图3所示, 与WT组相比, HFD组小鼠血浆DAO水平显著升高($P<0.01$), 血浆LPS水平显著升高($P<0.01$), 提示高脂膳食可诱导肠黏膜屏障功能受损, 并促进LPS入血。与HFD组相比, HFD-EX组小鼠血浆DAO和LPS水平均明显下降($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 表明跑台运动能够减轻高脂膳食诱导的肠黏膜屏障损伤及代谢性内毒素血症。

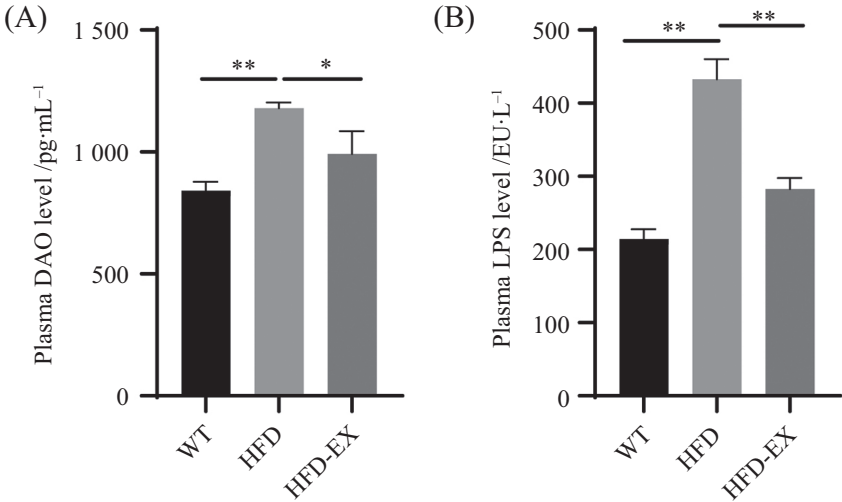


A: 小鼠体质量; B: 血浆TG水平; C: 血浆TC水平; D: 血浆HDL水平; E: 血浆LDL水平。 $\bar{x}\pm s$, $n=6$, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

A: body mass of mice; B: plasma TG level; C: plasma TC level; D: plasma HDL level; E: plasma LDL level. $\bar{x}\pm s$, $n=6$. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

图2 小鼠体质量和血脂检测结果

Fig.2 Body mass and blood lipid profiles in mice



A: 血浆中DAO水平; B: 血浆中LPS水平。 $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。 * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。
A: plasma DAO concentration; B: plasma LPS concentration. $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。 * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

图3 小鼠血浆肠道屏障相关指标表达水平

Fig.3 Expression levels of plasma biomarkers associated with intestinal barrier function in mice

2.3 跑台运动对高脂膳食小鼠回肠组织病理学形态的影响

如图4所示, WT组回肠组织黏膜结构完整, 绒毛排列较规则, 形态饱满且连续, 未见明显组织学损伤。与WT组相比, HFD组回肠黏膜结构发生改变, 表现为绒毛宽度降低、高度增加且排列紊乱, 回肠黏膜上皮变薄, 提示高脂膳食可导致回肠组织形态学异常。与HFD组相比, HFD-EX组回肠黏膜上皮变厚, 绒毛排列较为整齐, 组织结构损伤较HFD组有明显缓解。上述结果表明, 跑台运动可在一定程度上缓解高脂膳食诱导的回肠组织形态学损伤。

