

# 动物双歧杆菌乳亚种XLTG11对小鼠肠道的益生作用

汪小东, 刘铭洋, 翟纯毅, 唐宏伟, 李柏良\*

(东北农业大学食品学院, 乳品科学教育部重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150006)

**摘要:** 该研究探讨了动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 对小鼠肠道的益生作用。将 48 只 BALB/c 小鼠适应性喂养 7 d 后, 随机分成空白对照组、XLTG11 低剂量组、XLTG11 中剂量组和 XLTG11 高剂量组。其中受试组每只分别灌胃  $1.6 \times 10^6$ 、 $1.6 \times 10^7$  和  $1.6 \times 10^8$  CFU 的动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 菌粉, 空白对照组小鼠灌胃等体积的生理盐水。灌胃 14 d 后, 测定小鼠体质量、肠道菌群、组织病理、肠道屏障、肠道通透性和短链脂肪酸含量。结果表明, 与空白对照组相比, 高剂量组小鼠体质量增加 14.51%, 小鼠肠道的菌群丰度和菌群结构发生改变, 小鼠粪便中双歧杆菌和乳杆菌的数量分别增加 29.32% 和 33.88%, 产气荚膜梭菌的数量下降 24.49%, 并且低、中、高剂量组紧密连接蛋白和黏蛋白的表达量增加, 小鼠血清中 LPS 和 D-乳酸含量下降, 表明动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 可以增强肠道屏障功能, 降低肠道通透性。此外, 小鼠盲肠中短链脂肪酸的含量分别升高 13.66%、43.04%、48.58%。综上, 该研究表明动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 能够对小鼠肠道产生健康益处, 并对肠道菌群具有调节和改善作用。

**关键词:** 动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11; 肠道菌群; 组织病理; 肠道屏障; 短链脂肪酸

文章编号: 1673-9078(2024)09-27-36

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.9.1017

## Probiotic Effect of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* XLTG11 on the Intestinal Tract of Mice

WANG Xiaodong, LIU Mingyang, ZHAI Chunyi, TANG Hongwei, LI Bailiang\*

(College of Food Science, Key Laboratory of Dairy Science, Ministry of Education, Northeast Agricultural University, Harbin 150006, China)

**Abstract:** The probiotic effects of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* XLTG11 on the intestinal tract of mice were investigated. After adaptive feeding for seven days, 48 BALB/c mice were randomly divided into a blank control group, XLTG11 low dose group, XLTG11 middle dose group, and XLTG11 high dose group. The three subject groups had *B. animalis* *Lactis* subspecies XLTG11 bacterial powder gavage, with doses of  $1.6 \times 10^6$  CFU/each,  $1.6 \times 10^7$  CFU/each, and  $1.6 \times 10^8$  CFU/each, respectively. The gavage of the blank control group had an equal volume of saline. After 14 days of gavage, the body mass, intestinal microbiota, histopathology, intestinal barrier, intestinal permeability, and short-chain fatty acid content of mice were measured. The results indicated that, compared to the blank control group, the body mass of mice in the high-dose group increased by 14.51%. Changes occurred to the intestinal microbiota abundance and composition, with the numbers of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* in the feces of mice increasing by 29.32% and 33.88%, respectively. The quantity of

引文格式:

汪小东,刘铭洋,翟纯毅,等.动物双歧杆菌乳亚种XLTG11对小鼠肠道的益生作用[J].现代食品科技,2024,40(9):27-36.

WANG Xiaodong, LIU Mingyang, ZHAI Chunyi, et al. Probiotic effect of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* XLTG11 on the intestinal tract of mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(9): 27-36.

收稿日期: 2023-08-28

基金项目: 中国博士后科学基金面上项目 (2022M721071)

作者简介: 汪小东 (1996-), 男, 硕士在读, 研究方向: 食品发酵工程, E-mail: xdwangcn@163.com

通讯作者: 李柏良 (1989-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 乳品科学与食品微生物学, E-mail: 15846092362@163.com

*Clostridium perfringens* decreased by 24.49%, and the expression level of tight junction proteins and mucins increased in the low-, medium-, and high-dose groups. The levels of LPS and D-lactic acid in the sera of mice also decreased. These findings indicated that *B. animalis* subsp. *lactis* XLTG11 could enhance intestinal barrier function and reduce intestinal permeability. In addition, the levels of short-chain fatty acids in the cecum of mice in the three groups were 13.66%, 43.04%, and 48.58%, respectively. In conclusion, this study demonstrated that *B. animalis* subsp. *lactis* XLTG11 could confer health benefits to the intestine in mice and had a regulatory and ameliorative effect on the intestinal microbiota.

**Key words:** *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* XLTG11; intestinal flora; histopathology; intestinal barrier; short-chain fatty acid

双歧杆菌是一组革兰氏阳性微生物，可以代谢多糖产生乳酸和短链脂肪酸。双歧杆菌是人类口腔、女性生殖道和胃肠道天然微生物群的一部分。目前的研究表明，特异性双歧杆菌可以调节肠道微生物群，调节肠道 pH 值，改善肠上皮屏障功能，调节肠道免疫力，竞争性抑制病原体对肠粘膜的粘附，削弱病原体的毒力因子，并产生生物活性化合物<sup>[1]</sup>。一些双歧杆菌可以定植在上皮细胞并作为对抗病原体的屏障<sup>[2]</sup>。一些双歧杆菌可能会在肠道中分泌乳酸以降低 pH 值并与致病微生物竞争营养物质<sup>[3]</sup>。除此之外，双歧杆菌可以分解膳食纤维产生乳酸和乙酸盐，调控 pH 值，并促进有益和共生微生物生长以及抵抗有害微生物的入侵<sup>[4]</sup>。双歧杆菌和乳酸杆菌都可以产生乙酸盐，这是肠道中最常见的短链脂肪酸，因此，双歧杆菌和乳酸杆菌可以与产生丁酸盐的细菌交叉喂养，促进丁酸盐的产生，丁酸盐可以调节肠道免疫细胞并改善肠道炎症<sup>[5]</sup>。另外，双歧杆菌可以产生脂肪酸、过氧化氢、细菌素和其他物质来发挥抗菌作用<sup>[3]</sup>。并且，双歧杆菌可以通过调节紧密连接网络和细胞凋亡来调节肠粘液层，并增强肠上皮屏障<sup>[6]</sup>。此外，双歧杆菌可以调节免疫细胞（B 细胞、巨噬细胞、T 细胞和树突状细胞）的功能活性，调节炎性细胞因子，最终影响肠道免疫<sup>[7]</sup>。

