



基于肠道菌群调节的韭菜和魔芋衍生 外囊泡直肠给药缓解小鼠高脂性肥胖*

张雅茹^{1)**} 吴宇佳^{1)**} 梁承邦^{1)**} 于昕禾²⁾ 穆岩^{3,4)} 谭琰^{1)***}⁽¹⁾ 北京中医药大学生命科学学院, 北京 100029; ⁽²⁾ 北京中医药大学岐黄学院, 北京 100029;⁽³⁾ 北京中医药大学中医学院, 北京 100029; ⁽⁴⁾ 国家纳米科学中心, 北京 100190

摘要 **目的** 肥胖作为一种全球性慢性代谢性疾病, 其发生发展与脂代谢紊乱和肠道菌群失调密切相关。当前干预手段在安全性及微生态调节方面仍存在局限, 需探索新型天然来源的调控策略。本研究基于肥胖早期病理特征, 创新性地在高脂饮食诱导肥胖模型的同时, 采用直肠递送方式, 系统评估韭菜与魔芋来源外囊泡对肥胖发展的抑制作用、安全性及肠道菌群调控机制。通过模拟临床早期干预场景, 旨在探索植物外囊泡在肥胖发生起始阶段的预防潜力。**方法** 通过超速离心法和密度梯度离心法分离得到韭菜和魔芋的外囊泡, 并用动态光散射、透射电子显微镜、纳米粒子追踪等对其纳米性质进行表征。动物实验评价韭菜和魔芋外囊泡对于肥胖的改善作用。将雄性 C57BL/6J 鼠随机分为 4 组: 正常对照组 (NC)、高脂模型组 (HFD)、韭菜来源外囊泡干预组 (LEV_s)、魔芋来源外囊泡干预组 (KEV_s)。从高脂饮食喂养开始的同时, 干预组小鼠每 3 d 直肠给予 20 g/L 外囊泡, 持续 4 周。给药干预过程中监测体重、体成分变化, 干预结束后取材, 收集小鼠血清、脂肪及结肠内容物。血清生化指标检测用于判定安全性和代谢调节效果。粪便进行 16S rRNA 扩增子测序, 用于分析肠道菌群结构及多样性。**结果** 动态光散射、纳米颗粒追踪分析和透射电子显微镜证实, 韭菜和魔芋来源外囊泡均呈现典型杯状纳米结构, 平均粒径分别约为 284 nm 和 223 nm。韭菜来源外囊泡和魔芋来源外囊泡处理显著抑制了高脂饮食诱导的体重增长和体脂率升高, 并减少了腹部白色脂肪和附睾脂肪组织的堆积。血清学分析显示, 两种外囊泡均能降低总胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇, 改善肝脏酶学指标, 表现出脂质代谢调控和肝脏保护作用。未观察到肝、肾或心脏功能障碍, 表明其具有良好的安全性。肠道菌群分析显示, 外囊泡干预部分恢复了高脂饮食耗竭的微生物多样性并重塑了群落结构。值得注意的是, 韭菜来源外囊泡显著增加了产短链脂肪酸、增强肠道屏障功能的有益菌毛螺菌 (Lachnospiraceae) 在科水平上的相对丰度。此外, 通过重建未观测状态进行群落系统发育研究 (Phylogenetic Investigation of Communities by Reconstruction of Unobserved States, PICRUST) 功能预测提示, 韭菜来源外囊泡和魔芋来源外囊泡通过不同机制调节肠道微生物功能, 韭菜来源外囊泡下调了核糖体和 DNA 复制相关通路, 同时增强了外源物降解通路; 而魔芋来源外囊泡则倾向于将能量代谢和蛋白质合成相关通路上调至健康水平。**结论** 本研究成功从韭菜和魔芋中分离得到其外囊泡。动物实验结果显示, 韭菜与魔芋来源的外囊泡通过直肠给药在肥胖早期具有良好安全性和显著代谢干预效果, 可抑制高脂模型的体重增长, 改善脂代谢紊乱, 并通过调控肠道菌群结构发挥作用。本研究为植物源性外囊泡作为肥胖早期干预策略提供了系统实验依据。

关键词 肥胖, 代谢, 植物外囊泡, 韭菜, 魔芋, 肠道菌群**中图分类号** Q93, R363**DOI:** 10.3724/j.pibb.2026.0039**CSTR:** 32369.14.pibb.20260039

当前, 肥胖已不再被视为一种单纯的外表体征改变, 而是被世界卫生组织明确定义为一种复杂的慢性代谢性疾病^[1]。随着现代生活方式的剧变, 高热量饮食的普及与静态生活行为的常态化, 肥胖及其并发症——包括 2 型糖尿病、非酒精性脂肪性肝病、心血管疾病乃至特定类型的癌症, 正以惊人

的速度演变为全球性的健康海啸^[2]。其病理生理

* 国家自然科学基金 (82374175) 资助项目。

** 并列第一作者。

*** 通讯联系人。

Tel: 010-53912177, E-mail: yantan@bucm.edu.cn

收稿日期: 2026-01-25, 接受日期: 2026-05-05

机制极其复杂, 核心在于能量摄入与消耗的长期失衡, 进而诱发全身性的慢性低度炎症 (chronic low-grade inflammation) 以及胰岛素抵抗, 最终导致多器官功能的代谢紊乱^[3]。常规的抗肥胖治疗方法副作用大, 对身体损伤较大^[4]。近十几年, 肠道菌群-宿主代谢轴的提出为肥胖干预提供了新思路^[5]。大量临床与动物研究证实, 厚壁菌/拟杆菌比例升高、产短链脂肪酸 (short-chain fatty acid, SCFA) 菌减少等菌群结构失衡现象可直接促进能量过度吸收、慢性低度炎症及胰岛素抵抗; 相反, 通过益生元、益生菌或菌群移植等方式重建微生态, 可以在不限制热量的情况下显著降低体重和体脂, 同时无明显毒副作用, 兼具安全性、有效性的双重优势^[6-7]。尽管如此, 活菌制剂的稳定性、定殖率及转基因争议仍是临床转化的障碍。

在中医理论体系中, 肥胖的根本原因之一在于“阳气不足, 气化无力”。肾阳为一身阳气之本, 阳虚则不能温煦推动气血运行, 导致水湿停聚化为膏脂。韭菜 (leek, *Allium tuberosum*), 性温味辛, 素有“起阳草”之称, 归肾、肝经, 具有极佳的“温补肾阳、行气理血”之功效。其温热之性可振奋机体阳气, 加速气血流通^[8]。正如《本草纲目》所言能“除胃热, 解毒”。将其引入肥胖干预, 旨在通过“温阳”来提升机体的基础代谢率, 解决肥胖“代谢低下”的根本问题^[9]。从现代药理学角度看, 韭菜富含硫化物 (如二烯丙基二硫醚)、黄酮类化合物及皂苷^[10]。已有研究表明, 韭菜提取物能够通过上调解偶联蛋白1 (uncoupling protein-1, UCP-1) 的表达, 促进白色脂肪棕色化 (browning of white adipose tissue), 增加产热消耗^[11], 这与中医“温阳化气”的理论不谋而合。此外, 其特有的硫化物成分还具有显著的抗炎与抗氧化作用^[12], 有助于改善与肥胖相关的慢性炎症状态。

中医认为, 肥胖的病理产物为“痰湿”与“浊毒”。膏脂堆积日久, 酿生痰浊, 阻滞经络^[9]。魔芋 (konjac, *Amorphophallus konjac*), 性寒味辛, 具有“化痰散结、解毒通脉、行瘀消肿”之功, 是治疗“痰核积聚”的要药, 直指肥胖“脂质堆积”的病理核心。现代科学研究证实, 魔芋块茎富含魔芋葡甘露聚糖 (*Konjac glucomannan*, KGM), 这是一种优质的可溶性膳食纤维^[13]。KGM在进入肠道后能吸水膨胀, 形成高黏度的凝胶网状结构, 不仅能物理性地包裹胆固醇和甘油三酯, 阻断其在肠道的吸收, 还能作为优质益生元被肠道细菌发酵产

生丁酸等 SCFA^[14]。

然而, 直接将韭菜和魔芋作为膳食干预存在关键瓶颈: 一方面, 其活性成分 (如硫化物、KGM) 口服后易受胃酸破坏、酶解降解, 生物利用度低; 另一方面, 有效成分在小肠即被吸收, 难以精准到达菌群最为丰富的结肠部位发挥微生态调节作用。因此, 亟须探索能够保护活性成分、实现结肠靶向递送的新型给药策略。

植物外泌体囊泡 (plant derived exosome-like vesicles, PDEVs) 作为天然的纳米载体, 其内载 miRNA、蛋白质及脂质等活性分子, 近年来被证实在调节代谢和菌群相互作用中发挥关键作用, 成为代谢性疾病干预的新靶点^[15]。与直接进行菌群调控相比, 植物源外囊泡作为干预手段具有纳米尺寸可控、生物相容性高、免疫原性低、经济性等独特优势, 且避免了抗生素耐药或基因水平转移风险, 为开发“下一代微生态调节剂”提供了理想载体^[16]。

尽管韭菜来源外囊泡 (leek-derived extracellular vesicles, LEVs) 与魔芋来源外囊泡 (konjac-derived extracellular vesicles, KEVs) 富含上述理论上的活性成分, 但将其转化为有效的治疗制剂仍面临巨大的生理屏障挑战。常规的口服途径虽然便捷, 但口服不仅会让外囊泡暴露于胃酸的强酸环境和胰液的酶解攻击下, 导致其脂质膜结构破坏、内含 miRNA 及活性蛋白质降解, 从而极大地降低生物利用度^[17]。而且, 大部分有效成分可能在到达结肠前即被小肠吸收或代谢, 无法精准作用于肠道菌群最为丰富的结肠部位。

针对上述瓶颈, 本研究首次将韭菜与魔芋来源外囊泡应用于肥胖干预, 并提出“植物外囊泡-肠道菌群-宿主代谢轴”早期干预新策略。其核心创新体现在两个方面。第一个方面, 本研究选择干预时机是在造模的开始, 在高脂饮食 (high fat diet, HFD) 诱导肥胖的同时开始给药, 模拟早期干预场景, 以评估其在肥胖发生起始阶段的阻断作用; 第二方面, 本研究的给药途径采用直肠递送, 有效规避口服途径中胃酸与消化酶对外囊泡结构的破坏, 确保囊泡以完整形态直接抵达结肠菌群富集区域, 最大化其微生态调控效能。本研究通过 HFD 诱导的肥胖小鼠模型, 系统评估了直肠递送 LEVs 与 KEVs 的干预效果, 并初步探讨了其通过调节肠道菌群影响宿主代谢的潜在机制。作为一项探索性研究, 本研究未设置常规抗肥胖药物作为阳性对照,