2.4 跑台运动对高脂膳食小鼠回肠紧密连接蛋白表达的影响

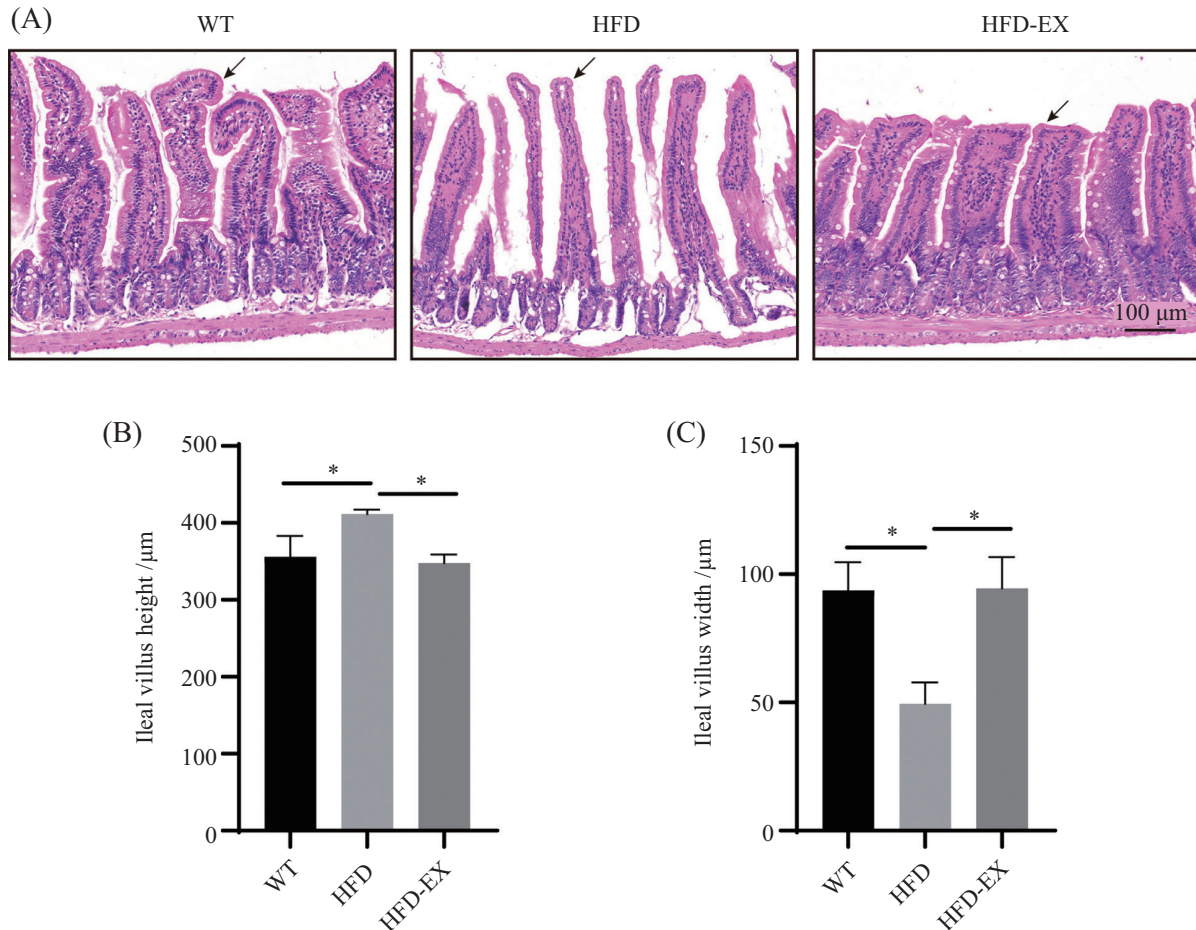
如图5所示, WT组回肠组织中紧密连接蛋白ZO-1和occludin荧光信号分布连续、完整, 主要定位于回肠黏膜上皮细胞间紧密连接区域, 提示肠黏膜屏障结构完整。与WT组相比, HFD组ZO-1和occludin荧光信号明显减弱, 连续性受损, 定量分析显示两者荧光面积百分比均显著下降($P<0.01$), 提示高脂膳食可导致肠上皮紧密连接结构破坏及屏障功能受损。与HFD组相比, HFD-EX组ZO-1和occludin荧光信号水平明显增强($P<0.01$), 信号连续性有所恢复, 表明跑台运动可明显减轻高脂膳食诱导的肠道屏障损伤。