在本研究中，以动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 为实验菌株，研究了其对小鼠体质量和肠道菌群组成的影响，另外，通过组织病理学分析、肠道屏障、肠道通透性和短链脂肪酸的测定进一步探讨了动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 通过影响肠道菌群对小鼠肠道健康的影响，以揭示和验证动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 的益生特性，为动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 益生菌制剂的合理应用及保健食品的开发提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料和仪器

#### 1.1.1 实验材料

动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 菌粉，金华银河生物科技有限公司；SPF 级雄性 BALB/c 小鼠，体质量为 18~22 g。实验动物饲养于屏障环境动物室，温度 20~23 °C，12 h 明暗交替，期间自由饮水、摄食。实验过程中所有动物操作均按照东北农业大学《实验动物管理条例》进行，经东北农业大学动物伦理委员会批准，动物伦理许可证编号：NEAUEC20230401。

#### 1.1.2 实验仪器

Infinite M NANO TECAN 酶标仪，广州深华公司；CPA225D 电子分析天平，美国 Sartorius 公司；Centrifuge5702 RH- 低速离心机，德国 Eppendorf 公司；Hula Dancer basic 漩涡振荡器，德国 IKA 公司；Milli-QEQ 7000 超纯水机，法国 Millipore 公司；UV-4802 紫外可见分光光度计，尤尼柯仪器有限公司；GI54DW 高压灭菌锅，美国 Zealway 公司；DHG-9003 电热恒温鼓风干燥箱，上海一恒科技有限公司；NU-9483E 超低温冰箱，美国 Nuair 公司；HHW21.420D 恒温水箱，天津泰斯特仪器有限公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 实验分组及受试样品给予

48 只 BALB/c 小鼠饲养于鼠房中，温度 25 °C，湿度 45%~55%，12 h 明暗交替照明，由标准饲料喂养，适应性喂养 7 d，自由饮水。适应性喂养 7 d 后，将实验动物随机分成 4 组，每组 12 只，然后进行正式实验。小鼠随机分组情况为：空白对照组（Normal Control, NC）、XLTG11 低剂量组（每只  $1.6 \times 10^6$  CFU, Low Dose, LD）、XLTG11 中剂量组（每只  $1.6 \times 10^7$  CFU,

Medium Dose, MD)、XLTG11 高剂量组(每只  $1.6 \times 10^8$  CFU, High Dose, HD), 菌液灌胃剂量为 0.2 mL/d。其中空白对照组小鼠灌胃等体积的生理盐水, 受试样品给予时间 14 d, 小鼠具体实验分组情况如表 1 所示。

表 1 小鼠实验分组

Table 1 Experimental grouping of mice

组别	动物数量/只	饲养方式	灌胃剂量 (0.2 mL) (以动物日摄入量计)
空白对照组	12	自由采食	同体积生理盐水
低剂量组	12	自由采食	XLTG11( $1.6 \times 10^6$ CFU)
中剂量组	12	自由采食	XLTG11( $1.6 \times 10^7$ CFU)
高剂量组	12	自由采食	XLTG11( $1.6 \times 10^8$ CFU)

1.2.2 检测指标

1.2.2.1 体质量变化

小鼠初始空腹体质量、实验结束时空腹体质量, 干预期内每 7 d 测 1 次空腹体质量。

1.2.2.2 主要肠道菌的丰度变化测定

在给予受试样品前, 从小鼠的肛门通过无菌操作获取了 0.10 g 粪便样品, 并进行了 10 倍系列稀释, 然后将稀释液接种在各种培养基上(见表 2)。在培养完成后, 采用菌落形态观察、革兰氏染色镜检以及生化反应等方法来鉴定和计数菌落数量, 结果以单位质量粪便菌落形成单位的对数值表示 (lg CFU/g), CFU 根据公式 (1) 计算, 并进行统计处理。最后, 在给予受试样品 24 h 之后, 通过与实验前同样的方式获取了直肠粪便样品, 并使用相同的方法检测 5 种主要肠道菌。最终观察记录双歧杆菌、乳杆菌、肠球菌、肠杆菌和产气荚膜梭菌的变化情况。除此之外, 提取小鼠直肠粪便样品中的微生物 DNA, 本项目采用 Illumina-NovaSeq-6000 平台对群落 DNA 片段进行双端 (Paired-end) 测序。

$$C = \frac{n}{V} \times Dr \quad (1)$$

式中:

$C$  —— 0.10 g 粪便中的菌数 (CFU);

$n$  —— 平板培养基的最终菌落个数;

$V$  —— 吸取稀释液的体积, mL;

$Dr$  —— 稀释倍数。

1.2.2.3 组织病理学分析

苏木素伊红 (Hematoxylin-Eosin, HE) 染色观察肠道病理结构。

1.2.2.4 肠道屏障的测定

利用 qRT-PCR 检测肠道紧密连接蛋白 (Occludin、Claudin-1 和 ZO-1) 和黏蛋白 (MUC1 和 MUC2) 相关基因的 mRNA 表达水平进而测定肠道屏障<sup>[8]</sup>, 相应蛋白的基因引物序列见表 3。

表 2 5种肠道菌的培养和计数方法

Table 2 Cultivation and enumeration methods for 5 species of enteric bacteria

肠道菌	培养基 (平板)	计数
双歧杆菌	双歧杆菌琼脂	白色或乳白色菌落
乳杆菌	乳酸杆菌选择性琼脂	白色或乳白色菌落
肠球菌	叠氮钠-结晶紫-七叶苷琼脂	明显黑色晕圈, 革兰氏阳性球菌
肠杆菌	伊红美蓝琼脂	红色菌落
产气荚膜梭菌	胰酪-亚硫酸盐-环丝氨酸琼脂	黑色菌落

1.2.2.5 肠道通透性的测定

小鼠血清中 LPS 和 D- 乳酸含量的检测按照试剂盒说明书进行操作, 试剂盒购自苏州康乃德生物医药有限公司。

1.2.2.6 短链脂肪酸和乳酸含量的测定

准确称取  $0.80 \pm 0.01$  盲肠内容物放入粪便样本盒中, 用 HALO-F100 粪便处理仪处理, 配制 10% 悬浊液, 取 500  $\mu$ L 悬浊液于 1.5 mL 离心管中, 并加入 100  $\mu$ L 巴豆酸偏磷酸溶液,  $-30$   $^{\circ}$ C 冻结 24 h, 解冻后在  $4$   $^{\circ}$ C 以 8 000 g 离心 3 min 去除蛋白质等杂质, 取上清并用 0.22  $\mu$ m 水系滤膜过滤后采用气相色谱方法测定短链脂肪酸 (乙酸、丙酸和丁酸) 含量<sup>[9]</sup>, 使用乳酸检测试剂盒测量乳酸水平。