旨在验证植物源外囊泡作为新型干预手段的可行性。后续研究将在确认其有效性的基础上,进一步与现有疗法进行头对头比较。此外,尽管尚未深入细胞与分子层面的机制探讨,本研究为后续相关机制验证提供了整体动物水平的实验基础。推测,LEV_s与KEV_s将发挥类似益生元的作用,促进有益菌的增殖。这些菌群不仅能产生大量的丁酸,降低肠道pH值,抑制病原菌生长,还能从源头上减少机体对能量的过度榨取。本文系统评估LEV_s与KEV_s对体重增长、体脂积累、血清代谢指标及肠道菌群结构的影响,旨在为植物源外囊泡作为安全、可持续的肥胖早期干预手段提供实验依据,并推动“药食同源”资源向精准微生态制剂转化。

1 材料与方法

1.1 外囊泡提取及理化表征

1.1.1 实验仪器

电子天平(METTLER TOLEDO, ME104)、超速离心机(Thermo Fisher Scientific, 75000100)、酶标仪(瑞孚迪, MDspectramax id3)、大容量冷冻离心机(蜀科仪器, LG-21M)、冷冻离心机(Eppendorf, 5417R)、移液枪(Eppendorf, Research@plus)、涡旋混合器(Kylin-Bell, VORTEX-6)、破壁料理机(品罗创新, MPBJ002 PL)、超纯水仪(密理博, Milli-Q EQ 7000)、动态光散射仪(Malvern Panalytical, Zetasizer Advance)、纳米粒度追踪仪器(Malvern Panalytical, NanoSight Pro)、透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)(日立, HT7800)、电泳系统(BIO-RAD, PowerPac HC)、全自动生化分析仪(贝克曼, DxC 700 AU)、体成分分析仪(汇佳生物, EchoMRI-170S)、量筒、烧杯、容量瓶、离心管等玻璃计量仪器均购自北京拜尔迪生物技术有限公司。

1.1.2 实验材料

韭菜、魔芋均采购于超市。H10060高脂饲料购买于北京华阜康生物科技有限公司。二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白质浓度测定试剂盒(兰博利德, B5001)、氯化钠注射液(四药, 国药准字 H13022600)、磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)(干粉)(赛维尔, G0002-15)、蔗糖(欧北生物, 0B11970)、乙二胺四乙酸二钠(disodium ethylenediamine tetraacetic acid, EDTA)(LHY, 0105)、三羟甲基氨基甲烷(Tris

aminomethane, Tris)(Damas-beta, 82997J)、盐酸(通广, AR 500 ml)、氯化钠(兰博利德, X190-500 g)、异氟烷(瑞沃德, 粤兽药广审 44030005)、1.5 ml离心管(兰博利德, LXG0153)、无菌Millex®-HV针式过滤器(密理博, SLHUR33RB)、一次性使用无菌注射器带针(治宇, 国械注准 20173150338)、超速离心管(贝克曼, 344059)。

1.1.3 实验动物

无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级8周龄雄性C57BL6/J小鼠12只, 购买于北京斯贝福生物科技有限公司。动物饲养于北京中医药大学良乡校区实验动物中心。温度22~25℃, 相对湿度50%~70%, 明暗周期12 h/12 h, 自由采食水, 定期更换清洁垫料。本实验由北京中医药大学动物伦理委员会批准(批准号: BUCM-2025031205-1153)。

1.2 实验方法

1.2.1 差速超速离心法-密度梯度离心法提取外囊泡

将新鲜的韭菜和魔芋洗净, 按照韭菜质量: PBS溶液体积=1: 3、魔芋质量: 缓冲液体积=1: 5(将150 mmol/L NaCl、10 mmol/L Tris-HCl(pH 7.4)、1 mmol/L EDTA以体积比1: 1: 1混合得到缓冲液)用榨汁机破碎, 收集汁液。取果蔬模式冷榨2 min, 等待5 min冷却, 再次冷榨2 min。无菌纱布过滤残渣得到滤液。收集到的滤液。滤液进行下列离心操作, 所有离心均在4℃条件下进行, 4 000g、45 min; 10 000g、90 min。上述离心取上清, 弃沉淀。使用0.45 μm微孔针式滤膜过滤上清。过滤后的上清在4℃ 100 000g条件下离心2 h。离心结束后, 沉淀即为粗提取到的LEV_s及KEV_s。

蔗糖密度梯度离心法纯化KEV_s配制: 8%、15%、40%、60%的蔗糖溶液。按照密度由小到大依次加入超速离心管中。将上述得到的KEV_s用无菌PBS重悬, 加入超速离心管中, 4℃ 100 000g离心2 h。离心结束后吸取40%和60%蔗糖中间的KEV_s富集处。将纯化好的KEV_s加入超速离心管中, 4℃ 100 000g离心1 h, 得到纯度较高的KEV_s, 保存在-80℃冰箱中备用。

1.2.2 动态光散射实验

采用动态光散射(dynamic light scattering, DLS)技术检测LEV_s和KEV_s的粒径分布及分散

性。将超速离心纯化后的 LEVs 和 KEVs 沉淀用 0.22 μm 滤膜过滤的 PBS 重悬。若样品存在聚集现象, 可使用超声波处理。使用相同批次的 PBS 缓冲液作为空白对照, 确保检测环境无颗粒污染。

打开 DLS 仪器, 预热激光器至少 15 min, 确保光源稳定。使用标准乳胶颗粒进行仪器校准, 确保检测准确性。取 LEVs 和 KEVs 悬液各 200 μl 分别加入 2 个石英比色皿, 避免产生气泡。将比色皿放入样品池, 确保光路无遮挡。检测温度线设置为 25°C, 散射角度选择 173°。检测时间: 每次测量自动运行 3~5 次, 10~30 s/次, 取平均值。仪器自动计算 Zeta 电位 (Zeta potential) 和多分散指数 (polydispersity index, PDI)。PDI<0.3 表示样品单分散性良好, >0.5 提示可能存在聚集或杂质。导出粒径分布图, 分析主峰占比。

1.2.3 纳米粒子追踪

采用纳米粒子追踪分析 (nanoparticle tracking analysis, NTA) 技术测定 LEVs 和 KEVs 的粒径分布及颗粒浓度。开启仪器及配套软件后, 确保连接正常。用高洁净度注射器将足量过滤后的 PBS 注入样品池, 检查背景颗粒。理想的背景应为极少或无明显颗粒。使用标准品 100 nm 聚苯乙烯微球进行仪器校准, 确认测量粒径的准确性。

样品上样与聚焦: 使用 1 ml 注射器吸取稀释好的样品, 缓慢注入样品池, 避免产生气泡。在软件中调整显微镜焦距, 直至颗粒轮廓清晰, 呈现为明亮的点状散射光。每次测量会生成粒径分布和颗粒浓度数据。将至少 3 次重复测量的原始数据导出, 并对数据进行处理。

1.2.4 透射电子显微镜观察

取 10 μl 的 LEVs 或 KEVs, 滴加至铜网表面, 室温静置吸附 5 min。用滤纸从铜网边缘小心吸除多余液体。随后, 滴加 10 μl 2% (w/v) 的磷钨酸溶液对样品进行负染色, 染色时间 60 s。再次用滤纸彻底吸除染色液, 将铜网置于洁净环境中室温晾干, 等待上机检验。

将制备好的铜网样品装入样品杆, 使用在 80 kV 加速电压下进行观测。在 10 000 倍镜下随机选取多个视野, 确认颗粒的分布情况; 随后在 100 000 倍镜下, 观察单个 LEVs 和 KEVs 的形态结构并拍摄图像。

1.2.5 蛋白质浓度及分布表征

经过差速超速离心以及密度梯度离心得到的 LEVs 和 KEVs, 加入一定比例的含有蛋白酶抑制剂

的放射免疫沉淀测定 (radio-immunoprecipitation assay, RIPA) 裂解液, 在冰上裂解 15 min。裂解好的样品经过梯度稀释后在 96 孔板中进行检测。按照 BCA 试剂盒上说明的方法, 将试剂 A 和试剂 B 以 50 : 1 的比例配制 BCA 检测工作液, 根据标准曲线计算样品蛋白质浓度, 计算该批次提取到的 LEVs 和 KEVs 的蛋白质浓度, 最后使用无菌 PBS 进行调整至浓度为 20 g/L 用于后续动物实验。

1.2.6 高脂肥胖模型建立及给药干预

将 12 只生长状况相同且健康的 C57BL/6J 雄性小鼠进行尾标标记。使用 RAND 函数进行分组随机分配。肥胖模型使用高脂饲料构建, 在适应性喂养后, 进行高脂饲料喂养 4 周, 并同时给药^[18]。药物干预频次为每 3 d 一次, 共给药 9 次, 持续 4 周。干预手段为灌肠给药, 使用自制的灌肠工具, 排空空气后, 将硅胶软塞头轻柔插入小鼠肛门内约 3 cm, 缓慢进行注射给药, 给药完成后将小鼠倒置 1 min, 确保药液不漏出。NC 组: 使用正常维持饲料, 并不加入任何其他干预手段。HFD 组: 使用高脂饲料进行日常喂养, 并灌肠给予 120 μl 生理盐水作为阴性对照。LEVs 组: 日常饲养使用高脂饲料进行, 药物干预使用灌肠给药, 给予 120 μl 的 LEVs。KEVs 组: 日常饲养使用高脂饲料进行, 药物干预使用灌肠给药, 给予 120 μl 的 KEVs。实验设计模拟了肥胖发生早期的干预场景, 即在诱导肥胖的同时给予干预, 以评估 LEVs 和 KEVs 对肥胖发展的预防或延缓作用, 区别于传统肥胖形成后的治疗性干预。

1.2.7 体重检测、腰围测量及体脂率分析

轻柔地抓取小鼠置于天平上, 待天平示数稳定后, 记录小鼠体质量数值, 精确至 0.01 g, 取出小鼠放回饲养笼, 依次完成其余小鼠的称量操作。每 3 周测量一次小鼠体质量, 并对数据进行统计。