2.5 跑台运动对高脂膳食小鼠回肠NF- κ B/NLRP3及细胞焦亡相关蛋白的影响

如图6所示, 与WT组相比, HFD组回肠组织中NF- κ B、NLRP3、Caspase-1、GSDMD、GSDMD-N及IL-18蛋白表达水平均明显升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 提示高脂膳食可显著激活炎症反应并促进细胞焦亡相关分子表达。与HFD组相比, HFD-EX组上述蛋白表达水平均显著下降($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 这表明跑台运动能够有效抑制高脂膳食诱导的炎症小体相关通路异常活化, 减轻高脂膳食诱导的焦亡相关炎症反应。

3 讨论

从整体代谢水平看, 本研究中HFD组小鼠表现出明显的体质量增加和脂质代谢紊乱, 具体表现为TG、TC和LDL水平升高, HDL水平下降, 而运动干预后上述指标得到明显改善, 说明跑台运动对高脂膳食诱导的体质量增加和脂质代谢紊乱具有良好的改善作用。既往研究已表明, 规律运动不仅能够降低高脂膳食小鼠的肥胖程度, 还可同步调节肠道微生物生态及肠道屏障相关指标。Santana-Oliveira等^[16]报道, 中等强度跑台运动可明显减轻高脂膳食小鼠的肥胖程度, 并上调肠组织ZO-1等紧密连接蛋白的基因表达; Campbell等^[17]也提出, 即使在高脂膳食背景



A: 小鼠回肠组织HE染色代表性图像, 黑色箭头指示绒毛上皮; B: 小鼠回肠组织绒毛高度量化统计结果; C: 小鼠回肠组织绒毛宽度量化统计结果。 $\bar{x} \pm s, n=4, *P<0.05$ 。

A: representative images of HE staining in mouse ileum tissue; black arrows indicate the villus epithelium; B: quantitative analysis of ileal villus height in mouse ileum tissue; C: quantitative analysis of ileal villus width in mouse ileum tissue. $\bar{x} \pm s, n=4, *P<0.05$.

图4 小鼠回肠组织病理学形态

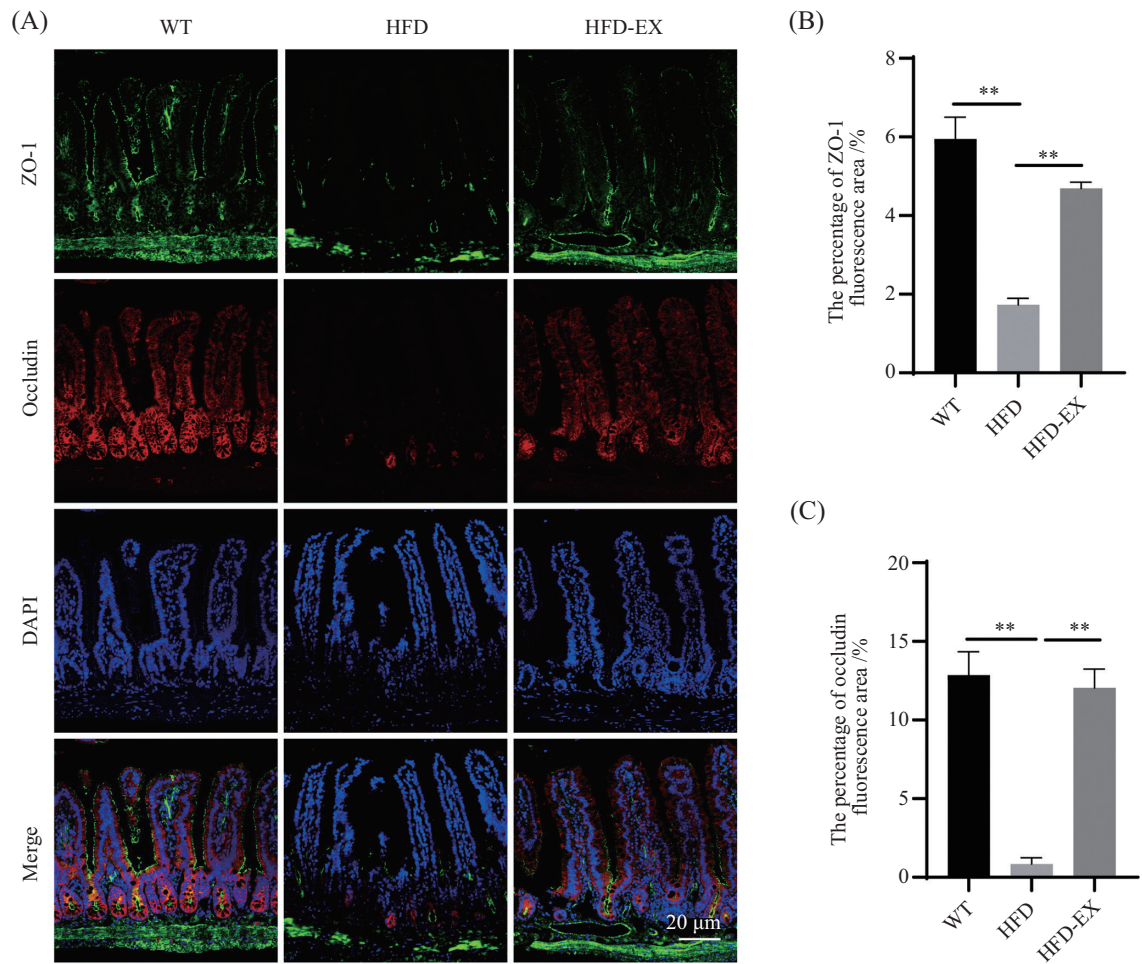
Fig.4 Histopathological changes in mouse ileum tissue

