

# 改善代谢综合征作用乳杆菌的分离鉴定及评价

杨舸<sup>1</sup>, 张麟<sup>1</sup>, 王超<sup>1</sup>, 赵玉娟<sup>1</sup>, 赵子健<sup>1</sup>, 高磊<sup>1</sup>, 崔伟东<sup>2</sup>, 李盛钰<sup>1</sup>

(1. 吉林省农业科学院农产品加工研究所, 吉林长春 130033)

(2. 吉林省命之元生物科技有限公司, 吉林长春 130022)

**摘要:** 为了筛选具有改善代谢综合征作用的乳杆菌, 本研究以高脂高糖饮食建立代谢综合征小鼠模型, 以小鼠体重、血脂水平、炎症因子水平和胰岛素抵抗指数为指标, 从传统发酵食品中自主分离鉴定出6株乳杆菌并评价其改善代谢综合征作用。API 50 CHL糖发酵和16S rDNA部分序列测序比对结果表明, 6株乳杆菌均为植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)。动物实验结果表明, 与模型组比较, 6株菌均具有降低小鼠体重、调节血脂紊乱、降低炎症水平、改善胰岛素抵抗的作用, 但菌株间作用有差异。其中, 植物乳杆菌S9能够明显改善代谢综合征模型小鼠的胰岛素抵抗指数(29.26%), 并显著降低血清中总胆固醇TC(13.22%)、甘油三酯TG(9.97%)、低密度脂蛋白LDL-C(21.31%)、游离脂肪酸FFA(32.33%)的水平, 提高高密度脂蛋白HDL-C(15.91%)的水平。植物乳杆菌S9能显著降低小鼠血清中炎症因子的水平(白细胞介素-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$  12.03%、肿瘤坏死因子- $\alpha$ , TNF- $\alpha$  20.46%、白细胞介素-6, IL-6 15.90%、C-反应蛋白CRP 37.28%、脂多糖LPS 10.01%)。因此, 基于上述筛选评价的结果, 植物乳杆菌S9可作为潜在的功能力菌株用于代谢综合征的预防和治疗。

**关键词:** 乳酸菌; 植物乳杆菌; 代谢综合征; 降血脂; 胰岛素抵抗; 抗炎

文章编号: 1673-9078(2020)11-54-60

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.11.0440

## Screening and Evaluation of *Lactobacillus* Strains for Improving Metabolic Syndrome

YANG Ge<sup>1</sup>, ZHANG Lin<sup>1</sup>, WANG Chao<sup>1</sup>, ZHAO Yu-juan<sup>1</sup>, ZHAO Zi-jian<sup>1</sup>, GAO Lei<sup>1</sup>, CUI Wei-dong<sup>2</sup>,  
LI Sheng-yu<sup>1</sup>

(1. Institute of Agro-Food Technology, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

(2. Jilin Mingzhixuan Biotechnology Co. Ltd., Changchun 130022, China)

**Abstract:** In order to screen the lactic acid bacteria that can relieve the metabolic syndrome, a mouse model with metabolic syndrome was established using high-fat and high-fructose diet. The body weight, serum lipid levels, inflammatory factors, and insulin resistance index were detected to evaluate the effects of six strains of *Lactobacillus* on improving metabolic syndrome. The results of APICHL50 sugar fermentation and 16S rDNA partial sequence alignment results showed that six strains of *Lactobacillus* were identified as *Lactobacillus plantarum*. Furthermore, compared with the model group, all the strains could reduce body weight, regulate lipid disorders, down-regulate inflammation levels, improve insulin resistance. However, there were obvious differences in the functions among six strains. Our results indicated that *L. plantarum* S9 could obviously improve the insulin resistance index (29.26%), markedly decrease TC (13.22%), TG (9.97%), LDL-C (21.31%) and FFA (32.33%) levels and increase HDL-C (15.91%) in serum. Moreover, *L. plantarum* S9 could significantly decline the inflammatory factor levels in serum (IL-1 $\beta$  12.03%, TNF- $\alpha$  20.46%, IL-6 15.90%, CRP 37.28%, LPS 10.01%). Therefore, all above results imply that *L.*

引文格式:

杨舸,张麟,王超,等.改善代谢综合征作用乳杆菌的分离鉴定及评价[J].现代食品科技,2020,36(11):54-60

YANG Ge, ZHANG Lin, WANG Chao, et al. Screening and evaluation of *Lactobacillus* strains for improving metabolic syndrome [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(11): 54-60

收稿日期: 2020-05-11

基金项目: 吉林省科技发展计划重点科技攻关项目(20170204030NY); 吉林省农业科技创新工程重大项目(CXGC2017ZD011); 现代农业产业技术体系专项资金(CARS-36)

作者简介: 杨舸(1990-), 男, 硕士, 研究实习员, 研究方向: 益生菌与发酵食品

通讯作者: 李盛钰(1977-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 发酵食品及功能性益生菌

*plantarum* S9 can be used as a potential functional strain for the prevention and treatment of metabolic syndrome.