使用柔软、无弹性的测量尺进行腰围测定。轻柔抓取小鼠使其保持仰卧姿势, 身体舒展。测量位置为肋弓下缘与髂骨上缘之间的最细部位。将测量尺水平环绕该处一周, 紧贴皮肤但避免压迫, 读取数值并精确至 0.1 cm。每只小鼠重复测量 2 次, 取平均值作为最终记录。测量完成后, 将小鼠放回饲养笼, 并进行下一只的测量, 直至全部完成。每 3 周测量一次小鼠腰围, 并对数据进行统计。

使用小动物体成分分析仪进行体脂肪测量。测量前, 仪器需提前预热至工作温度并保持稳定, 随后按照制造商指南完成系统校准。测量时, 将清醒

状态的小鼠轻柔置入专用的透气型动物约束管中,保持其身体舒展、姿势稳定,随后平稳移入仪器的检测腔。启动检测程序后,基于核磁共振技术原理,仪器非侵入性地测定每只小鼠的总瘦肉质量(lean mass)和总脂肪量(fat mass)。实验过程中每只动物重复测量3次,取平均值作为最终结果。根据所测得的体脂肪量与同步记录的体质量,进一步计算体脂率(body fat content, BFC),计算公式为: $BFC(\%) = (\text{fat mass}/\text{body mass}) \times 100\%$ 。所有操作在相同环境条件下完成,以最大限度减少测定误差。实验数据随后用于评估不同干预组间身体组成的差异。

1.2.8 脂肪取材

开启气麻机,设置氧气流速0.4 L/min、异氟烷诱导浓度4%,将小鼠放入诱导盒麻醉至肢体松弛无明显体动,随后调至异氟烷维持浓度1.5%~2%,取出小鼠,进行摘眼球取血,取血完毕立刻采用颈椎脱臼法处死小鼠,确认无生命体征后,将其仰卧固定,沿腹中线剪皮肤,从耻骨联合向上至剑突,两侧剪开暴露腹腔,找到腹腔脏器周围白色脂肪组织,用镊子和剪刀分离取下。随后沿腹白线剪开皮肤与腹壁肌肉暴露腹腔,拨开脏器,在肾脏下方找附睾脂肪,用镊子提起、眼科剪分离结缔组织后取下。随后,分离直肠周围组织并剪下。之后,将小鼠背部朝上固定,沿脊柱两侧剪开皮肤暴露背部组织,肩胛间区棕色脂肪多,分离周围组织解剖出,对各部位脂肪进行称重。

1.2.9 生化指标分析

将装有血液的离心管室温静置3 h,再以3 000 r/min离心10 min,轻轻吸取上清即为分离得到的血清。采用全自动生化分析仪测定血清中的相关指标。具体操作如下:取各组小鼠血清样本,严格按照试剂盒说明书设置检测项目与参数。仪器自动完成样本分配、试剂添加与混合,在37℃恒温条件下进行酶促反应。通过光度法检测反应体系的吸光度变化,依据标准曲线自动计算总胆固醇(cholesterol, CHOL)、甘油三酯(triglycerides, TRIG)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein, LDL)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein, HDL)、白蛋白(albumin, ALB)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)、肌酐(creatinine, CREA)、尿素(UREA)、肌酸激酶(creatine

kinase, CK)、肌酸激酶同工酶(creatine kinase muscle type and brain type, CKMB)。

1.2.10 肠道菌群16S rRNA基因测序

取材时,分离结肠并小心取出结肠内容物,每样单独置于1.5 ml EP管中并于-80℃保存。采用试剂盒提取样本基因DNA,并通过琼脂糖凝胶电泳及Nanodrop检测其浓度与纯度。以合格DNA为模板,使用带Barcode的特异引物针对细菌16S rRNA基因V3-V4区,进行PCR扩增。反应体系与循环条件参照试剂盒说明。扩增产物经纯化、定量后,按等摩尔量混合,在Illumina MiSeq平台上进行双端测序。下机数据经质量过滤,去除低质量序列、引物及接头序列后,使用DADA2或USEARCH等流程对序列进行去噪、拼接及去除嵌合体,获得高精度扩增子序列变异。随后,基于Silva或Greengenes数据库对代表性序列进行物种分类学注释。生物信息学分析在QIIME2平台完成,计算Alpha多样性指数(如Chao1、Shannon)以评估群落丰富度与均匀度;通过主成分分析(principal components analysis, PCA)基于Bray-Curtis或UniFrac距离评估组间Beta多样性差异,并利用PERMANOVA进行统计检验。进一步分析组间在门、科、属等水平上的群落结构差异及标志物种。

1.3 统计学分析

实验数据采用统计学软件SPSS 29.0进行分析。数据符合正态分布的多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。统计图用GraphPad Prism 10软件制作。

2 结果与分析

2.1 成功提取LEVs与KEVs并验证其典型纳米囊泡特征

利用差速超速离心法结合密度梯度离心法,成功从新鲜韭菜与魔芋块茎中分离出LEVs和KEVs(图1a)^[19]。DLS结果显示,LEVs粒径分布为(284.31±167.49) nm(图1b),KEVs粒径分布为(223.42±69.97) nm(图1c),符合外囊泡的纳米分布^[20]。Zeta电位是评价外囊泡稳定性的重要指标,实验结果发现,LEVs的Zeta电位为-16.47 mV,KEVs的Zeta电位为-26.40 mV(图1d)。NTA实验显示,LEVs粒径分布为(203.31±31.15) nm(图1e),纳米粒数约 2.1×10^9 个/ml。KEVs粒径分布为(223.42±69.97) nm(图1f),纳米粒数约 2.4×10^9 个/ml。通过TEM成像发现,LEVs和KEVs均

具有外囊泡经典的杯盏式结构, 观测结果符合预期^[21] (图 1g, h)。上述表征结果证明, 本研究采用的方法能够有效提取并获得高纯度、具有典型纳米囊泡特征的 LEVs 和 KEVs。

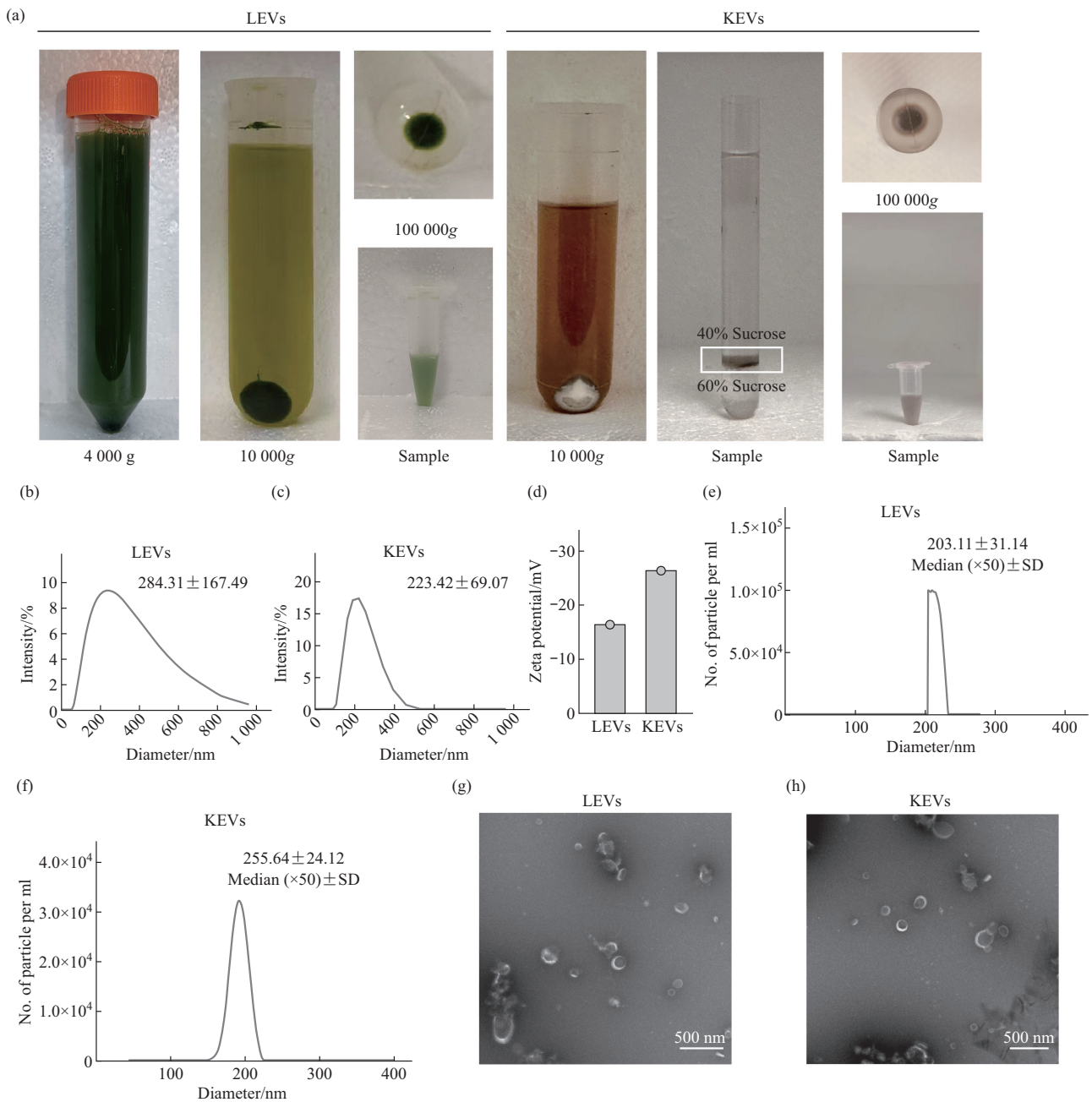


Fig. 1 Extraction and characterization of LEVs and KEVs

(a) Schematic diagram of the extraction process for LEVs and KEVs using differential ultracentrifugation combined with sucrose density gradient centrifugation. The left panel represents LEVs samples, and the right panel represents KEVs samples. (b) Size distribution and dispersion of LEVs analyzed by dynamic light scattering (DLS). The mean particle size is 284.31±167.49 (mean±SD). (c) Size distribution and dispersion of KEVs analyzed by DLS. The mean particle size is 223.42±69.07 (means±SD). (d) Zeta potential analysis of LEVs and KEVs. (e) Size distribution and particle concentration of LEVs determined by nanoparticle tracking analysis (NTA). The median diameter (×50) is (203.11±31.14) nm (median±SD). Samples were diluted 10 000-fold before measurement. (f) Size distribution and particle concentration of KEVs determined by NTA. The median diameter (×50) is (255.64±24.12) nm (median±SD). Samples were diluted 10 000-fold before measurement. (g) Transmission electron microscopy (TEM) image of LEVs. (h) TEM image of KEVs.