下, 运动仍可保护肠道形态与完整性并减轻系统性炎症。但运动对肠道屏障的保护, 是建立在全身代谢获益之上, 还是单纯的局部组织效应, 尚不清楚。

此外, 高脂膳食导致小鼠血浆DAO和LPS水平升高, 且伴随回肠绒毛紊乱、黏膜上皮变薄、ZO-1和occludin表达下调, 这表明高脂膳食可诱导肠黏膜屏障受损。Nascimento等^[18]发现, 高脂膳食可在糖代谢异常和明显内毒素血症发生前, 首先破坏近端小肠紧密连接介导的旁细胞屏障; Miranda等^[19]进一步指出, 慢性高脂膳食可随时间推移诱导肠道菌群失衡、内毒素血症以及形态学和功能屏障异常。由此可见, 肠道屏障损伤很可能是高脂膳食相关代谢异常中的早期和关键事件。本研究中运动显著降低DAO和LPS的水平, 并恢复ZO-1、occludin表达水

平, 说明跑台运动既改善了肠黏膜结构, 也降低了肠源性炎症刺激的水平, 增强了肠黏膜的屏障功能。值得注意的是, 高脂膳食诱导的肠道形态改变并非完全一致。有文献发现, 高脂膳食诱导的肠道损伤常表现为绒毛萎缩、变短、稀疏、排列紊乱甚至脱落^[20-21]。Baldassano等^[22]发现, 高脂膳食14周可显著增加小鼠十二指肠和空肠绒毛细胞数, Mao等^[23]进一步报道, 营养过剩可通过促进肠上皮增殖, 进而增加绒毛长度并促进营养吸收。这些研究提示, 高脂膳食对小肠绒毛结构的影响并非单一方向, 而可能存在损伤性萎缩和代偿性增生两种不同表现, 其差异可能与动物品系、年龄、脂肪供能比例、干预时间以及取材肠段有关, 值得后续进一步研究确认。

细胞焦亡是一种典型的炎症性程序性细胞死



A: 小鼠回肠组织中ZO-1和occludin的免疫荧光代表性图像; B: 小鼠回肠组织ZO-1的荧光面积百分比; C: 小鼠回肠组织occludin的荧光面积百分比。 $\bar{x} \pm s$, $n=4$, $**P<0.01$ 。

A: representative immunofluorescence images showing ZO-1 and occludin expression in mouse ileum tissue; B: the percentage of ZO-1 fluorescence area in mouse ileal tissue; C: the percentage of occludin fluorescence area in mouse ileal tissue. $\bar{x} \pm s$, $n=4$, $**P<0.01$ 。