**Key words:** lactic acid bacteria; *Lactobacillus plantarum*; metabolic syndrome; hypolipidemia; insulin resistance; anti-inflammation

代谢综合征定义为出现中枢型肥胖、胰岛素抵抗、蛋白质和脂肪代谢紊乱等症状的症候群<sup>[1]</sup>。随着全世界肥胖症患病率的增加,代谢综合征引起了广大科研机构和学者的重视。代谢综合征涉及许多复杂的病理生理过程,会对体内多种系统产生负面影响。在近些年的报道中,有充分的证据表明,代谢综合征会对心血管系统、呼吸系统、内分泌系统以及免疫系统造成不同程度的损害<sup>[2]</sup>。除此之外,在治疗患有突发性疾病的患者时,代谢综合征作为患者的基础性疾病,会导致住院时间延长、术后感染率增加、患者更大的护理需求以及较高的总体治疗费用。

益生菌,主要包括乳酸杆菌和双歧杆菌,被定义为对宿主有益的微生物<sup>[3]</sup>。大量研究已证明肠道微生物群与宿主的代谢状态密切相关,许多研究已经通过益生菌治疗来改善代谢疾病<sup>[4]</sup>。例如,从四川泡菜中分离的植物乳杆菌 CCFM591、QS6-12、ZS2058,均改善了代谢综合征症状<sup>[5]</sup>。通过补充不同的乳酸菌和双歧杆菌菌株,使喂食高脂肪饮食小鼠的体重、内脏脂肪堆积和巨噬细胞过滤、充盈、肝脂肪变性和胰岛素抵抗降低<sup>[6,7]</sup>。一些研究发现,在肥胖小鼠模型中,双歧杆菌菌株对体重增加、肝脏脂质、血清胰岛素和血糖水平具有依赖性<sup>[8]</sup>。其他研究也表明,不同的罗伊氏乳杆菌菌株以菌株依赖的方式调节饮食诱导肥胖的代谢症状<sup>[9]</sup>。此外,副干酪乳杆菌、鼠李糖乳杆菌和动物乳杆菌亚种可减轻高脂饮食喂养小鼠的体重增加、葡萄糖不耐受和肝脂肪变性,并且不同程度上影响宿主的消化和肠道微生物群组成<sup>[10]</sup>。综合这些研究结果发现,益生菌改善代谢紊乱相关疾病具有菌株特异性,这可能取决于益生菌产生的不同代谢物,当然这些结论仍需进一步去证实,以澄清益生菌菌株在改善相关代谢疾病中的作用和机制<sup>[11]</sup>。因此,广泛筛选评价具有改善代谢综合征作用的益生菌,以期获得作用明确、机制探讨清楚的优良菌株,更加具有实际意义。

一些从传统发酵食品中分离鉴定的乳酸菌具有优良的益生特性,是功能性益生菌的重要来源。本研究以自主分离鉴定的6株植物乳杆菌为研究对象,以高糖高脂饮食诱导的代谢综合征小鼠为动物模型,以小鼠体重、血脂、炎症和胰岛素抵抗指数为指标,筛选评价改善代谢综合征作用的菌株。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 培养基

MRS 液体培养基配制:牛肉膏 10.0 g/L,蛋白胨 10.0 g/L,酵母浸粉 5.0 g/L,无水乙酸钠 5.0 g/L,  $K_2HPO_4$  2.0 g/L,柠檬酸钠 5.0 g/L,  $MgSO_4$  0.2 g/L,  $MnSO_4$  0.05 g/L,吐温-80 1.0 mL/L,葡萄糖 20.0 g/L,加水至 1000 mL,调 pH=6.6, 115 °C 灭 15 min。MRS 固体培养基配制方法: MRS 液体培养基中加入 20.0 g/L 琼脂, 115 °C 灭 15 min, 制备琼脂平板。

### 1.2 仪器与试剂

总胆固醇 (Total cholesterol, TC)、甘油三酯 (Triglyceride, TG)、高密度脂蛋白 (High density lipoprotein, HDL-C)、低密度脂蛋白 (Low density lipoprotein, LDL-C) 检测试剂盒购于南京建成生物技术公司; 肿瘤坏死因子- $\alpha$  (Tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 $\beta$  (Interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6)、胰岛素 (Insulin, INS)、游离脂肪酸 (Free fatty acids, FFA)、C-反应蛋白 (C-Reactive Protein, CRP)、脂多糖 (Lipopolysaccharides, LPS) 检测试剂盒由上海江莱生物科技有限公司提供; 蛋白质定量 (Bicinchoninic acid, BCA) 试剂盒购于北京鼎国昌盛生物技术有限公司。基础饲料和高脂饲料 (83.3%基础饲料+10%猪油+3%胆固醇+3%白砂糖+0.5%的胆酸钠+0.2%丙基硫氧嘧啶, 均为质量分数) 由长春市亿斯实验动物技术有限责任公司提供。