2.2 高脂饮食 (HFD) 肥胖模型小鼠构建

普通维持饲料和高脂饲料 (图 2a) 用于实验

动物 (图 2b) 的饲养。为实现无创、刺激性小的肠道给药, 我们自制了灌肠工具 (图 2c), 使用约

5 cm长的硅胶软管套在注射器上。如图2d所示进行外囊泡直肠给药干预时,轻轻抓住小鼠,倒置,轻轻将硅胶软管插入小鼠肛门中3 cm左右,缓慢将LEV_s和KEV_s溶液注射进入小鼠肠道,完成给药后,检查给药是否完全。为了评价肥胖模型建立

成功,在高脂饲料饲养期间,测量小鼠的腰围(图2e)来评价肥胖模型的构建。统计结果显示,相较于NC组而言,HFD组的腰围最大,提示出现肥胖的表型(图2f)。

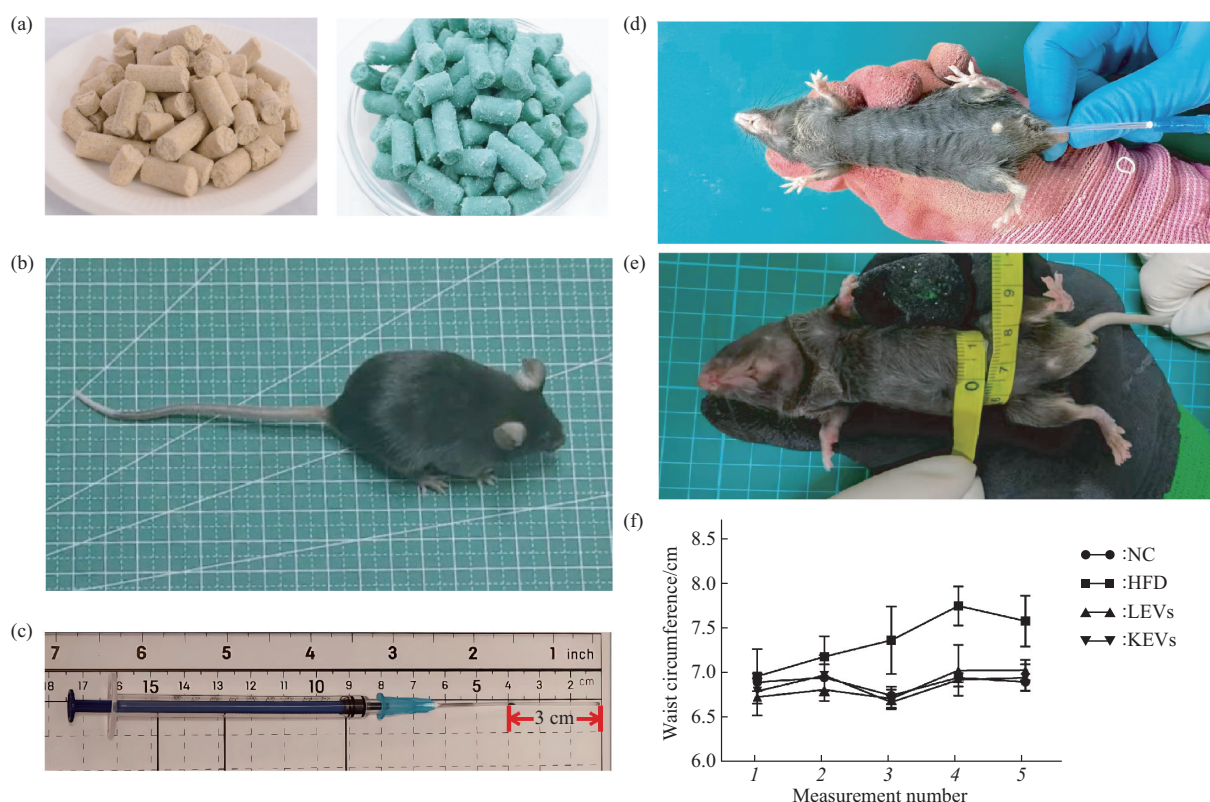


Fig. 2 Schematic diagram of animal experiment design and intervention process

(a) Experimental diets (left: normal diet, right: high-fat diet). (b) Male C57BL/6J mice used in the experiment. (c) Self-made gavage tool (the silicone tube was inserted approximately 3 cm into the mouse during administration). (d) Schematic diagram of drug administration. (e) Schematic diagram of waistline measurement. (f) Line chart of waist circumference statistical results.

2.3 LEV_s与KEV_s干预有效抑制肥胖发展并改善相关代谢指标

LEV_s与KEV_s在HFD诱导的肥胖模型中展现出抗肥胖效应。LEV_s与KEV_s干预显著抑制了HFD诱导的小鼠体重增长(图3a)。体成分分析进一步显示, HFD组体脂率高于正常成年小鼠的10%~20%, 呈典型肥胖特征^[22]。LEV_s组和KEV_s组小鼠的体脂率显著低于HFD组, 瘦肉组织占比相应提高, 提示脂肪组织缩减、代谢活跃组织相对增加(图3b~e)。解剖学分析表明, LEV_s与KEV_s干预有效减少了腹部白色脂肪和附睾脂肪的异常积累(图3f~h)^[23]。在脂代谢指标方面, HFD组小鼠的LDL和CHOL水平均显著高于NC组, 符合肥胖伴随胆固醇升高所引起的脂质代谢紊乱特征^[24],

表明模型构建成功。然而, HFD组HDL水平异常升高, 且经LEV_s与KEV_s干预后进一步上升, 这可能与HFD诱导的代谢综合征早期小鼠模型的代谢适应有关^[23]。尽管HFD组存在典型血脂异常, 但LEV_s与KEV_s干预后表现出HDL上升, 同时TRIG降低(图3i~l), 提示这两种药物可通过调节脂质代谢, 发挥降低动脉粥样硬化及心脑血管疾病风险的“调脂护血管”功能, 即LEV_s与KEV_s干预具有良好的安全性。