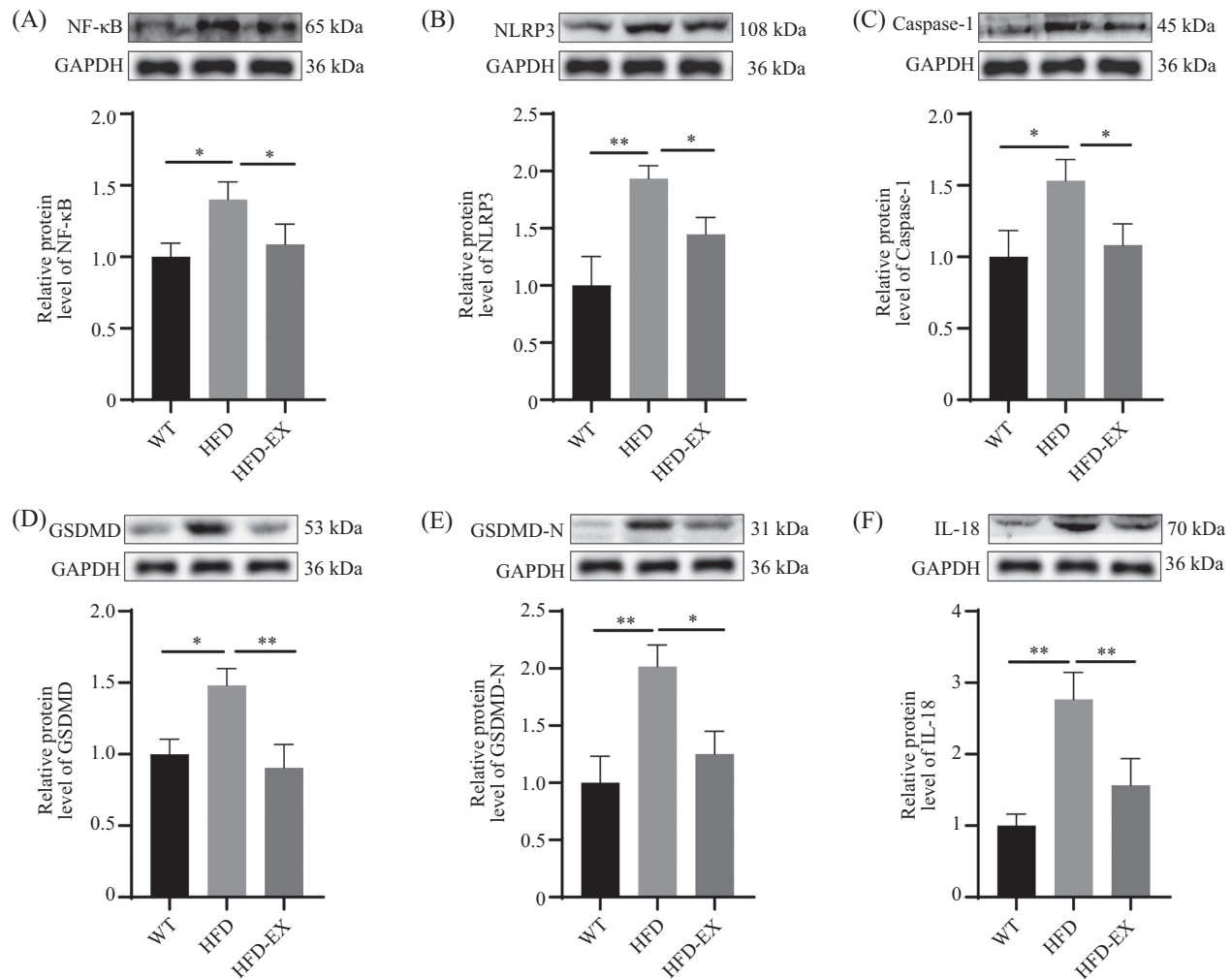
图5 免疫荧光检测小鼠回肠组织紧密连接蛋白的表达情况

Fig.5 Immunofluorescence staining of tight junction proteins in mouse ileum tissue