MLS-3780 型高压蒸汽灭菌锅, 日本 Sanyo 公司; HZQ-Q 型电热恒温培养箱, 上海一恒实验设备有限公司; 705 型超低温冰箱, 美国 Thermo Electron 公司; Sorvall Evolution RC 型高速冷冻离心机, 美国 Thermo 公司; 卓越型血糖仪, 德国 Roche 诊断有限公司; ELx800 型全自动酶标仪, 美国 BioTek 公司。

### 1.3 菌株的分离与鉴定

采集东北酸菜、西藏灵菇、内蒙古奶豆腐等传统发酵食品样品 6 份, 从中分离乳酸菌新菌株。取 5 g 上述样品分别加入 45 mL 灭菌 PBS 缓冲液 (pH 7.0) 匀浆, 吸取上清液逐级倍比稀释, 选择 3 个适宜的稀释倍数并吸取 100  $\mu$ L 稀释液涂布于 MRS 琼脂平板, 37 °C 培养 48~72 h。挑取平板中乳杆菌典型菌落即边缘规则且表面光滑湿润的乳白色菌落, 继续在 MRS

琼脂平板划线分纯直至得到纯菌,并将菌株在含 30% (V/V) 甘油的 MRS 培养基中-80 °C 冻存。将分纯的菌株进行革兰氏染色、显微镜检、过氧化氢酶活性检测。将初步鉴定为乳杆菌的新菌株进行 16S rDNA 序列分析和 API 鉴定,并以此鉴定菌种类别。

新分离乳杆菌对碳水化合物的发酵试验采用生物公司的 API 50 CHL 试条进行分析,具体操作过程参照张雪<sup>[12]</sup>等的实验方法进行,将各菌株的发酵结果提交至测定北京生物梅里埃公司判定实验结果。

16S rDNA 序列扩增和比对。采用 CTAB 法提取基因组 DNA,利用 Yoon<sup>[13]</sup>等人设计的引物(16sF: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3', 16sR: 5'-AGAAAGGAGGTGATCCAGC-3')进行 PCR 扩增,扩增产物经测序后,与 GenBank 中已知序列通过 BLAST 同源性比对分析,以 16S rDNA 序列同源性(大于 99%)确定种属,利用 MEGA 4.0 软件中的 Neighbor-Joining 法构建系统发育树。

#### 1.4 菌株活化及菌悬液的制备

6 株植物乳杆菌冻存菌株分别在 MRS 液体培养基中连续活化 3 代后,按 3% (V/V) 的比例接入液体 MRS 培养基中,37 °C 静置培养 16 h,离心(4000 r/min, 4 °C, 10 min),弃上清,菌体沉淀用灭菌生理盐水洗涤 2 次,离心(4000 r/min, 4 °C, 10 min),灭菌生理盐水调整菌液浓度为  $1.0 \times 10^9$  cfu/mL,4 °C 保存、备用。

#### 1.5 实验动物和造模<sup>[14]</sup>

清洁级 ICR 雄性健康小鼠 100 只,7 周龄,体质量 35~40 g,购于长春市亿斯实验动物技术有限公司,生产许可证号: SCXK(吉)-2011-0004。适应性饲养 1 周后,随机选取 10 只为对照组给予基础饲料和自由饮用纯净水,余下动物给予高脂饲料和 10%果糖饮水,连续 8 周构建代谢综合征模型。在此期间,每 2 周测量一次体质量,并在禁食 12 h 后尾静脉采血测量空腹血糖(FBG)。造模结束后,小鼠禁食不禁水 12 h 后尾静脉取血测量血脂(TC、TG、LDL-C 和 HDL-C)、空腹血糖(FBG)和胰岛素(INS)水平,根据公式计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR) = (INS × FBG / 22.5)。造模成功小鼠筛选标准:以下三项指标(1)体质量超对照组平均体质量的 20%;或(2)血清脂质水平显著升高,HDL-C 水平显著降低;或(3)胰岛素抵抗指数显著高于对照组,符合上述三项的其中两项即代表代谢综合征模型构建成功。选取建模成功小鼠 70 只随机分为 7 组,每组 10 只,分别为模型组(1 组)和植物乳杆菌组(共 6 组),并继续饲喂高脂饲料和

10%果糖水。植物乳杆菌各组每天以 12 ml/kg 的剂量灌胃菌悬浮液,对照组和模型组给予相同量的蒸馏水,持续 6 周(第 9~14 周)。末次菌液灌胃 12 h 后,麻醉各组小鼠,眼球取血,离心(3000 r/min, 4 °C, 10 min),收集血清冻存备用。

#### 1.6 血清生化指标检测

按照 ELISA 试剂盒操作测定血脂指标(TC、TG、HDL-C、LDL-C、FFA),血清炎症指标(TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 、CRP 和 LPS)和 INS 水平。

#### 1.7 统计分析

使用 SPSS 23.0 软件的单因素方差分析(ANOVA)来比较各组实验数据的显著性,数据均表述为  $\bar{x} \pm s$ ,以  $p$  值表示统计学差异。与模型组比较,#差异显著( $p < 0.05$ ),##差异极显著( $p < 0.01$ );与对照组比较,\*差异显著( $p < 0.05$ ),\*\*差异极显著( $p < 0.01$ )。