2.4 LEV_s与KEV_s干预可调节肠道菌群结构并富集有益菌群Lachnospiraceae

为深入探究LEV_s与KEV_s抑制肥胖的潜在机制, 本研究对小鼠结肠内容物进行了基于16S rRNA基因V3-V4区的扩增子测序分析。测序数据

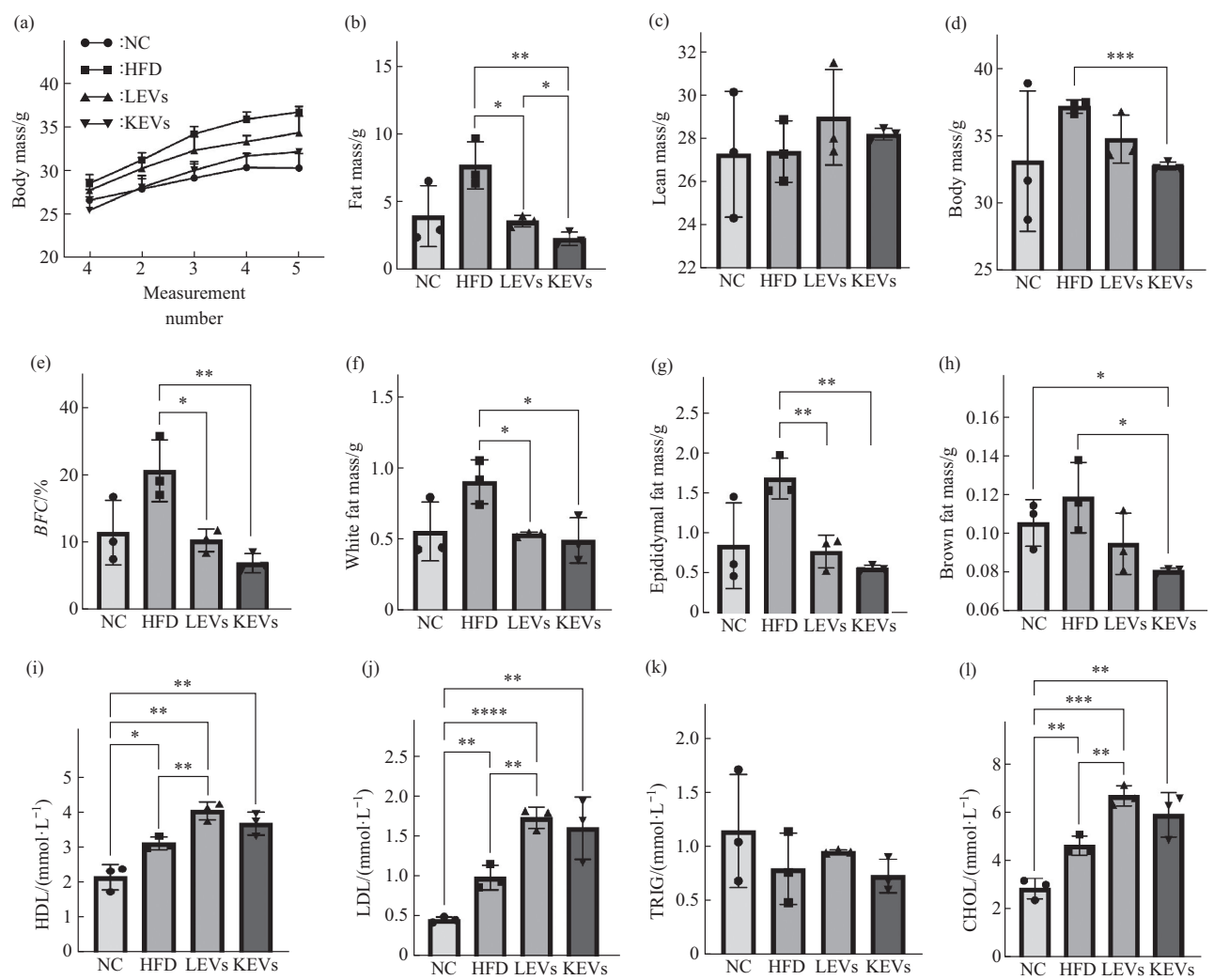


Fig. 3 Effects of LEVs and KEVs on body mass, body composition, fat distribution and lipid metabolism in mice
(a) Line plot of body mass measured during the experiment, taken as a point every 3 weeks, and the abscissa represents the number of measurements. (b) Analysis of fat difference measured by body composition. HFD vs LEVs $P=0.016\ 7$, HFD vs KEVs $P=0.006\ 7$, KEVs vs LEVs $P=0.025\ 7$. (c) Analysis of lean difference measured by body composition. (d) Analysis of body mass difference before sampling. HFD vs KEVs $P=0.000\ 2$. (e) Differential analysis of body fat mass percentage, $BFC(\%) = \text{fat mass/body mass}$, HFD vs LEVs $P=0.021\ 2$, HFD vs KEVs $P=0.007\ 7$. (f) Difference analysis of harvested white fat mass. HFD vs LEVs $P=0.014\ 5$, HFD vs KEVs $P=0.031\ 9$. (g) Difference analysis of harvested epididymal fat mass. HFD vs LEVs $P=0.008\ 5$, HFD vs KEVs $P=0.001\ 6$. (h) Difference analysis of harvested brown fat mass. NC vs KEVs $P=0.024\ 4$, HFD vs KEVs $P=0.023\ 1$. (i-l) The results of blood lipid were the four differences in lipid metabolism, which were high density lipoprotein cholesterol (HDL), low density lipoprotein cholesterol (LDL), triglyceride (TRIG) and total cholesterol (CHOL). HDL NC vs HFD $P=0.014\ 3$, NC vs LEVs $P=0.001\ 7$, NC vs KEVs $P=0.005\ 4$, HFD vs LEVs $P=0.007\ 1$; LDL NC vs HFD $P=0.004\ 2$, NC vs LEVs $P<0.000\ 1$, NC vs KEVs $P=0.007\ 1$, HFD vs LEVs $P=0.003\ 1$; CHOL NC vs HFD $P=0.006\ 2$, NC vs LEVs $P=0.000\ 4$, NC vs KEVs $P=0.006\ 4$, HFD vs LEVs $P=0.003\ 4$. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, **** $P<0.000\ 1$.

质量评估显示, 各样本的物种分布均匀且丰富度较高, 测序深度充足, 能够覆盖样本中绝大多数细菌类群^[25]。韦恩图分析显示, 与NC组相比, HFD组、LEVs组和KEVs组特有操作分类单元 (operational taxonomic units, OTUs) 减少, 提示HFD导致菌群组成趋于简单化^[26], 而LEVs、KEVs组特有OTUs对比于HFD组进一步降低, 表

明干预影响了菌群构成, 可能淘汰了一些有害菌 (图4a)。Alpha多样性进一步验证了这个趋势, HFD组的Chao1与Observed Features指数较NC组呈下降趋势, 而LEVs组与KEVs组指数有所回升, 提示LEVs与KEVs干预有助于缓解HFD诱导的菌群多样性下降 (图4b)^[27-28]。Beta多样性分析 (PCA) 显示, HFD组与NC组样本点明显分离,

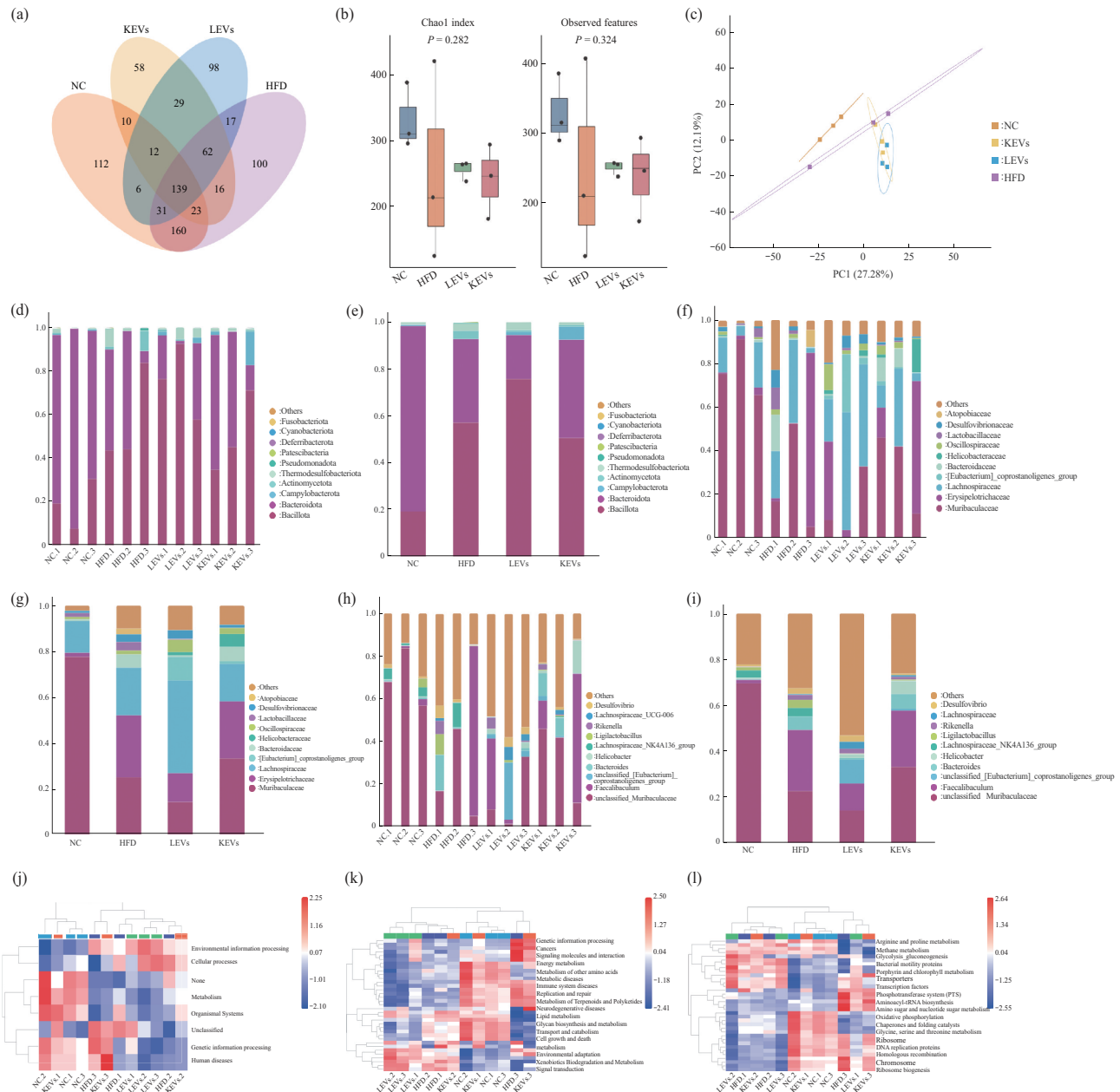


Fig. 4 Integrated analysis of gut microbiota composition, diversity, and function

(a) Venn diagram, each circle represents a group, the numbers of circles and circles overlapping part represent the number of feature sequences common between groups, and the numbers without overlapping part represent the number of characteristic sequences unique to the group. (b) The box plot on observed features and Chao1 index intuitively reflects the median, dispersion, maximum, minimum and outlier of species diversity within the group. The horizontal axis represents the grouping, and the vertical axis represents the corresponding alpha diversity index value. (c) Principal component analysis (PCA), the horizontal and vertical coordinates represent the first and second principal components, respectively, and the percentages indicate their contributions to the sample variance. (d–i) Based on the phylum, family, and genus levels, for each sample or each group, select the top 10 species with the highest relative abundance and classify the remaining as “Others”, then draw relative abundance bar charts. (j–l) Based on PICRust prediction, a clustering heatmap was constructed to visualize the relative abundance of Level 1, 2 and 3 metabolic pathways. The top 35 pathways with the highest relative abundance were clustered at the functional level. The vertical axis corresponds to samples, and the horizontal axis represents functional annotations. The phylogenetic clustering tree of pathways is displayed on the left, and color intensity denotes the normalized Z-score of relative abundance.

证实HFD显著改变了菌群整体结构, 而LEV_s组与KEV_s组样本点脱离了HFD组的聚集区, 形成了新的聚集区域, 表明LEV_s与KEV_s干预本身对菌群结构产生了显著影响, 引导其向一种新的、不同于单纯疾病状态的微生态平衡转变(图4c)^[29]。

物种相对丰度分析发现, 在门水平上, 各实验组厚壁菌(*Bacillota*)/拟杆菌(*Bacteroidota*)(B/B)比值均升高, 符合HFD特征^[26], 尽管LEV_s组的B/B比值甚至高于HFD组(图4d, e), 但LEV_s组小鼠的体脂率、腹部白色及附睾脂肪量均显著低于HFD组。进一步对科水平进行分析可以解释门水平发生的矛盾现象, LEV_s组B/B值升高的原因是*Bacillota*门内的有益菌科*Lachnospiraceae*相对丰度显著增加(图4f, g), 该菌科以产生SCFA、增强肠道屏障功能著称^[30]。而在属水平上, LEV_s与KEV_s干预后潜在促炎菌属脱硫弧菌(*Desulfovibrio*)总体有减少的趋势^[31], *Lachnospiraceae*科下的有益菌属也稳定存在(图4h, i), 这与科水平观察到的*Lachnospiraceae*富集趋势相吻合。PICRUSt功能预测分析显示, LEV_s与KEV_s对肠道菌群功能的影响呈现差异化特征

(图4j~l)。LEV_s干预维持了HFD诱导的菌群功能抑制状态, 在核糖体、DNA复制蛋白等关键通路上表现为下调, 同时稳定增强了外源物降解能力, 但对能量代谢的恢复作用有限。KEV_s干预则倾向于将能量代谢、蛋白质合成等功能向上调节, 使其接近健康水平, 但效果存在明显的个体差异, 提示KEV_s的干预效果存在响应者与非响应者之间的差异^[32]。上述结果表明, LEV_s与KEV_s通过不同机制调节肠道菌群功能, 为后续深入探讨其抗肥胖作用提供了功能层面的依据。