表 3 实时荧光定量 PCR 目标基因的引物序列

Table 3 Primer sequences for real-time fluorescence quantitative PCR target genes

基因名称	正向引物序列 (5'~3')	反向引物序列 (5'~3')
MUC1	5'-CTACCACACTCACGGACGCTAC-3'	5'-AAGAGAGACTGCTACTGCCATTACC-3'
MUC1	5'-CGAGCACATCACCTACCACATCATC-3'	5'-TCCAGAATCCAGCCAGCCAGTC-3'
Occludin	5'-TTGGCTACGGAGGTGGCTATGG-3'	5'-CCTTTGGCTGCTCTTGGGTCTG-3'
Claudin-1	5'-GCTGGGTTTCATCCTGGCTTCTC-3'	5'-CCTGAGCGGTCACGATGTTGTC-3'
ZO-1	5'-AACCCGAAACTGATGCTGTGGATGA-3'	5'-CGCCCTTGGAAATGATGTGGAGAG-3'

### 1.3 数据处理

采用 SPSS 27 软件对试验数据进行统计分析, 实验数据以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm SD$ ) 表示, 应用单因素方差分析 Duncan' test 进行多组数据之间的比较,  $P < 0.05$  为差异显著,  $P < 0.01$  为差异极显著。采用 GraphPad Prism 8.0 绘制图表。

## 2 结果与讨论

### 2.1 动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 对小鼠体质量的影响

双歧杆菌是一种重要的益生菌群, 通常用于发酵乳制品<sup>[10]</sup>。本研究通过灌胃动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 菌粉探究了其对小鼠体质量的影响。由表 4 可知, 灌胃动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 菌粉 14 d 后, 与空白对照组相比, 高剂量组的小鼠体质量增加 3.38 g, 增长率为 14.51% ( $P < 0.01$ ), 低剂量组和中剂量组的小鼠体质量均高于空白组, 分别增加 2.01 g 和 2.43 g ( $P < 0.05$ )。这表明动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 可以促进小鼠体质量增加, 严建刚、苗壮壮等<sup>[11,12]</sup>也得出过类似的结论。

表 4 XLTG11 对小鼠体质量的影响

Table 4 Effect of XLTG11 on body weight of mice

组别	终末体质量/g
空白对照组	23.30 $\pm$ 0.13
低剂量组	25.31 $\pm$ 0.10*
中剂量组	25.73 $\pm$ 0.29*
高剂量组	26.68 $\pm$ 0.11**

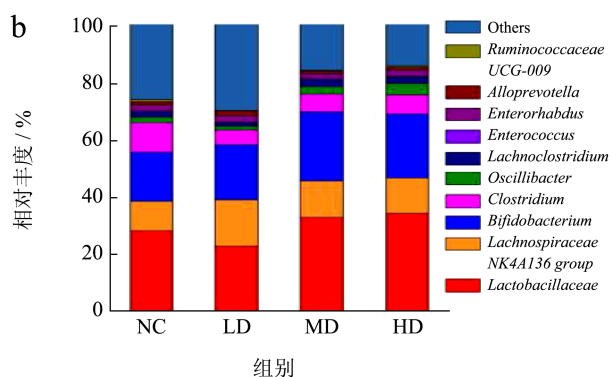
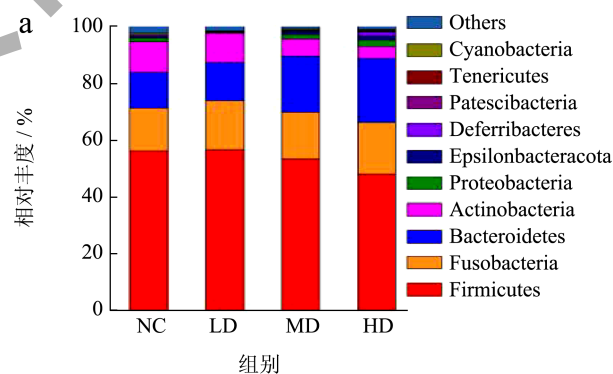
注: \*\*表示  $P < 0.01$ , \*表示  $P < 0.05$ , 与空白对照组相比。  
 $n = 12$ 。

### 2.2 动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 对小鼠肠道菌群丰度的影响

双歧杆菌是人体肠道中最重要的有益微生物之一, 具有多种生理功能, 其中调解肠道菌群的作用尤其备受关注<sup>[13,14]</sup>。肠道内复杂的微生态系统是由各种共生菌群相互竞争、相互拮抗或相互共生而成的<sup>[15]</sup>。肠道微生物及其代谢产物通过多种机制在机体的营养和健康中起着重要作用<sup>[16,17]</sup>。有益菌成为肠道的优势菌群, 是肠道健康的基础, 益生菌通过增加肠道有益菌的相对丰度或抑制致病菌的丰度来

干预肠道微生物。在大多数情况下, 增加肠道有益细菌数量的一种有效的方式是直接摄入含有双歧杆菌或乳酸菌的食物, 或补充可以促进益生菌增殖的膳食成分, 本研究以摄入益生菌的方式增加肠道有益细菌的数量。

由图 1a 和 1b 可知, 门水平上, 各组中厚壁菌门 (Firmicutes)、梭杆菌门 (Fusobacteria) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes) 相对丰度较高。与空白对照组相比, 动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 高剂量组小鼠肠道中厚壁菌门的相对丰度减少了 8.12%, 拟杆菌门增加了 9.83%, 厚壁菌门/拟杆菌门的比值由 4.42 降低至 2.13, 降低了 51.81%, 这表明动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 对厚壁菌门/拟杆菌门有积极的调节作用, 进而改善小鼠肠道的微生物组成<sup>[18]</sup>。在属水平上, 与空白对照组相比, 动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 高剂量组小鼠肠道中乳杆菌属 (*Lactobacillaceae*) 和双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*) 的相对丰度分别增加 6.20% 和 5.15%; 梭菌属 (*Clostridium*) 的相对丰度减少 3.69%; 肠球菌属 (*Enterococcus*) 和肠杆菌属 (*Enterorhabdus*) 的相对丰度变化较小, Ren 等<sup>[19]</sup>关于动物双歧杆菌乳亚种 SF 的研究也得出了类似的结果。