## 2 结果与讨论

### 2.1 菌株的分离与鉴定

表 1 菌株的菌落特征

Table 1 Colony characteristics of the *L. plantarum* strain

菌株	直径/mm	形状	颜色	边缘规则度	表面	透明度
S2-5	2.1	圆形凸起	乳黄	规则	光滑	不透明
S38	2.0	圆形凸起	灰白	规则	光滑	不透明
S39	2.2	圆形凸起	乳白	规则	光滑	不透明
S9	1.9	圆形凸起	乳白	规则	光滑	不透明
C11	2.1	圆形凸起	乳黄	规则	光滑	不透明
P3-18	2.0	圆形凸起	灰白	规则	光滑	不透明

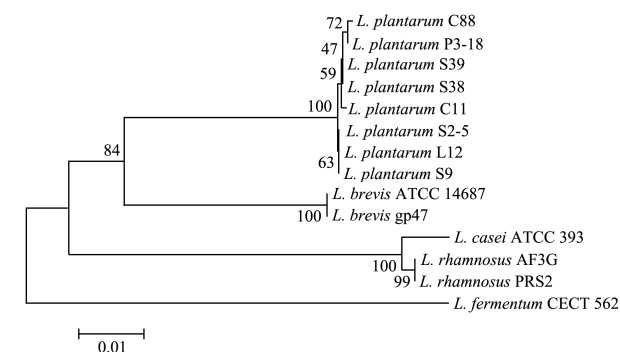


图 1 基于 16S rDNA 基因序列的系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree based on 16S rDNA gene sequence

从 6 份样品中共分离 23 株新菌株,菌落在 MRS 琼脂培养基上的菌落特征如表 1 所示。23 株新菌株革兰氏染色阳性,显微镜观察呈短杆状,  $H_2O_2$  酶反应阴

性,初步鉴定为乳杆菌,菌株命名后保存。

从分离菌株中选取 6 株不同来源的代表性菌株利用 API 50 CHL 试条进行分析鉴定。将 API 发酵结果与 API 数据库现存的数据进行比对发现,新分离的 6 株菌株均为植物乳杆菌 (*L. plantarum*)。

将测序得到的 6 株乳杆菌的 16S rDNA 序列信息与 NCBI 已提交的 16S rDNA 序列进行 BLAST 同源性比对,结果发现 6 株乳杆菌均与植物乳杆菌同源性达 99% 以上。将测得序列的 6 株乳杆菌的序列构建的系统发育树如图 1 所示。可以看出分离得到的 6 株乳杆菌与植物乳杆菌 *L. plantarum* C88 (Genebank: GU290217.1) 和 *L. plantarum* L12 (Genebank:

MH916634.1) 聚类在同一分支上,具有高度同源性。综合上述结果,6 株乳杆菌均鉴定为植物乳杆菌(*L. plantarum*)。

## 2.2 菌株对代谢综合征小鼠体质量的影响

表 2 是经 6 株不同菌株灌胃后小鼠体质量变化情况。结果表明,在造模结束(第 8 周)时,模型组和各乳杆菌组小鼠与对照组体重差异显著。第 10~14 周,各乳杆菌组小鼠体质量呈下降趋势,并低于模型组,其中灌胃 S9、S2-5 和 C11 菌株的小鼠体质量下降明显,分别下降 17.36%、11.61%、14.21%,具有显著性。

表 2 不同菌株对代谢综合征小鼠体质量的影响

Table 2 Effects of *L. plantarum* strains on body weight in mice with metabolic syndrome

组别	第 8 周	第 10 周	第 12 周	第 14 周
对照	41.36±4.91 <sup>###</sup>	42.10±4.05 <sup>###</sup>	43.88±4.69 <sup>###</sup>	46.21±4.83 <sup>###</sup>
模型	51.82±7.65 <sup>**</sup>	56.04±7.83 <sup>**</sup>	57.32±6.87 <sup>**</sup>	57.62±5.18 <sup>**</sup>
S2-5	50.80±3.00	50.41±3.10 <sup>#</sup>	50.53±3.30	50.93±3.76 <sup>#</sup>
S38	50.70±2.17	49.65±3.96 <sup>#</sup>	49.69±5.81 <sup>###</sup>	51.03±4.80
S39	52.67±6.39	51.15±6.02	50.70±4.34	51.20±4.74
S9	51.03±5.12	47.85±4.20 <sup>###</sup>	47.70±4.31 <sup>###</sup>	47.62±4.10 <sup>###</sup>
C11	49.97±1.74	49.13±3.31 <sup>###</sup>	49.04±3.47 <sup>###</sup>	49.43±2.98 <sup>###</sup>
P3-18	51.36±5.23	53.00±5.19	51.76±4.13	53.71±5.01

注:与模型组比较,#差异显著( $p<0.05$ ),###差异极显著( $p<0.01$ );与对照组比较,\*差异显著( $p<0.05$ ),\*\*差异极显著( $p<0.01$ )。下表同。