2.5 LEV_s与KEV_s干预的安全性评价

为评估LEV_s与KEV_s的安全性, 检测了干预后小鼠的血清生化指标。结果显示, LEV_s与KEV_s干预均未引起肾功能指标(UREA, CREA)及心肌损伤标志物(CK, CKMB)的异常升高(图5a~d)^[33]。肝功能方面, 干预显著降低了HFD引起的ALT与AST活性升高, 同时ALB水平回升, TBIL保持稳定(图5e~h)^[34]。结果表明, LEV_s与KEV_s在本研究条件下未表现明显毒性, 且可能对早期肝损伤具有改善作用。

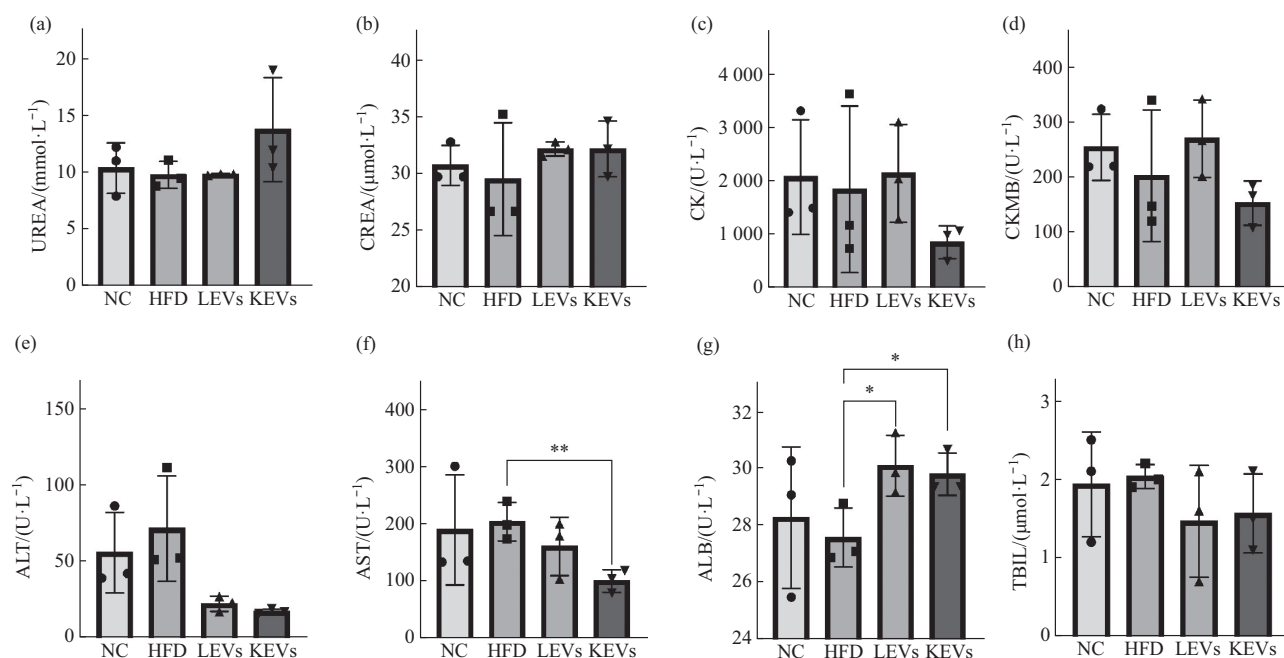


Fig. 5 Effects of LEV_s and KEV_s on kidney, cardiac, and liver function in mice

(a, b) Analysis of differences in renal function indicators including urea (UREA) and creatinine (CREA). (c, d) Analysis of differences in cardiac function indicators including creatine kinase (CK) and creatine kinase isoenzymes (CKMB). (e-h) Analysis of differences in liver function indicators including alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), albumin (ALB), and total bilirubin (TBIL). AST HFD vs KEV_s $P=0.0098$; ALB HFD vs LEV_s $P=0.0426$, HFD vs KEV_s $P=0.0396$. * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

3 讨 论

3.1 植物外囊泡在代谢疾病领域的潜力

本研究所用的韭菜与魔芋均为药食同源的植物。韭菜性辛温,传统认为能温补行气、散瘀活血,有助于调节气血运行与代谢^[8]。魔芋性寒,功擅化痰消积、解毒散结,恰能体现其“消积”之性,通过增加饱腹感、延缓吸收以“化痰浊”,类似于降低脂质。这与中医通过调理脾胃、祛湿化痰等方式防治肥胖的理论相通^[35]。从活性成分入手,韭菜中富含含硫化合物、黄酮类等,具有调节体内代谢的作用,其黄酮类等物质有助于降血脂^[10],含硫化合物可能改善肥胖伴随的血液高凝状态^[36]。魔芋核心成分KGM在抗肥胖中发挥着很好的作用^[37]。魔芋KGM作为优质膳食纤维,通过遇水膨胀提供饱腹感以减少热量摄入,并在肠道内延缓脂肪与糖的吸收^[38]。魔芋KGM还可以调节肠道菌群,提高益生菌的生态位优势。

植物来源的外囊泡通常指由植物细胞分泌的、直径30~500 nm的脂质双层膜囊泡^[20]。它并非简单的细胞代谢产物,而是植物细胞间通讯的关键载体,携带有源植物细胞的蛋白质、脂质、代谢物以及丰富的功能性RNA^[39]。植物来源的外囊泡具有几个鲜明特征:来源广泛且成本低廉,可从原生中药植物中大量获取;具备出色的生物相容性与安全性,且由于植物与人类病原体差异大,其免疫原性通常较低;其膜脂成分独特,富含磷脂酸等植物特有脂质,赋予了其独特的稳定性与膜融合特性^[40]。

本研究中,LEV_s中可能包含着韭菜中富含的硫化物、黄酮类和多糖,而KEV_s中可能包含着魔芋中富含的葡甘露聚糖和膳食纤维等成分。这些活性物质可能通过调节脂质代谢、抑制炎症反应、增强胰岛素敏感性等多途径改善肥胖相关代谢异常。

直肠给药方式进一步提升了外囊泡在肠道局部的生物利用度,使其更直接、更持续地作用于肠道黏膜与菌群微环境,从而增强了对菌群结构的调控效果^[41]。这一给药策略不仅提高了干预的精准性,也为外囊泡在肠道相关代谢疾病中的应用提供了新思路。

3.2 LEV_s和KEV_s在肥胖干预中的潜力

研究表明,LEV_s和KEV_s通过直肠给药可在HFD诱导的早期阶段有效抑制肥胖发展,具体表现为显著减缓体重增长、降低体脂率,减少腹部白色脂肪和附睾脂肪积累,并改善血清脂质代谢指

标(CHOL、TRIG、LDL降低)与肝功能(ALT、AST活性显著降低)^[42]。同时,LEV_s和KEV_s干预部分恢复了HFD引起的肠道菌群多样性下降,改变了菌群整体结构,尤其使有益菌科Lachnospiraceae的相对丰度显著升高且在属水平稳定存在,该菌科已知能够产生SCFA,如丁酸,从而增强肠道屏障功能、调节宿主能量代谢、抑制系统性炎症^[43]。这些菌群结构的变化与血脂改善、肝损伤减轻等代谢指标呈现同步性,提示LEV_s和KEV_s可能通过“菌群-宿主代谢轴”调节能量吸收、脂肪储存与炎症反应。其潜在机制包括SCFAs生成增加、促炎因子表达下降、肠黏膜屏障完整性增强等。

此外,本研究未观察到LEV_s和KEV_s对肝功能指标的不良影响,提示植物外囊泡具有良好的生物安全性。与已有研究相比,本研究的创新在于首次将LEV_s和KEV_s应用于肥胖早期干预,并采用直肠给药方式直接作用于肠道微环境,有效避免了胃肠消化酶对外囊泡结构的破坏及囊泡内生物活性成分的降解,为植物源外囊泡在代谢性疾病干预中的应用提供了新的策略与实验依据。

3.3 LEV_s和KEV_s干预的创新性

与已有植物外囊泡研究相比,本研究的创新性主要体现在以下两方面:

第一,干预时机的选择。传统研究多在肥胖模型建立稳定后才开始给药,而本研究在HFD诱导的同时即给予LEV_s和KEV_s,模拟了临床“早期干预”这一场景。结果显示,这种早期介入能显著抑制体重增长和体脂堆积,提示植物外囊泡可能在肥胖发生的关键窗口期发挥有效的调控作用。

第二,给药途径的革新。目前多数植物外囊泡研究采用口服给药,但口服面临胃酸降解、小肠吸收等问题,难以精准抵达结肠菌群作用靶点。本研究首次将直肠给药应用于植物外囊泡的肥胖干预,证实其能安全、有效地将囊泡递送至结肠,并显著改变菌群结构。这一策略为植物外囊泡的结肠靶向递送提供了新思路,也为开发非口服微生态制剂奠定了基础。

3.4 安全性与可行性分析

在本研究的动物实验中,LEV_s和KEV_s干预未引起肝、肾、心功能指标异常,提示植物源外囊泡在短期应用下具有良好的生物相容性与安全性。但考虑到本研究的干预周期较短,其长期应用的潜在风险仍需在未来的慢性毒性试验及更长期的动物

模型中加以验证。本研究采用直肠给药,旨在规避胃酸和消化酶对PDEVs的破坏^[40],确保其以完整纳米形态直达结肠菌群富集区域,最大化微生态调节效能。作为原理验证性研究,该策略成功证实了LEV和KEV在结肠局部的生物活性,为后续剂型优化提供了有效的效应数据。尽管直肠给药依从性欠佳,但其转化价值明确。首先,可作为肥胖并发症患者的阶段性治疗手段,为开发口服结肠靶向剂型指明方向。其次,推动“药食同源”资源向功能性食品升级。随着纳米制剂技术进步,基于PDEVs的干预策略有望从实验室走向临床,最终转化为安全、可及的微生态调节产品。此外,植物外囊泡具有天然来源、低免疫原性的特点,使其相较于合成纳米载体更具临床应用潜力。然而,直肠给药的依从性与可操作性在人体中仍需进一步评估,未来可考虑开发肠溶胶囊等口服剂型,以提高其实际应用可行性。