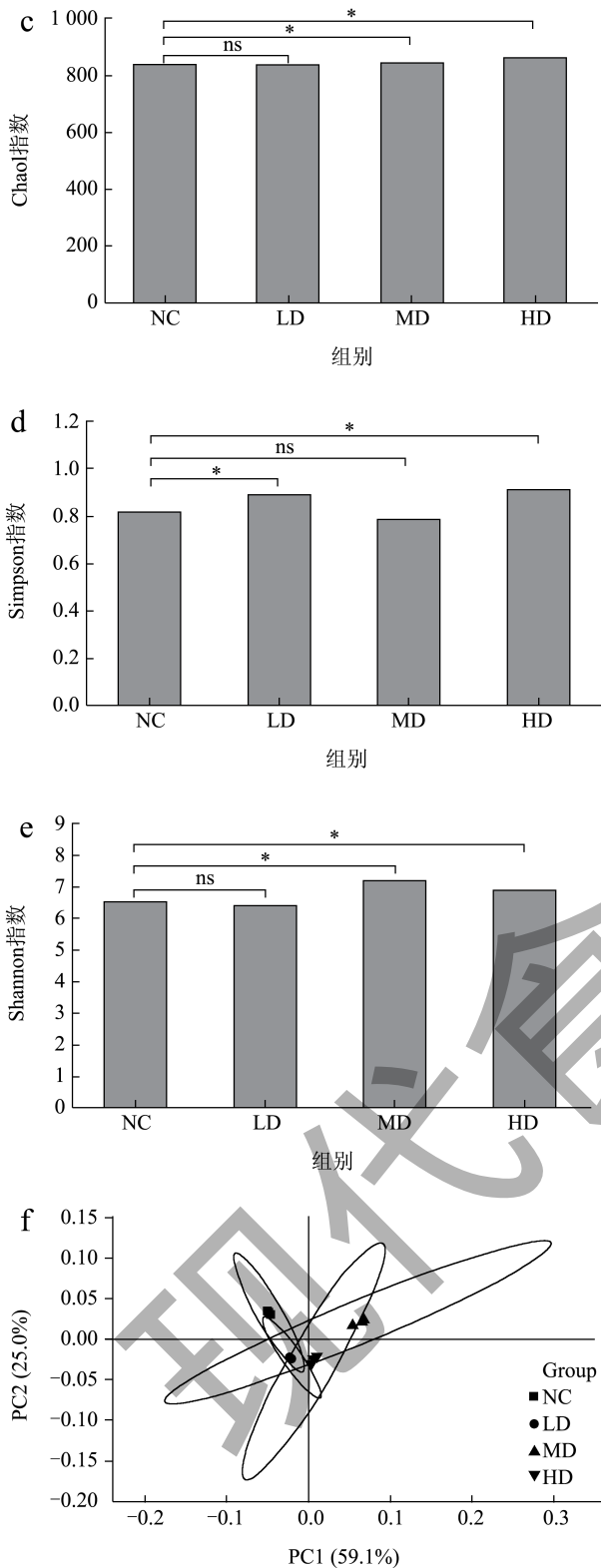


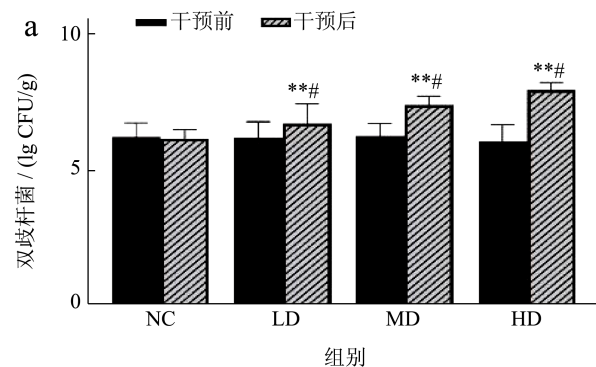
图 1 小鼠肠道菌群门水平 (a)、属水平 (b) 的物种组成及  $\alpha$ -多样性 (c、d 和 e)、 $\beta$ -多样性 (f) 分析

Fig.1 The species composition of phylum level (a), genus level (b) and  $\alpha$ -diversity (c, d and e) and  $\beta$ -diversity analyses (f) of the intestinal flora of mice

注: \* 表示  $P < 0.05$ , 与空白对照组相比。n=12。

$\alpha$ -多样性和  $\beta$ -多样性能够分析评价各组间肠道菌群多样性的差异。 $\alpha$ -多样性如图 1c、1d 和 1e 所示, 由图可知, 与空白对照组相比, 高剂量组的 Chao1 指数、Simpson 指数和 Shannon 指数均有显著增加 ( $P < 0.05$ ), 这表明动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 可以改变小鼠肠道的菌群结构, 增加小鼠肠道菌群的丰富度和多样性, Luo 等<sup>[20]</sup>的研究也得出了类似的研究结果。小鼠肠道菌群的  $\beta$ -多样性如图 1f 所示, 各组小鼠肠道的菌群分布均有明显的聚类现象, 此外, 低、中和高剂量组明显与空白对照组分开, 表明动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 的摄入改变了小鼠的肠道菌群结构, Yin 等<sup>[21]</sup>关于研究与习惯性饮食相关的肠道双歧杆菌的不同功能特征也得出过相似的结果。值得注意的是, 动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 的摄入使小鼠肠道的菌群分布有明显的聚类现象, 但各组之间具有很强的相关性, 这可能是小鼠肠道原有菌群的作用。

由图 2 可知, 动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 菌粉对改善小鼠肠道菌群有显著效果。与空白对照组相比, 灌胃动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 的小鼠粪便中双歧杆菌和乳杆菌的数量显著升高, 中、低、高剂量组双歧杆菌分别增加 9.12%、20.52%、39.32%, 差异有显著性 ( $P < 0.01$ ), 乳杆菌分别增加 8.57% ( $P < 0.05$ )、25.31% ( $P < 0.01$ )、33.88% ( $P < 0.01$ ); 肠球菌和肠杆菌的数量无明显变化; 中、低、高剂量组产气荚膜梭菌的数量依次减少 7% ( $P < 0.05$ )、18.66% ( $P < 0.01$ )、24.49% ( $P < 0.01$ )。这表明动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 进入肠道后, 一方面能够快速在肠道内定植, 使有益菌增加, 有害菌减少; 另一方面可能是通过增强机体部分免疫细胞的功能从而促进了双歧杆菌等有益菌的生长<sup>[22]</sup>。另外马薇薇等<sup>[23]</sup>的研究表明双歧杆菌具有增强小鼠免疫的作用。