亡方式,其经典途径通常包括炎性小体激活、Caspase-1切割GSDMD并产生GSDMD-N,随后细胞膜形成孔道,促进IL-1 β 和IL-18等促炎细胞因子成熟与释放,最终造成炎症放大与组织损伤^[24-25]。在本研究中,HFD组Caspase-1、GSDMD及GSDMD-N表达水平均升高,且IL-18同步上调,提示高脂膳食诱导的回肠损伤不仅是一般性炎症反应增强,更可能涉及经典炎性小体依赖的焦亡过程。运动干预后上述蛋白表达整体下调,则提示跑台运动可能通过抑制炎性小体过度活化,减轻焦亡样炎症损伤。

已有研究表明,NLRP3炎性小体及其介导的细胞焦亡在肠道炎症及多种消化系统疾病的发生发展中具有重要作用,且其经典活化通常依赖于TLR4/NF- κ B

介导的预激活过程^[26]。Mardare等^[27]发现,运动可抑制高脂膳食小鼠脂肪组织NLRP3炎性小体活化,并减轻全身炎症反应;Yang等^[28]也发现,运动可抑制高脂膳食小鼠肝脏NLRP3的表达,并减轻细胞焦亡。表明在高脂诱导的代谢紊乱中,运动具有抑制炎性小体的作用。此外,D'Antongiovanni等^[29]近期研究发现,肠胶质细胞NLRP3炎性小体直接参与饮食性肥胖所致的肠黏膜屏障异常。这与本研究在高脂膳食小鼠回肠组织中观察到NLRP3水平显著升高一致,提示NLRP3可能不仅是炎症标志物,更是推动肥胖相关肠道屏障损伤的重要效应分子。在本研究中,运动可降低高脂膳食小鼠血浆LPS水平,提示肠道屏障功能增强,肠源性炎症刺激减弱;而LPS



A~F: 小鼠回肠组织NF-κB、NLRP3、Caspase-1、GSDMD、GSDMD-N、IL-18蛋白相对表达水平。x̄±s, n=5, *P<0.05, **P<0.01。

A~F: relative protein levels of NF-κB, NLRP3, Caspase-1, GSDMD, GSDMD-N, and IL-18 in mouse ileum tissue. x̄±s, n=5, *P<0.05, **P<0.01.

图6 小鼠回肠组织NF-κB/NLRP3及细胞焦亡相关蛋白表达水平

Fig.6 Expression levels of NF-κB/NLRP3 signaling- and pyroptosis-related proteins in mouse ileum tissue

正是TLR4/NF-κB介导炎性小体预激活的重要触发因子之一^[30], 因此运动可能通过减少LPS进而抑制NF-κB/NLRP3信号。此外, 已有研究提示, 运动可通过重塑肠道菌群组成及其代谢物谱, 增加短链脂肪酸等有益代谢物, 并改善胆汁酸与氧化三甲胺(trimethylamine *N*-oxide, TMAO)相关代谢, 从而间接抑制TLR4/NF-κB/NLRP3相关炎症信号^[31-32]。因此, 肠道菌群及其代谢物可能是运动抑制炎性小体过度活化的重要中介环节, 但本研究未对菌群结构、短链脂肪酸、胆汁酸或其他关键代谢产物进行同步测定, 也缺乏针对菌群的因果性干预证据, 这一问题仍有待在后续研究中进一步被阐明。

按照经典焦亡理论, GSDMD及其裂解片段GSDMD-N水平升高通常提示焦亡执行过程被激活^[33],

这与本研究中HFD组结果一致。但Shi等^[34]在高脂膳食小鼠结肠中发现, 宿主GSDMD在某些情况下通过捕获变形菌门细菌来限制系统性内毒素血症, 提示GSDMD信号并非在所有情境下都只表现为促损伤作用, 其生物学效应可能具有肠段、细胞类型和病程阶段依赖性。在本研究中, HFD组GSDMD/GSDMD-N水平升高并伴随LPS水平升高、紧密连接蛋白表达水平下降和形态学受损, 而运动后这些指标同步被逆转, 因此在本研究的病理背景下, GSDMD更可能代表有害性焦亡被激活。因此, 后续值得通过免疫共定位、细胞分选或基因干预进一步区分GSDMD在上皮细胞、免疫细胞或肠神经胶质细胞中的具体作用, 以避免对其功能作单向度解释。