表 3 不同菌株对代谢综合征小鼠血脂水平的影响

Table 3 Effects of *L. plantarum* strains on blood lipid levels in mice with metabolic syndrome

组别	TC/(mmol/L)	TG/(mmol/L)	HDL <sup>-</sup> /(mmol/L)	LDL <sup>-</sup> /(mmol/L)	FFA/( $\mu$ mol/L)
对照	13.69±1.10	3.07±0.47	28.57±2.49 <sup>###</sup>	0.45±0.15	448.88±32.33 <sup>###</sup>
模型	16.64±1.21 <sup>*</sup>	3.71±0.04 <sup>*</sup>	21.74±2.97 <sup>**</sup>	0.61±0.25 <sup>*</sup>	549.86±27.40 <sup>**</sup>
S2-5	14.24±1.62 <sup>#</sup>	4.07±0.43	21.58±3.81 <sup>*</sup>	0.78±0.60	476.21±33.69
S38	15.37±2.19	4.02±1.13	23.57±3.48	0.92±0.82	493.55±19.01
S39	15.61±2.14	4.34±0.03	23.68±2.00	1.29±0.41	390.55±30.78 <sup>###</sup>
S9	14.44±1.01 <sup>#</sup>	3.34±0.48 <sup>#</sup>	25.20±3.82 <sup>#</sup>	0.48±0.31 <sup>#</sup>	372.11±19.54 <sup>###</sup>
C11	17.37±3.50	3.73±0.47	23.71±4.32	0.60±0.27	559.49±16.92
P3-18	21.62±1.62	3.02±0.38 <sup>#</sup>	22.48±3.88	0.50±0.33 <sup>#</sup>	468.96±15.03 <sup>#</sup>

## 2.3 菌株对代谢综合征小鼠血脂指标的影响

由表 3 可以看出,与模型组相比,菌株 S9 能显著改善代谢综合征模型小鼠中血脂紊乱情况,其中 TC 下降了 13.22%、TG 下降了 9.97%、LDL-C 下降了 21.31%、FFA 下降了 32.33%、HDL-C 升高了 15.91%,差异具有统计学意义( $p<0.05$  或  $p<0.01$ ),说明 S9 在改善 FFA 水平上能力较强;与其他菌株组相比,该组的表现更为显著,这说明植物乳杆菌 S9 在改善代谢

综合征小鼠的血脂代谢紊乱方面表现的较为突出。

高糖高脂饮食诱导的代谢综合征模型鼠饮食中补充实验菌株,特别是植物乳杆菌 S9,对改善血脂异常有明显效果。与模型组相比,饲喂植物乳杆菌 S9 可显著降低血清 TC、LDL-C、TG 的水平,显著提高 HDL-C 的水平。Rather<sup>[15]</sup>等研究发现到,含益生菌饮食连续 8 周饲喂显著降低高脂饮食诱导的 C57BL/6 小鼠血清 TC 和 LDL-C,这与我们的研究结果相似。一些研究也证实,乳酸菌改善高脂/高糖饮食诱导的肥

胖、糖尿病和脂肪肝等代谢紊乱疾病血清血脂水平存在菌株差异性,例如 Lee<sup>[16]</sup>等将鼠李糖乳杆菌 PL60 细胞注射给高脂饮食的 C57BL/6 小鼠,观察到对血清 HDL-C、LDL-C 和 TC 无影响。Salaj<sup>[17]</sup>等比较了两株植物乳杆菌 LS/07 和 Biocenol LP96 对高脂饲料喂养大鼠脂质代谢和体重的影响,结果植物乳杆菌 LS/07 降低了血清胆固醇和 LDL 胆固醇,而植物乳杆菌 Biocenol LP96 降低了甘油三酯和 VLDL,而血清 HDL 水平和肝脏脂质无明显变化。本研究的结果同样证明了 6 株植物乳杆菌在改善代谢综合征模型小鼠血脂水平也存在差异。有研究认为益生菌的降低血脂作用可能是与脂肪酶活性的启动、脂质的肠道吸收减少或脂质分解代谢和/或抗氧化活性的增加有关<sup>[18]</sup>。

表 4 不同菌株对代谢综合征小鼠炎症水平的影响

Table 4 Effects of *L. plantarum* strains on inflammation levels in mice with metabolic syndrome