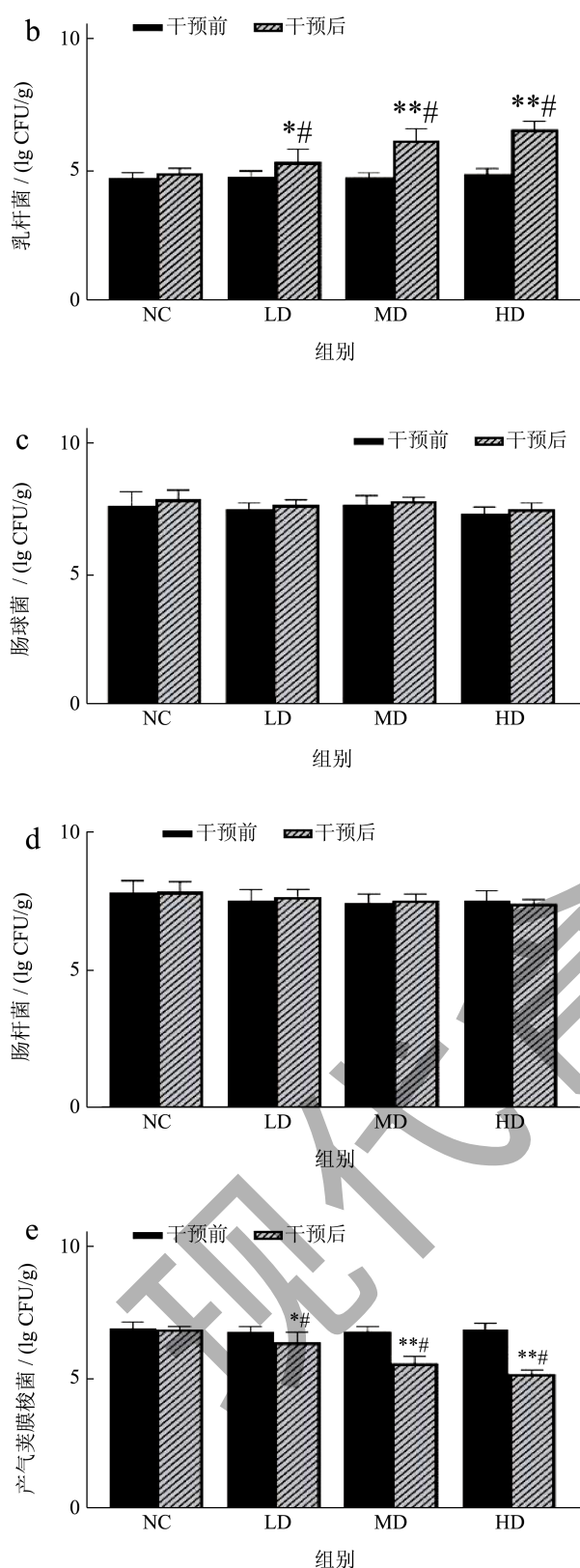


图2 小鼠肠道菌群的变化

Fig.2 Changes in the intestinal flora of mice

注: \*\*表示  $P < 0.01$ , \*表示  $P < 0.05$ , 与空白对照组相比; #表示  $P < 0.05$ , 同组干预前后相比。n=12。

### 2.3 动物双歧杆菌乳亚种XLTG11对小鼠小肠组织病理的影响

动物肠道的形态结构完整性与其抵抗病原和吸收营养物质的能力密切相关<sup>[24]</sup>, 维持肠道基本结构的完整性对维持正常肠道功能起着至关重要的作用<sup>[25]</sup>。另外, 小肠绒毛可以增加肠道的表面积, 从而提高肠道的吸收能力, 是肠道健康的重要指标<sup>[26]</sup>。HE染色的结果反映了各实验组小鼠小肠的组织病理变化情况, 并以此来评价动物双歧杆菌乳亚种XLTG11组对肠粘膜组织结构和绒毛的影响。如图3所示, 与空白对照组相比, 动物双歧杆菌乳亚种XLTG11(低、中、高)剂量组的小鼠小肠黏膜组织结构完好, 无坏死脱落的情况, 腺体排列整齐, 无炎症, 无坏死, 绒毛排列整齐紧密, 粗细均匀, 无明显差异。因此, 可以推断动物双歧杆菌乳亚种XLTG11没有破坏肠粘膜组织结构和绒毛状态, 维持了肠道组织的完整性<sup>[26,27]</sup>。

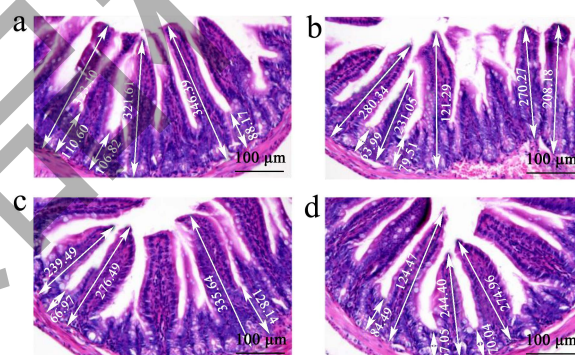


图3 光学显微镜下观察小鼠小肠黏膜组织苏木精-伊红(HE)染色

Fig.3 Hematoxylin-eosin (HE) staining of mouse small intestinal mucosa tissue observed under light microscope

注: a. 空白对照组, b. 低剂量组, c. 中剂量组, d. 高剂量组。

### 2.4 动物双歧杆菌乳亚种XLTG11对小鼠肠道屏障的影响

肠屏障由完整的上皮细胞通过黏蛋白和紧密连接牢固联系在一起, 紧密连接主要是由Occludin蛋白、Claudin-1蛋白和ZO-1蛋白等组成的选择性屏障。肠道上皮细胞间的紧密连接, 是保持肠黏膜屏障功能的结构基础<sup>[28,29]</sup>。MUC1、MUC2和紧密连接蛋白的mRNA表达量可以反映肠道屏障的功能。如图4所示, 与空白对照组相比, 动物双歧杆菌乳亚种XLTG11组(低、中、高)小鼠肠道

MUC1、MUC2、Occludin、Claudin-1 与 ZO-1 蛋白的 mRNA 表达量增加,其中,高剂量组 MUC1 的 mRNA 表达量增加 15%,差异有显著性 ( $P<0.05$ ),MUC2、Occludin、Claudin-1 与 ZO-1 的 mRNA 表达量分别增加 28%、57%、25% 和 41%,差异有显著性 ( $P<0.01$ )。除此之外,由图 4 可知,随着动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 菌粉剂量的增加,黏蛋白和紧密连接蛋白的 mRNA 表达量也随之增加。这表明动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 能够通过上调紧密连接蛋白和黏蛋白的表达量,增强肠道屏障功能,对肠道加强保护作用<sup>[30]</sup>。此前的研究发现,两歧双歧杆菌 ATCC 29521 通过调节 mRNA 相关的紧密连接蛋白和炎症基因,证明了其作为一种抗炎益生菌菌株的作用<sup>[31]</sup>。