综上所述, 高脂膳食可引起小鼠回肠黏膜屏障

损伤,并伴随NF- κ B/NLRP3相关焦亡炎症信号激活;跑台运动则可通过调节脂质代谢、减轻肠道屏障损伤并通过抑制Caspase-1/GSDMD介导的焦亡相关过程发挥保护作用。该研究为运动防治高脂膳食相关肠道损伤提供了新的实验依据和理论支持。

参考文献 (References)

- [1] Blüher M. An overview of obesity-related complications: the epidemiological evidence linking body weight and other markers of obesity to adverse health outcomes [J]. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 2025, 27(S2): 3-19.
- [2] Malesza I J, Malesza M, Walkowiak J, et al. High-fat, western-style diet, systemic inflammation, and gut microbiota: a narrative review [J]. *Cells*, 2021, 10(11): 3164.
- [3] Rohr M W, Narasimhulu C A, Rudeski-Rohr T A, et al. Negative effects of a high-fat diet on intestinal permeability: a review [J]. *Advances in Nutrition*, 2020, 11(1): 77-91.
- [4] Pendyala S, Walker J M, Holt P R. A high-fat diet is associated with endotoxemia that originates from the gut [J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(5): 1100-1101.e2.
- [5] Nie H Y, Ge J, Huang G X, et al. New insights into the intestinal barrier through “gut-organ” axes and a glimpse of the microgravity’s effects on intestinal barrier [J]. *Frontiers in Physiology*, 2024, 15: 1465649.
- [6] Zeng N Y, Wu F, Lu J Q, et al. High-fat diet impairs gut barrier through intestinal microbiota-derived reactive oxygen species [J]. *Science China Life Sciences*, 2024, 67(5): 879-891.
- [7] Chao L M, Zhang W J, Feng Y C, et al. Pyroptosis: a new insight into intestinal inflammation and cancer [J]. *Frontiers in Immunology*, 2024, 15: 1364911.
- [8] Huang Y, Xu W, Zhou R B. NLRP3 inflammasome activation and cell death [J]. *Cellular & Molecular Immunology*, 2021, 18(9): 2114-2127.
- [9] Qiang R, Li Y B, Dai X C, et al. NLRP3 inflammasome in digestive diseases: from mechanism to therapy [J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 978190.
- [10] Ahechu P, Zozaya G, Marti P, et al. NLRP3 inflammasome: a possible link between obesity-associated low-grade chronic inflammation and colorectal cancer development [J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9: 2918.
- [11] Wang J, Zhang Q, Xia J, et al. Moderate treadmill exercise modulates gut microbiota and improves intestinal barrier in high-fat-diet-induced obese mice via the AMPK/CDX2 signaling pathway [J]. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 2022, 15: 209-223.
- [12] Yu C X, Liu S J, Niu Y M, et al. Exercise protects intestinal epithelial barrier from high fat diet-induced permeabilization through SESN2/AMPK α 1/HIF-1 α signaling [J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2022, 107: 109059.
- [13] Javaid H M A, Sahar N E, Zhuge D L, et al. Exercise inhibits NLRP3 inflammasome activation in obese mice via the anti-inflammatory effect of meteorin-like [J]. *Cells*, 2021, 10(12): 3480.
- [14] Linden M A, Pincu Y, Martin S A, et al. Moderate exercise training provides modest protection against adipose tissue inflammatory gene expression in response to high-fat feeding [J]. *Physiological Reports*, 2014, 2(7): e12071.
- [15] Li L M, Wei Y, Fang C L, et al. Exercise retards ongoing adipose tissue fibrosis in diet-induced obese mice [J]. *Endocrine Connections*, 2021, 10(3): 325-335.
- [16] Santana-Oliveira D A, Souza-Tavares H, Fernandes-da-Silva A, et al. Exercise prevents obesity by reducing gut-derived inflammatory signals to brown adipocytes in mice [J]. *Journal of Endocrinology*, 2023, 259(1): e230123.
- [17] Campbell S C, Wisniewski P J, Noji M, et al. The effect of diet and exercise on intestinal integrity and microbial diversity in mice [J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0150502.