3.5 研究局限与展望

本研究尚存在以下局限性。首先,干预周期相对较短,尽管在肥胖早期观察到了显著的代谢改善效应,但对于该干预策略的长期安全性及持续代谢效应仍有待观察。HFD诱导的肥胖是一个慢性过程,短期的体重抑制是否能转化为长期的体重维持,以及长期给药是否会引发肠道或全身性的适应性反应,尚不明确。第二,尚未对LEV和KEV的关键活性成分进行系统分离与鉴定,因此无法确定源植物特征成分是否真实存在于外囊泡中,及其在抗肥胖效应中的具体贡献。由于缺乏对活性成分的鉴定,目前未能深入揭示其作用于宿主细胞的具体分子靶点与信号通路;尽管动物实验初步验证了LEV和KEV的整体干预效果,但缺乏细胞水平的直接证据,限制了因果关系的建立。第三,研究所采用的HFD诱导小鼠模型虽能模拟部分人类代谢紊乱特征,但其病理过程与人类复杂的肥胖病因、病程及个体差异仍有距离^[44]。第四,本研究虽基于PICRUSt预测初步揭示了LEV与KEV对菌群功能的差异化调控作用,但该分析仍属基于16S rRNA基因序列的功能推断,尚缺乏对关键代谢通路、微生物代谢产物如SCFA及宿主信号通路的直接功能验证。此外,本研究尚未对口服给药的可行性进行验证,直肠给药虽能有效验证外囊泡的生物活性,但其临床转化潜力受限于操作复杂性。

同时,本研究未设置常规减肥药物作为阳性对照,因此当前结论仅限于验证LEV和KEV相对于模型组的干预效果,其与现有疗法的疗效比较仍有待后续研究。未来研究需在扩大样本量、延长干预周期并对长期安全性及持续代谢效应进行观察的同时,重点对外囊泡的成分进行系统解析,并综合利用靶向代谢组学、转录组学、蛋白质组学等多组学技术,以及细胞共培养、无菌动物模型、基因敲除等实验手段,深入挖掘其发挥抗肥胖作用的下游细胞与分子机制,从而明确菌群功能变化在宿主代谢调控中的直接作用,以推动该类天然纳米载体向临床应用的实质转化。

4 结 论

本研究成功从新鲜韭菜和魔芋块茎中分离出了LEV和KEV,并采用TEM和NTA对其形态和粒径分布进行了系统表征,证实所获囊泡结构完整。在此基础上,本文通过HFD喂养构建了肥胖早期小鼠模型。在造模的同时,采用直肠给药的方式,系统评价了LEV与KEV对肥胖发生发展的干预效果及其对肠道微生态的调控作用。结果显示,LEV与KEV干预能显著抑制体重增长、降低体脂率,减少腹部及附睾脂肪积累,同时有效调节血脂代谢,并改善因肥胖引起的肝脏酶学指标异常。在肠道菌群方面,16S rRNA基因测序分析表明,LEV与KEV恢复肠道菌群多样性,特别是显著提升了有益菌科Lachnospiraceae的丰度,该菌种被认为与SCFA产生、肠道屏障维持及宿主代谢改善密切相关。在机制层面,推测LEV与KEV可能通过其携带的微RNA、蛋白质及脂质等活性分子,直接或间接调节肠道菌群的组成与功能,进而经“菌群-宿主代谢轴”影响宿主的能量摄取、脂肪储存及慢性低度炎症反应^[16],最终在肥胖发生早期发挥保护性作用。本研究首次从实验层面证实了LEV与KEV在肥胖干预中的显著潜力,不仅拓展了植物源性外囊泡在代谢性疾病调控中的应用前景,也为开发基于天然外囊泡的新型功能性食品与药物递送系统提供了坚实的理论依据。

数据可用性声明 本篇论文的关联数据可依据合理理由从作者处获取。

参 考 文 献

- [1] Ackers I, Malgor R. Interrelationship of canonical and non-canonical Wnt signalling pathways in chronic metabolic diseases. *Diab Vasc Dis Res*, 2018, **15**(1): 3-13
- [2] De Oliveira C M, De Oliveira C, Scarabelot V L, *et al.* Hypercaloric diet and chronic stress desynchronizes the temporal pattern of rats' insulin release. *Biol Rhythm Res*, 2018, **49**(4): 643-653
- [3] Moreno-Navarrete J M, Fernández-Real J M. The complement system is dysfunctional in metabolic disease: evidences in plasma and adipose tissue from obese and insulin resistant subjects. *Semin Cell Dev Biol*, 2019, **85**: 164-172
- [4] Gadde K M, Atkins K D. The limits and challenges of antiobesity pharmacotherapy. *Expert Opin Pharmacother*, 2020, **21**(11): 1319-1328
- [5] Li D, Tang W, Wang Y, *et al.* An overview of traditional Chinese medicine affecting gut microbiota in obesity. *Front Endocrinol*, 2023, **14**: 1149751
- [6] Kimura I, Ozawa K, Inoue D, *et al.* The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation *via* the short-chain fatty acid receptor GPR43. *Nat Commun*, 2013, **4**: 1829
- [7] Isaac R, Reis F C G, Ying W, *et al.* Exosomes as mediators of intercellular crosstalk in metabolism. *Cell Metab*, 2021, **33**(9): 1744-1762
- [8] Xie T, Wu Q, Lu H, *et al.* Functional perspective of leeks: active components, health benefits and action mechanisms. *Foods*, 2023, **12**(17): 3225
- [9] Li Q, Liu Z, Zhang X. Bridging east and west: integrative approaches to obesity management through traditional Chinese medicine. *Front Endocrinol*, 2025, **16**: 1644381
- [10] Bastaki S M A, Ojha S, Kalasz H, *et al.* Chemical constituents and medicinal properties of *Allium* species. *Mol Cell Biochem*, 2021, **476**(12): 4301-4321
- [11] Sung Y Y, Kim D S, Kim S H, *et al.* Aqueous and ethanolic extracts of Welsh onion, *Allium fistulosum*, attenuate high-fat diet-induced obesity. *BMC Complement Altern Med*, 2018, **18**(1): 105
- [12] 黄晴, 吴忠坤, 吴中琴, 等. 葱属类植物中有机硫化物的抗氧化性研究进展. *食品研究与开发*, 2018, **39**(1): 214-220
Huang Q, Wu Z K, Wu Z Q, *et al.* *Food Res Dev*, 2018, **39**(1): 214-220
- [13] Tester R F, Al-Ghazzewi F H. Beneficial health characteristics of native and hydrolysed konjac (*Amorphophallus konjac*) glucomannan. *J Sci Food Agric*, 2016, **96**(10): 3283-3291
- [14] Behera S S, Ray R C. Konjac glucomannan, a promising polysaccharide of *Amorphophallus konjac* K. Koch in health care. *Int J Biol Macromol*, 2016, **92**: 942-956
- [15] Cao M, Diao N, Cai X, *et al.* Plant exosome nanovesicles (PENs): green delivery platforms. *Mater Horiz*, 2023, **10**(10): 3879-3894
- [16] Dad H A, Gu T W, Zhu A Q, *et al.* Plant exosome-like nanovesicles: emerging therapeutics and drug delivery nanoplatfroms. *Mol Ther*, 2021, **29**(1): 13-31
- [17] Deng C, Hu Y, Conceição M, *et al.* Oral delivery of layer-by-layer coated exosomes for colitis therapy. *J Control Release*, 2023, **354**: 635-650
- [18] Koboziev I, Scoggin S, Gong X, *et al.* Effects of curcumin in a mouse model of very high fat diet-induced obesity. *Biomolecules*, 2020, **10**(10): 1368
- [19] He B, Hamby R, Jin H. Plant extracellular vesicles: trojan horses of cross-Kingdom warfare. *FASEB Bioadv*, 2021, **3**(9): 657-664
- [20] 宁杭, 黄心雨, 郑玲, 等. 中药衍生的外泌体样纳米囊泡治疗溃疡性结肠炎的研究进展. *中国中药杂志*, 2025, **50**(18): 5069-5080
Ning H, Huang X Y, Zheng L, *et al.* *China J Chin Mater Med*, 2025, **50**(18): 5069-5080
- [21] Mahgoub E O, Abdella G M. Improved exosome isolation methods from non-small lung cancer cells (NC1975) and their characterization using morphological and surface protein biomarker methods. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2023, **149**(10): 7505-7514
- [22] Kubandová J, Fabian D, Burkuš J, *et al.* Two-generation diet-induced obesity model producing mice with increased amount of body fat in early adulthood. *Physiol Res*, 2014, **63**(1): 103-113
- [23] 朱梅珍, 郑晗盈, 郭东北, 等. 动物双歧杆菌和罗伊氏乳杆菌对肥胖小鼠体脂分布和血脂的影响. *现代食品科技*, 2024, **40**(1): 34-46
Zhu M Z, Zheng H Y, Guo D B, *et al.* *Mod Food Sci Technol*, 2024, **40**(1): 34-46
- [24] Klop B, Elte J W, Cabezas M C. Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. *Nutrients*, 2013, **5**(4): 1218-1240
- [25] Caporaso J G, Lauber C L, Walters W A, *et al.* Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *ISME J*, 2012, **6**(8): 1621-1624
- [26] Hildebrandt M A, Hoffmann C, Sherrill-Mix S A, *et al.* High-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity. *Gastroenterology*, 2009, **137**(5): 1716-1724.e1-2
- [27] Lozupone C A, Stombaugh J I, Gordon J I, *et al.* Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*, 2012, **489**(7415): 220-230
- [28] Hill T C J, Walsh K A, Harris J A, *et al.* Using ecological diversity measures with bacterial communities. *FEMS Microbiol Ecol*, 2003, **43**(1): 1-11
- [29] David L A, Maurice C F, Carmody R N, *et al.* Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, 2014, **505**(7484): 559-563
- [30] den Besten G, van Eunen K, Groen A K, *et al.* The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J Lipid Res*, 2013, **54**(9): 2325-2340
- [31] Xie R, Gu Y, Li M, *et al.* *Desulfovibrio vulgaris* interacts with novel gut epithelial immune receptor LRRC19 and exacerbates colitis. *Microbiome*, 2024, **12**(1): 4
- [32] Kang Y, Kang X, Yang H, *et al.* *Lactobacillus acidophilus*