组别	IL-1 $\beta$ /(pg/mL)	TNF- $\alpha$ /(pg/mL)	IL-6/(pg/mL)	CRP/(ng/mL)	LPS/(eu/L)
对照	76.83 $\pm$ 8.31 <sup>###</sup>	223.18 $\pm$ 21.47 <sup>###</sup>	84.75 $\pm$ 6.37 <sup>###</sup>	139.43 $\pm$ 1.40 <sup>###</sup>	792.13 $\pm$ 53.91 <sup>#</sup>
模型	90.00 $\pm$ 4.80	371.89 $\pm$ 64.18 <sup>**</sup>	110.30 $\pm$ 10.93 <sup>**</sup>	171.44 $\pm$ 9.58	928.33 $\pm$ 43.38 <sup>*</sup>
S2-5	83.60 $\pm$ 2.83	305.79 $\pm$ 49.69	87.04 $\pm$ 8.90 <sup>##</sup>	154.61 $\pm$ 6.91 <sup>#</sup>	908.85 $\pm$ 61.95
S38	88.25 $\pm$ 5.73	308.69 $\pm$ 58.68 <sup>###</sup>	97.01 $\pm$ 13.76	131.18 $\pm$ 24.20 <sup>###</sup>	893.27 $\pm$ 51.02
S39	74.50 $\pm$ 8.66 <sup>###</sup>	364.12 $\pm$ 45.59	97.35 $\pm$ 3.17 <sup>#</sup>	126.43 $\pm$ 15.38	872.19 $\pm$ 39.24 <sup>#</sup>
S9	79.17 $\pm$ 5.01 <sup>###</sup>	295.80 $\pm$ 57.10 <sup>###</sup>	92.76 $\pm$ 5.98 <sup>###</sup>	107.52 $\pm$ 4.80 <sup>###</sup>	835.36 $\pm$ 23.76 <sup>#</sup>
C11	95.00 $\pm$ 10.68	352.45 $\pm$ 97.80	99.53 $\pm$ 32.09	172.27 $\pm$ 3.29	775.4 $\pm$ 189.43 <sup>###</sup>
P3-18	81.13 $\pm$ 2.87 <sup>###</sup>	379.90 $\pm$ 38.40	98.51 $\pm$ 10.14	117.49 $\pm$ 9.06	848.45 $\pm$ 75.91 <sup>#</sup>

高糖高脂饮食诱导的血脂谱改变和胰岛素抵抗指数升高与促炎细胞因子的升高密切相关,我们研究结果也证明了代谢综合征模型鼠的 IL-1、IL-6 和 TNF- $\alpha$  浓度升高。促炎介质的增加可以打破促炎和抗炎介质之间的关键平衡,从而导致炎症并影响正常的生理功能。例如, TNF- $\alpha$  有助于胰岛素抵抗的发展,已被证明可提高实验动物的胰岛素抵抗力<sup>[19]</sup>。我们的发现与先前的结果一致,有研究表明啮齿动物高脂肪和/或果糖饮食中促炎细胞因子增加<sup>[20,21]</sup>。实验菌株饲喂显著降低了 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP、LPS 等促炎细胞因子的表达。另外, Chon<sup>[22]</sup>等植物乳杆菌 KFCC11689P 代谢产物的超滤抑制脂多糖诱导的 RAW 264.7 细胞产生 IL-6 和 TNF- $\alpha$ 。由于升高的 IL-1、IL-6 和 TNF 被认为是糖尿病的独立预测因子<sup>[23]</sup>,降低的浓度揭示了功能性食品的抗糖尿病特性。降低炎症可能是实验菌株改善代谢综合征作用的关键。然而,这种抗炎作用的具体机制还需要进一步研究。

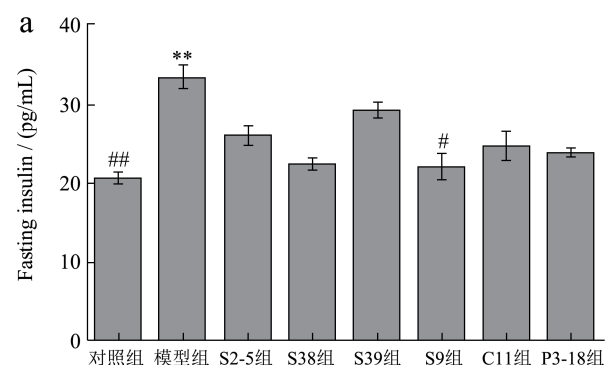
## 2.5 菌株对代谢综合征小鼠体内胰岛素抵抗

## 2.4 菌株对代谢综合征小鼠体内炎症水平的影响

由表 4 所示,菌株 S9 能显著降低代谢综合征模型小鼠血清中炎症因子的水平(IL-1 $\beta$  12.03%、TNF- $\alpha$  20.46%、IL-6 15.90%、CRP 37.28%、LPS 10.01%),与模型组比较,IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP 的差异极显著( $p < 0.01$ )。说明菌株 S9 具有降低代谢综合征小鼠血清中炎症因子水平的作用。除此之外,S39 组、S2-5 组小鼠血清中的几种炎症因子也出现了明显的降低趋势。

## 水平的的影响

胰岛素抵抗是判断代谢综合征的重要指标之一。由图 2a 可以看出,益生菌组小鼠的空腹胰岛素值均低于模型组,且各组间小鼠的空腹胰岛素值存在差异,其中 S9 组小鼠的空腹胰岛素值最低( $p < 0.05$ )。结合胰岛素抵抗指数(图 2b),菌株 S9 组小鼠的胰岛素抵抗指数值低于其他各菌株,并与模型组相比,胰岛素抵抗指数降低了 29.26%。可见,在 6 株植物乳杆菌中,菌株 S9 改善胰岛素抵抗效果最佳。