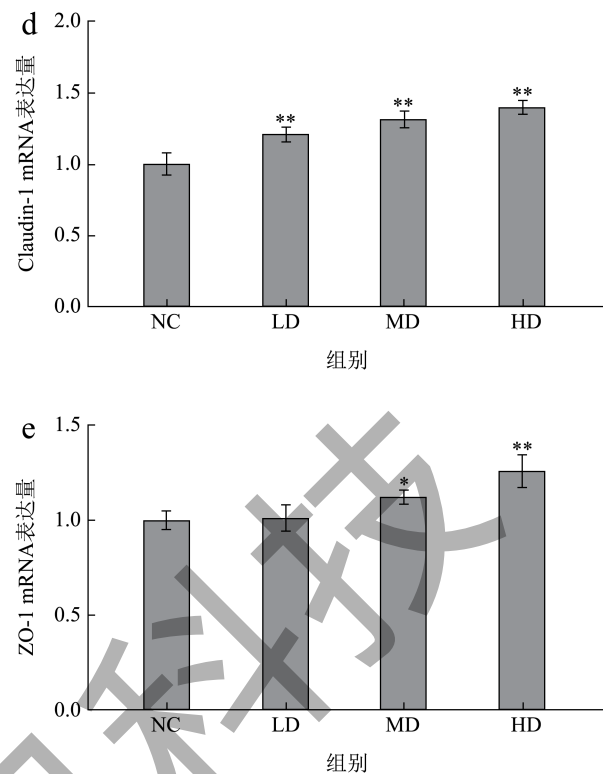
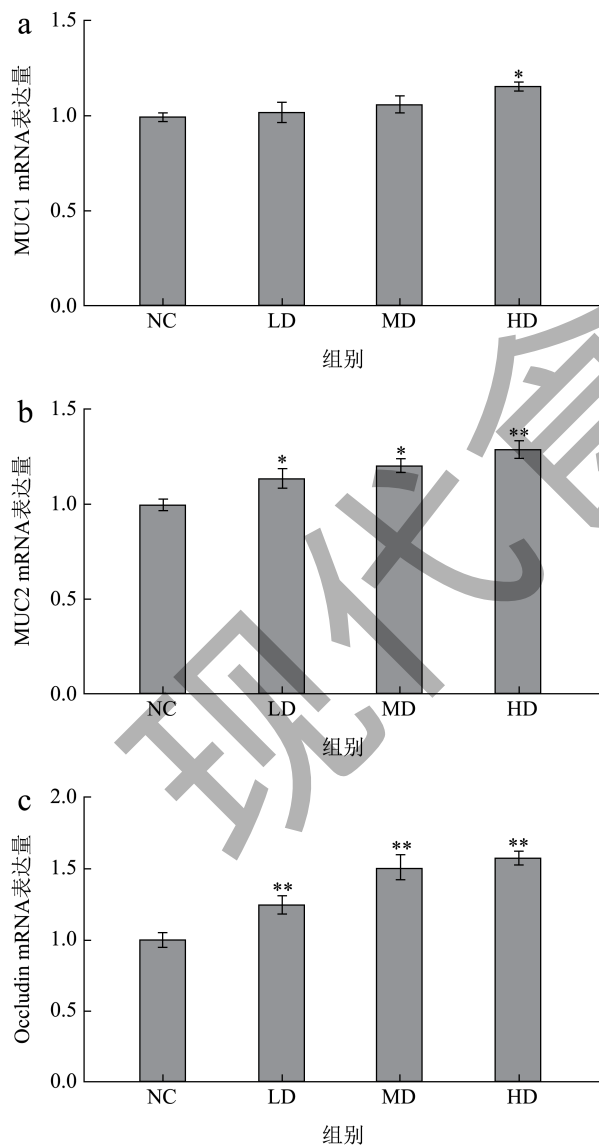


图 4 各组小鼠黏蛋白和紧密连接蛋白的相关 mRNA 表达量

Fig.4 Expression of mRNAs related to mucin and junction proteins in mice of each group

注:\*\*表示  $P<0.01$ , \*表示  $P<0.05$ ,与空白对照组相比。

$n=12$ 。

## 2.5 动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 对小鼠肠道通透性的影响

在分子水平上, LPS 和 D-乳酸是检测肠屏障损伤的重要指标,本研究采用 ELISA 试剂盒检测小鼠血清中 LPS 和 D-乳酸的含量,研究了动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 对小鼠肠道通透性的影响。如图 5 所示,与空白对照组相比,动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 低、中、高剂量组中 D-乳酸含量分别减少 6.84%、12.17%、14.48%,差异均有显著性 ( $P<0.01$ );中剂量和高剂量组的 LPS 分别减少 8.55% ( $P<0.05$ ) 和 19.58% ( $P<0.01$ )。这表明动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 可以降低肠道通透性,这也进一步说明动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 可以增强小鼠肠道屏障。Chen 等<sup>[32]</sup>的研究发现长芽孢杆菌 NSP001 可以维持小鼠的肠道组织形态以及降低肠道通透性, Ayob 等<sup>[33]</sup>发现益生菌成功改善了小鼠模型的肠道通透性。