- ameliorates obesity in mice through modulation of gut microbiota dysbiosis and intestinal permeability. *Pharmacol Res*, 2022, **175**: 106020
- [33] Li J, Sun S, Zhu D, *et al*. Inhalable stem cell exosomes promote heart repair after myocardial infarction. *Circulation*, 2024, **150**(9): 710-723
- [34] El-Eshmawy M M. Impact of obesity on liver function tests: is nonalcoholic fatty liver disease the only player? A review article. *Porto Biomed J*, 2023, **8**(5): e228
- [35] 中华中医药学会《中医体重管理临床指南》专家组, 广东省针灸学会肥胖专病联盟. 肥胖症中医诊疗方案专家共识. *北京中医药大学学报*, 2022, **45**(8): 786-794
- Panel of Clinical Guideline for Body Weight Management in TCM of China Association of Chinese Medicine, Obesity League of Guangdong Association of AcupunctureMoxibustion. *J Beijing Univ Tradit Chin Med*, 2022, **45**(8): 786-794
- [36] Chen J H, Chen H I, Wang J S, *et al*. Effects of Welsh onion extracts on human platelet function *in vitro*. *Life Sci*, 2000, **66**(17): 1571-1579
- [37] Jian X, Jian S, Deng B. Konjac Glucomannan: a functional food additive for preventing metabolic syndrome. *J Funct Foods*, 2024, **115**: 106108
- [38] Chen H L, Cheng H C, Liu Y J, *et al*. Konjac acts as a natural laxative by increasing stool bulk and improving colonic ecology in healthy adults. *Nutrition*, 2006, **22**(11/12): 1112-1119
- [39] Liu G, Kang G, Wang S, *et al*. Extracellular vesicles: emerging players in plant defense against pathogens. *Front Plant Sci*, 2021, **12**: 757925
- [40] Di Gioia S, Hossain M N, Conese M. Biological properties and therapeutic effects of plant-derived nanovesicles. *Open Med*, 2020, **15**(1): 1096-1122
- [41] Kumar V, Kumar V, Devi K, *et al*. Intrarectal capsaizepine administration modulates colonic mucosal health in mice. *Int J Mol Sci*, 2022, **23**(17): 9577
- [42] Zhuang X, Deng Z B, Mu J, *et al*. Ginger-derived nanoparticles protect against alcohol-induced liver damage. *J Extracell Vesicles*, 2015, **4**: 28713
- [43] Ríos-Covián D, Ruas-Madiedo P, Margolles A, *et al*. Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health. *Front Microbiol*, 2016, **7**: 185
- [44] Collins S, Martin T L, Surwit R S, *et al*. Genetic vulnerability to diet-induced obesity in the C57BL/6J mouse: physiological and molecular characteristics. *Physiol Behav*, 2004, **81**(2): 243-248

Rectal Administration of Leek and Konjac-derived Extracellular Vesicles Alleviates High-fat Diet-induced Obesity in Mice *via* Gut Microbiota Modulation*

ZHANG Ya-Ru^{1)**}, WU Yu-Jia^{1)**}, LIANG Cheng-Bang^{1)**}, YU Xin-He²⁾, MU Yan^{3,4)}, TAN Yan^{1)***}

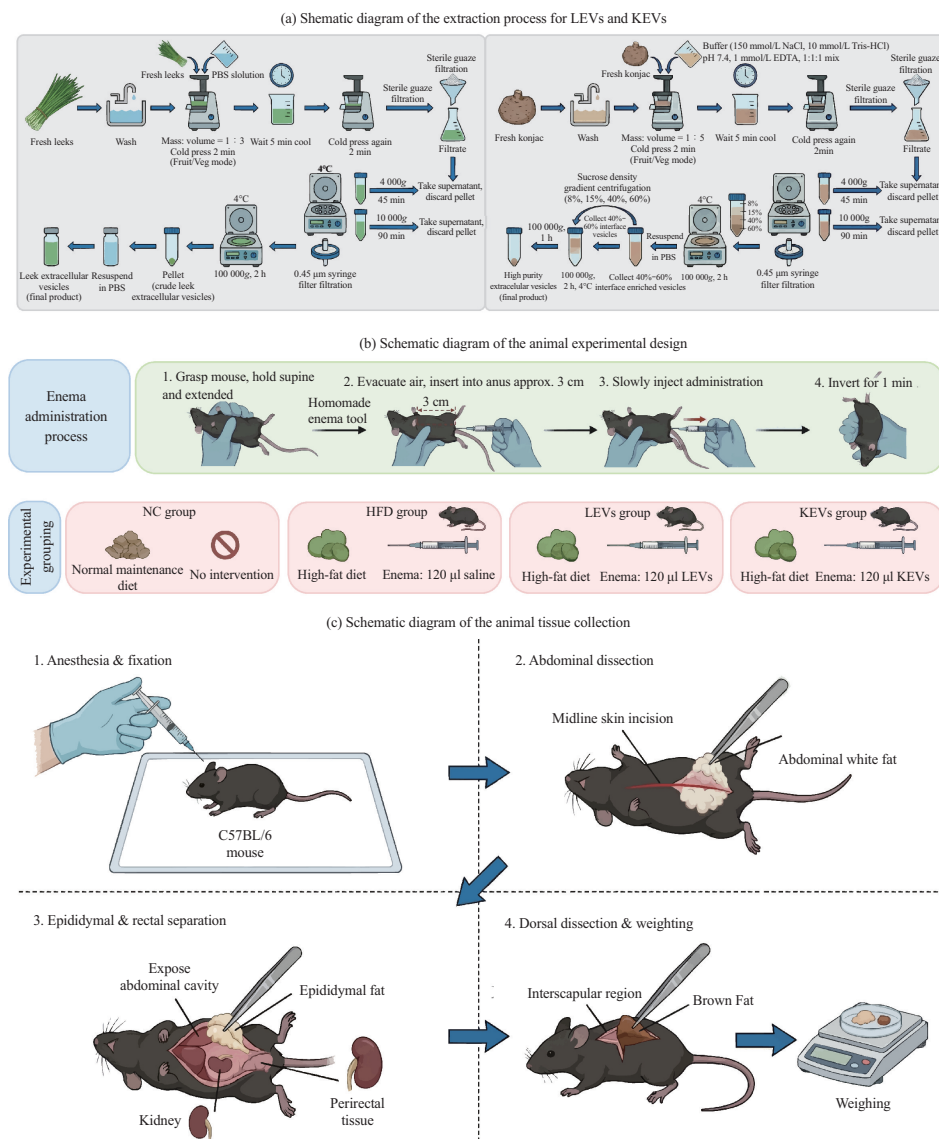
¹⁾School of Life Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

²⁾Qi-huang Chinese Medicine School, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

³⁾School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

⁴⁾National Center for Nanoscience and Technology, Beijing 100190, China)

Graphical abstract



* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (82374175).

** These authors contributed equally to this work.

*** Corresponding author.

Tel: 86-10-53912177, E-mail: yantan@bucm.edu.cn

Received: January 25, 2026 Accepted: May 5, 2026

Abstract Objective Obesity, a global chronic metabolic disease, is closely associated with disruptions in lipid metabolism and gut microbiota. Current intervention strategies still have limitations in terms of safety and microecological regulation, necessitating the exploration of novel natural regulatory approaches. Based on the early pathological characteristics of obesity, this study innovatively employs a rectal delivery method alongside a high-fat diet (HFD)-induced obesity model to systematically evaluate the inhibitory effects, safety, and gut microbiota regulation mechanisms of leek-derived and konjac-derived extracellular vesicles on obesity development. By simulating early clinical intervention scenarios, this study aims to explore the preventive potential of plant-derived extracellular vesicles during the initial stages of obesity onset. **Methods** Extracellular vesicles from leek and konjac were isolated using ultracentrifugation combined with density gradient centrifugation. Their nanoscale properties were characterized by dynamic light scattering (DLS), transmission electron microscopy (TEM), and nanoparticle tracking analysis (NTA). Male C57BL/6J mice were randomly divided into four groups: normal control (NC), high-fat diet (HFD), leek-derived extracellular vesicles (LEVs), and konjac-derived extracellular vesicles (KEVs). Beginning simultaneously with HFD feeding, mice in the intervention groups received 20 g/L vesicles rectally every 3 d for 4 weeks. Body mass and body composition were monitored throughout. At endpoint, mouse serum, adipose tissue, and colonic contents were collected. Serum biochemical indices (lipid profile, liver and kidney function, cardiac markers) were assessed to evaluate safety and metabolic efficacy, while 16S rRNA sequencing was employed to analyze gut microbial structure and diversity. **Results** DLS, NTA, and TEM confirmed that both LEVs and KEVs exhibited typical cup-shaped nanostructures with average particle sizes of approximately 284 nm and 223 nm, respectively. LEVs and KEVs treatment significantly suppressed HFD-induced weight gain and elevation of body-fat percentage ($P < 0.05$), and reduced accumulation of abdominal white and epididymal adipose tissue. Serological analyses showed that both vesicles lowered total cholesterol, triglycerides and LDL-cholesterol, and ameliorated liver enzyme profiles (ALT, AST), demonstrating lipid-metabolic regulation and hepatoprotective effects. No hepatic, renal or cardiac dysfunction was observed, indicating favorable safety. Gut microbiota analyses revealed that vesicle intervention partially restored HFD-depleted microbial diversity and reshaped community structure. Notably, LEVs markedly increased the relative abundance of the beneficial taxon Lachnospiraceae at the family level, which is known for producing short-chain fatty acids and enhancing intestinal barrier function. Furthermore, Phylogenetic Investigation of Communities by Reconstruction of Unobserved States (PICRUSt) functional prediction suggested that LEVs and KEVs modulated gut microbial functions through distinct mechanisms: LEVs downregulated pathways related to ribosomes and DNA replication while enhancing xenobiotic degradation, whereas KEVs tended to upregulate energy metabolism and protein synthesis toward healthy levels. **Conclusion** Rectally administered LEVs and KEVs exhibit excellent safety and pronounced metabolic benefits during the early phase of obesity, suppressing weight gain, correcting lipid dysregulation, and exerting effects *via* modulation of gut microbial composition and function. This study provides systematic experimental evidence supporting plant-derived exosome-like vesicles as an early intervention strategy against obesity.

Key words obesity, metabolism, plant-derived extracellular vesicles, leek, konjac, gut microbiota

DOI: 10.3724/j.pibb.2026.0039

CSTR: 32369.14.pibb.20260039