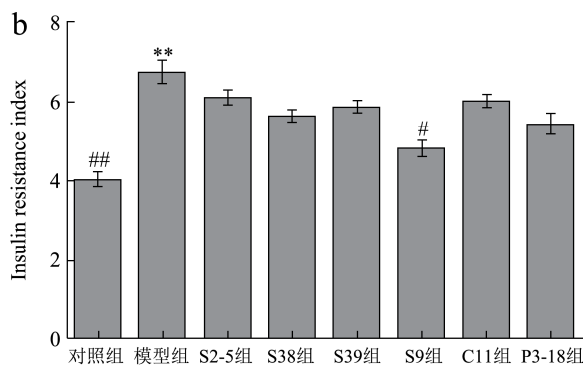


图2 菌株对代谢综合征模型小鼠空腹胰岛素值(a)和胰岛素抵抗指数(b)的影响

**Fig.2 Effects of *L. plantarum* strains on fasting insulin concentration (a) and insulin resistance index (b) in mice with metabolic syndrome**

注: 与模型组比较, #差异显著 ( $p < 0.05$ ), ##差异极显著 ( $p < 0.01$ ); 与对照组比较, \*\*差异极显著 ( $p < 0.01$ ).

### 3 结论

综上所述, 本研究从传统发酵食品样品中分离了多株乳杆菌新菌株, 采用 API 50 CHL 碳水化合物发酵和 16S rDNA 序列比对, 鉴定了其中 6 株菌株均为植物乳杆菌。评价了 6 株植物乳杆菌改善高糖高脂饮食诱导的代谢综合征的作用, 发现其功能活性有差异, 具有一定的菌株特异性, 其中植物乳杆菌 S9 在降低体质量、调节血脂指标, 降低炎症相关细胞因子表达和改善胰岛素抵抗等方面的作用优于其他菌株, 提示该菌株在调节代谢紊乱相关疾病方面具有潜在的应用价值。

### 参考文献

- [1] 许梦思,汪茂荣.代谢综合征研究进展[J].实用中西医结合临床,2017,17(9):163-165  
XU Meng-si, WANG Mao-rong, Research progress of metabolic syndrome [J]. Practical Clinical Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2017, 17(9): 163-165
- [2] LI Ke-lin, WEN Ming, FAN J X. Neighborhood racial diversity and metabolic syndrome: 2003~2008 national health and nutrition examination survey [J]. Journal of Immigrant & Minority Health, 2019, 21(1): 151-160
- [3] TAN Hui-zhi, ZHAI Qi-xiao, CHEN Wei. Investigations of *Bacteroides* spp. towards next-generation probiotics [J]. Food Research International, 2019, 116(2): 637-644
- [4] 许宁宇,余梓涵,刁世童,等.益生菌在代谢综合征中的潜在作用及研究进展[J].重庆医学,2019,48(13):2297-2300,2304  
XU Ning-ning, YU Zi-han, DIAO Shi-tong, et al. Potential role of probiotics in metabolic syndrome and its study advances [J]. Chongqing Medicine, 2019, 48(13): 2297-2300, 2304
- [5] 朱广素,王刚,王园园,等.三株植物乳杆菌对代谢综合征大鼠肠道菌群的影响[J].食品与发酵工业,2018,44(9):53-60  
ZHU Guang-su, WANG Gang, WANG Yuan-yuan, et al. Effects of three *Lactobacillus plantarum* strains on gut microbiota in metabolic syndrome rats [J]. Food and Fermentation Industries, 2018, 44(9): 53-60
- [6] Kim B, Park K Y, Ji Y, et al. Protective effects of *Lactobacillus rhamnosus* GG against dyslipidemia in high-fat diet-induced obese mice [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2016, 473(2): 530-536
- [7] Angela M P, Alexander N, Yolanda S, et al. *Bifidobacterium pseudocatenulatum* CECT 7765 reduces obesity-associated inflammation by restoring the lymphocyte-macrophage balance and gut microbiota structure in high-fat diet-fed mice [J]. Plos One, 2015, 10(7): 69-76
- [8] YIN Ya-ni, YU Qiong-fen FU Nian, et al. Effects of four *Bifidobacteria* on obesity in high-fat diet induced rats [J]. World Journal of Gastroenterology, 2010, 16(27): 3394-3401
- [9] QIAO Yi, SUN Jin, XIA Shu-fang, et al. Effects of different *Lactobacillus reuteri* on inflammatory and fat storage in high-fat diet-induced obesity mice model [J]. Journal of Functional Foods, 2015, 4(14): 424-434
- [10] WANG Jing-jing, TANG Huang, ZHANG Chen-hong, et al. Modulation of gut microbiota during probiotic-mediated attenuation of metabolic syndrome in high fat diet-fed mice [J]. ISME Journal, 2015, 9(1): 1-15
- [11] Park W. Gut microbiomes and their metabolites shape human and animal health [J]. Journal of Microbiology, 2018, 56(3): 151-153
- [12] 张雪,李达,赵玉娟,等.内蒙古奶豆腐中产胞外多糖乳酸菌的分离筛选[J].食品科学,2010,31(1):141-144  
ZHANG Xue, LI Da, ZHAO Yu-juan, et al. Isolation and screening of exopolysaccharides-producing lactic acid bacteria from inner mongolia dairy Tofu [J]. Food Science, 2010, 31(1): 141-144
- [13] Yoon J H, Lee S T, Park Y H. Inter-and intraspecific phylogenetic analysis of the genus *Nocardioideis* and related taxa based on 16S rDNA sequences [J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1998, 48(1): 187-194
- [14] CONG Wei-na, TAO Rong-ya, TIAN Jin-ying, et al. The establishment of a novel non-alcoholic steatohepatitis model