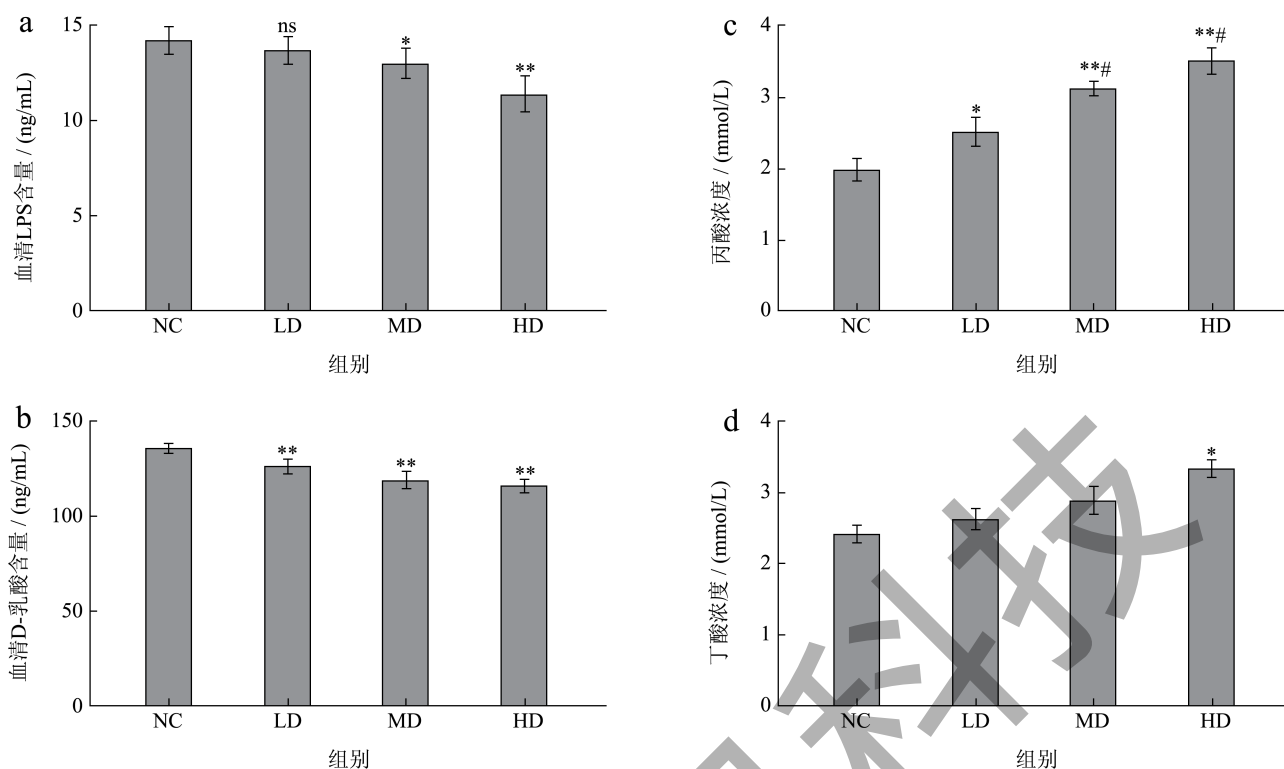


图 5 肠道通透性的测定

Fig.5 Measurement of intestinal permeability

注: \*\*表示  $P < 0.01$ , \*表示  $P < 0.05$ , 与空白对照组相比。

$n=12$ 。

## 2.6 动物双歧杆菌乳亚种XLTG11对小鼠肠道短链脂肪酸和乳酸含量的影响

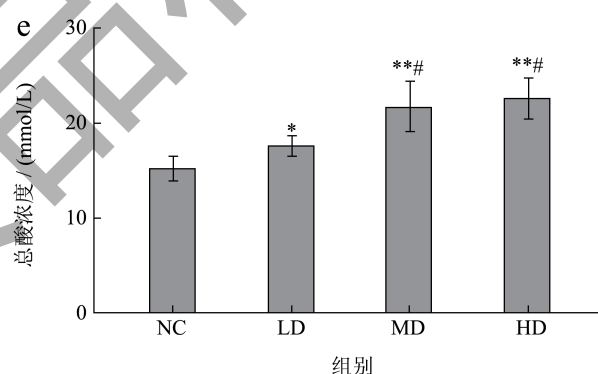
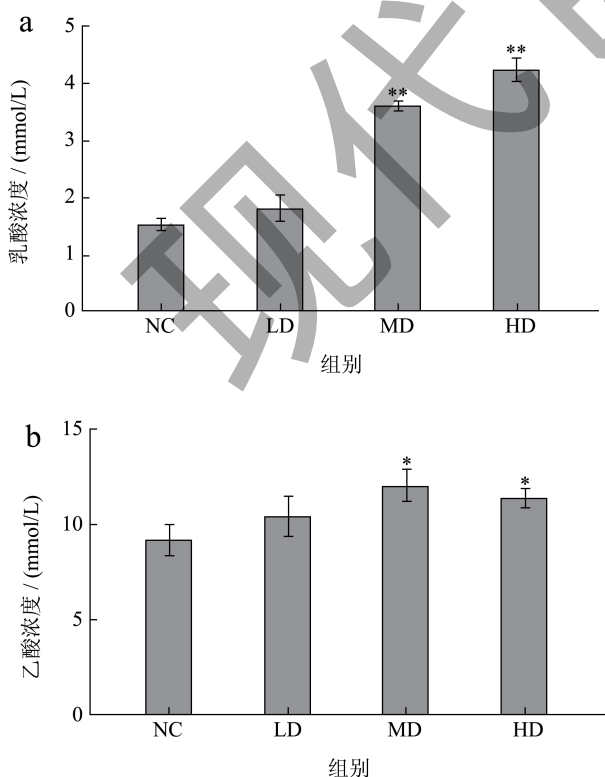


图 6 短链脂肪酸和乳酸浓度测定

Fig.6 Determination of short-chain fatty acids and lactic acid concentration

注: \*\*表示  $P < 0.01$ , \*表示  $P < 0.05$ , 与空白对照组相比; #表示  $P < 0.05$ , 与低剂量组相比。  $n=12$ 。

短链脂肪酸作为一种重要的微生物代谢产物,由难消化多糖的糖酵解产生,乙酸、丙酸和丁酸是主要的短链脂肪酸<sup>[34]</sup>,在宿主局部环境和系统环境中的多个靶标中发挥着关键作用,特别是在肠道屏障和免疫中<sup>[35]</sup>。乳酸也是由肠道细菌产生的有机酸,对肠道健康具有重要的作用。如图 6 所示,与空白对照组相比,灌胃菌粉 14 d 后低剂量组的总短链脂肪酸浓度升高 13.66% ( $P < 0.05$ ),中剂量和高剂量组的总短链脂肪酸浓度分别升高 43.04% 和 48.58%,差异有显著性 ( $P < 0.01$ )。其中,高剂量组的总短链脂肪酸浓度比低剂量组高出 5.29 mmol/L,与中



剂量组相当。此外,中剂量和高剂量组的乳酸和乙酸的浓度高于空白组和低剂量组,有趣的是,高剂量组的丁酸浓度高于空白组、低剂量和中剂量组,差异有显著性( $P < 0.05$ )。这表明动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 可以促进小鼠肠道多糖的消化,增加小鼠肠道中乳酸、乙酸、丙酸和丁酸的含量。连晓蔚等<sup>[36]</sup>此前的研究也表明肠道微生物发酵可以产生短链脂肪酸, Kopeć 等<sup>[37]</sup>也发现通过调节肠道微生物组可以有效产生短链脂肪酸。

### 3 结论

本研究主要探究了动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 菌粉对健康小鼠体质量、肠道菌群、组织病理、肠道通透性、肠道屏障和肠道中短链脂肪酸含量的影响。结果表明动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 可以调节小鼠肠道的菌群结构和丰度,并有效增加有益菌双歧杆菌和乳杆菌的数量,降低产气荚膜梭菌的数量,肠杆菌和肠球菌的数量无明显变化。此外,动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 对小鼠体质量的增加也有明显促进作用,同时它还能够维护小鼠肠道组织的完整性、增强肠道屏障、改善肠道通透性以及促进肠道中短链脂肪酸和乳酸含量的升高。表明动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 有助于调解小鼠肠道菌群并产生健康益处,这为动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 益生菌制剂的合理应用及保健食品的开发提供了理论依据。