- [18] Nascimento J C, Matheus V A, Oliveira R B, et al. High-fat diet induces disruption of the tight junction-mediated paracellular barrier in the proximal small intestine before the onset of type 2 diabetes and endotoxemia [J]. *Digestive Diseases and Sciences*, 2021, 66(10): 3359-3374.
- [19] Miranda C S, Santana-Oliveira D A, Vasques-Monteiro I L, et al. Time-dependent impact of a high-fat diet on the intestinal barrier of male mice [J]. *World Journal of Methodology*, 2024, 14(1): 89723.
- [20] Xie Y, Ding F, Di W J, et al. Impact of a high-fat diet on intestinal stem cells and epithelial barrier function in middle-aged female mice [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2020, 21(3): 1133-1144.
- [21] Li S Q, Wang M Q, Li C, et al. Beneficial effects of partly milled highland barley on the prevention of high-fat diet-induced glycometabolic disorder and the modulation of gut microbiota in mice [J]. *Nutrients*, 2022, 14(4): 762.
- [22] Baldassano S, Amato A, Cappello F, et al. Glucagon-like peptide-2 and mouse intestinal adaptation to a high-fat diet [J]. *Journal of Endocrinology*, 2013, 217(1): 11-20.
- [23] Mao J M, Hu X M, Xiao Y, et al. Overnutrition stimulates intestinal epithelium proliferation through beta-catenin signaling in obese mice [J]. *Diabetes*, 2013, 62(11): 3736-3746.
- [24] Liu Y F, Pan R J, Ouyang Y Z, et al. Pyroptosis in health and disease: mechanisms, regulation and clinical perspective [J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2024, 9(1): 245.
- [25] He W T, Wan H, Hu L, et al. Gasdermin D is an executor of pyroptosis and required for interleukin-1 β secretion [J]. *Cell Research*, 2015, 25(12): 1285-1298.
- [26] Arre V, Scialpi R, Centonze M, et al. The ‘speck’-tacular oversight of the NLRP3-pyroptosis pathway on gastrointestinal inflammatory diseases and tumorigenesis [J]. *Journal of Biomedical Science*, 2023, 30(1): 90.
- [27] Mardare C, Kruger K, Liebisch G, et al. Endurance and resistance training affect high fat diet-induced increase of ceramides, inflammasome expression, and systemic inflammation in mice [J]. *Journal of Diabetes Research*, 2016, 2016: 4536470.
- [28] Yang W Q, Liu L, Wei Y, et al. Exercise suppresses NLRP3 inflammasome activation in mice with diet-induced NASH: a plausible role of adropin [J]. *Laboratory Investigation*, 2021, 101(3): 369-380.
- [29] D’Antongiovanni V, Fornai M, Colucci R, et al. Enteric glial NLRP3 inflammasome contributes to gut mucosal barrier alterations in a mouse model of diet-induced obesity [J]. *Acta Physiologica*, 2025, 241(1): e14232.
- [30] Nadatani Y, Huo X, Zhang X, et al. NOD-like receptor protein 3

- inflammasome priming and activation in Barrett's epithelial cells [J]. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 2016, 2(4): 439-453.
- [31] Zhang H, Zhao T, Gu J, et al. Gut microbiota and inflammasome-mediated pyroptosis: a bibliometric analysis from 2014 to 2023 [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15: 1413490.
- [32] Chen J, Jia S H, Xue X X, et al. Gut microbiota: a novel target for exercise-mediated regulation of NLRP3 inflammasome activation [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15: 1476908.
- [33] Zhu C L, Xu S, Jiang R Y, et al. The gasdermin family: emerging therapeutic targets in diseases [J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2024, 9(1): 87.
- [34] Shi Y J, Zou Y X, Xiong Y H, et al. Host Gasdermin D restrains systemic endotoxemia by capturing Proteobacteria in the colon of high-fat diet-feeding mice [J]. *Gut Microbes*, 2021, 13(1): 1946369.