- accompanied with obesity and insulin resistance in mice [J]. Life Sciences, 2008, 82(19-20): 983-990
- [15] Rather S A, Pothuraju R, Sharma R K, et al. Anti-obesity effect of feeding probiotic dahi containing *Lactobacillus casei* NCDC 19 in high fat diet-induced obese mice [J]. International Journal of Dairy Technology, 2014, 67(4): 504-509
- [16] Lee H Y, Park J H, Seok S H, et al. Human originated bacteria, *Lactobacillus rhamnosus* PL60, produce conjugated linoleic acid and show anti-obesity effects in diet-induced obese mice [J]. Biochimica Et Biophysica Acta, 2006, 1761(7): 736-744
- [17] Salaj R, Stofilová J, Soltsová A, et al. The effects of two *Lactobacillus plantarum* strains on rat lipid metabolism receiving a high fat diet [J]. The Scientific World Journal, 2013, 9(29): 1-7
- [18] Harisa G I, Taha E I, Khalil A F, et al. Oral administration of *Lactobacillus acidophilus* restores nitric oxide level in diabetic rats [J]. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 2009, 3(3): 2963-2969.
- [19] Cani P D, Amar J, Iglesias M A, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance [J]. Diabetes, 2007, 56(7): 1761-1772
- [20] Hotamisligil G, Shargill N, Spiegelman B. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : Direct role in obesity-linked insulin resistance [J]. Science, 1993, 259(5091): 87-91
- [21] Tsutomu W, Hiroki K, Yusuke M, et al. Spironolactone improves glucose and lipid metabolism by ameliorating hepatic steatosis and inflammation and suppressing enhanced gluconeogenesis induced by high-fat and high-fructose diet [J]. Endocrinology, 2010, 151(5): 2040-2049
- [22] Chon H, Choi B, Lee E, et al. Immunomodulatory effects of specific bacterial components of *Lactobacillus plantarum* KFCC11389P on the murine macrophage cell line RAW 264.7 [J]. Journal of Applied Microbiology, 2009, 107(5): 1588-1597
- [23] Chen F C, SHEN Kuo-ping, KE Liang-yin, et al. Flavonoids from *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze seed ameliorates TNF- $\alpha$  induced insulin resistance in HepG2 cells [J]. Saudi Pharmaceutical Journal, 2019, 27(4): 507-516

---

(上接第 28 页)

- [20] SUN X, ZHANG H, ZHANG Y, et al. Caspase-dependent mitochondrial apoptotic pathway is involved in astilbin-mediated cytotoxicity in breast carcinoma cells [J]. Oncol Rep, 2018, 40(4): 2278-2286

---

(上接第 48 页)

- [21] 叶文斌,罗辉,何玉鹏,等.  $Zn^{2+}$ 对果蝇生育力和寿命及抗氧化能力的影响[J].井冈山大学学报(自然科学版),2019,40(1): 29-33  
YE Wen-bin, LUO Hui, HE Yu-peng, et al. Effects of  $Zn^{2+}$  on the reproductive capacity, lifetime and antioxidant ability of *Drosophila melanogaster* [J]. Journal of Jinggangshan University (Natural Sciences Edition), 2019, 40(1): 29-33
- [22] 叶文斌,王昱,王瀚,等.  $Zn^{2+}$ 对铅中毒果蝇生育力、寿命及抗氧化能力的影响[J].化学与生物工程,2019,36(2):55-61  
YE Wen-bin, WANG Yu, WANG Han, et al. Effects of  $Zn^{2+}$  on reproductive capacity, lifetime, and antioxidant ability of lead-poisoned *Drosophila melanogaster* [J]. Chemistry & Bioengineering, 2019, 36(2): 55-61
- [23] 王菊凤,李鹤鸣.蛹虫草多糖对果蝇种群期望寿命的影响[J].湖南农业科学,2010,9:133-135  
WANG Ju-feng, LI Hu-ming. Influence of *Cordyceps militaris* polysaccharide on expected life of *Drosophila melanogaster* population [J]. Hunan Agricultural Sciences, 2010, 9: 133-135
- [24] 周意,栾洁,刘玉香,等.玛咖多糖对果蝇的抗衰老作用[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(18):151-154  
ZHOU Yi, LUAN Jie, LIU Yu-xiang, et al. Anti-aging effect of MACA polysaccharide on *Drosophila melanogaster* [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2014, 20(18): 151-154