### 参考文献

- [1] TIWARI S K. Bacteriocin-producing probiotic lactic acid bacteria in controlling dysbiosis of the gut microbiota [J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2022, 12: 851140.
- [2] SINGH K S, KUMAR S, MOHANTY A K, et al. Mechanistic insights into the host-microbe interaction and pathogen exclusion mediated by the Mucus-binding protein of *Lactobacillus plantarum* [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 14198.
- [3] SAHA U B, SAROJ S D. Lactic acid bacteria: Prominent player in the fight against human pathogens [J]. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 2022, 20(11): 1435-1453.
- [4] CHOI A-R, PATRA J K, KIM W J, et al. Antagonistic activities and probiotic potential of lactic acid bacteria derived from a plant-based fermented food [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1963.
- [5] REN C, FAAS M M, DE VOS P. Disease managing capacities and mechanisms of host effects of lactic acid bacteria [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2020, 61(8): 1365-1393.
- [6] CHEN Y, JIN Y, STANTON C, et al. Alleviation effects of *Bifidobacterium breve* on DSS-induced colitis depends on intestinal tract barrier maintenance and gut microbiota modulation [J]. *European Journal of Nutrition*, 2021, 60: 369-387.
- [7] CHEN Y, GAO H, ZHAO J, et al. Exploiting lactic acid bacteria for inflammatory bowel disease: A recent update [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2023, 138: 126-140.
- [8] ZHANG B, XU Y, LV H, et al. Intestinal pharmacokinetics of resveratrol and regulatory effects of resveratrol metabolites on gut barrier and gut microbiota [J]. *Food Chemistry*, 2021, 357: 129532.
- [9] SHI J, XIE Q, YUE Y, et al. Gut microbiota modulation and anti-inflammatory properties of mixed lactobacilli in dextran sodium sulfate-induced colitis in mice [J]. *Food & Function*, 2021, 12(11): 5130-5143.
- [10] PRASANNA P, GRANDISON A S, CHARALAMPOPOULOS D. *Bifidobacteria* in milk products: An overview of physiological and biochemical properties, exopolysaccharide production, selection criteria of milk products and health benefits [J]. *Food Research International*, 2014, 55: 247-262.
- [11] 严建刚,姚康飞,郭亚娟,等.复合益生菌固体饮料调节小鼠肠道菌群的研究[J].*现代食品*,2022,28(23):58-62.
- [12] 苗壮壮,杨淑娟,刘凯龙,等.乳双歧杆菌Probio-M8和副干酪乳杆菌PC-01对发酵乳微流变学特性及稳定性的影响[J].*中国食品学报*,2022,22(3):103-110.
- [13] LI L Q, CHEN X, ZHU J, et al. Advances and challenges in interaction between heteroglycans and *Bifidobacterium*: Utilization strategies, intestinal health and future perspectives [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2023, 134: 112-122.
- [14] MA X, ZHENG Z, WANG Q, et al. The modulation effect of lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) seeds oligosaccharides with different structures on intestinal flora and action mode of growth effects on *Bifidobacterium in vivo* and *in vitro* [J]. *Food Chemistry*, 2023, 419: 136057.
- [15] LIN H T H-J Z. Research progress of the microecology and intestinal mucosal barrier [J]. *Basic & Clinical Medicine*, 2018, 38(3): 418.
- [16] VAN TREUREN W, DODD D. Microbial contribution to the human metabolome: implications for health and disease [J]. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 2020, 15: 345-369.

- [17] SHETTY S A, KOSTOPOULOS I, GEERLINGS S Y, et al. Dynamic metabolic interactions and trophic roles of human gut microbes identified using a minimal microbiome exhibiting ecological properties [J]. *The ISME Journal*, 2022, 16(9): 2144-59.
- [18] HATA S, NAKAJIMA H, HASHIMOTO Y, et al. Effects of probiotic *Bifidobacterium bifidum* G9-1 on the gastrointestinal symptoms of patients with type 2 diabetes mellitus treated with metformin: An open-label, single-arm, exploratory research trial [J]. *Journal of Diabetes Investigation*, 2022, 13(3): 489-500.
- [19] REN Z, CHEN S, LV H, et al. Effect of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* SF on enhancing the tumor suppression of irinotecan by regulating the intestinal flora [J]. *Pharmacological Research*, 2022, 184: 106406.
- [20] LUO M, FENG G, CHEN M, et al. Probiotics and Immunostimulant modulate intestinal flora diversity in Reeves pond tortoise (*Mauremys reevesii*) and effects of *Clostridium butyricum* on its spleen transcriptome [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2023, 139: 108908.
- [21] YIN P, ZHANG C, DU T, et al. Meta-analysis reveals different functional characteristics of human gut *Bifidobacteria* associated with habitual diet [J]. *Food Research International*, 2023, 170: 112981.
- [22] 马岩,王中江,杨靖瑜,等.动物双歧杆菌乳亚种XLTG11对克林霉素诱导的抗生素相关性腹泻的改善作用[J].*食品科学*,2023,44(3):9.
- [23] 马微微,李玟玟,马青,等.乳双歧杆菌XLTG11对小鼠免疫功能的影响[J].*食品与发酵工业*,2022,48(13):103-107.
- [24] 何欢柳.竹叶提取物对低温环境下小鼠生长发育,肠道结构和生理功能的研究[D].南充:西华师范大学,2020.
- [25] LIU L, LI L, RAO J N, et al. Polyamine-modulated expression of c-myc plays a critical role in stimulation of normal intestinal epithelial cell proliferation [J]. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 2005, 288(1): C89-C99.
- [26] 陈相如,高航,寇楠楠,等.发酵中药补中益气散对小鼠肠道功能及抗氧化指标的影响[J].*中国预防兽医学报*, 2021,43(4):425-430.
- [27] 李玟玟,马微微,马青,等.乳双歧杆菌XLTG11缓解环磷酰胺致小鼠免疫功能损伤[J].*现代食品科技*,2022,38(8):10-16.
- [28] ROKA R, AIT-BELGNAOUI A, SALVADOR-CARTIER C, et al. Dexamethasone prevents visceral hyperalgesia but not colonic permeability increase induced by luminal protease-activated receptor-2 agonist in rats [J]. *Gut*, 2007, 56(8): 1072-1078.
- [29] BUENO L, BEAUFRAND C, THEODOROU V, et al. Influence of simethicone and alverine on stress-induced alterations of colonic permeability and sensitivity in rats: beneficial effect of their association [J]. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2013, 65(4): 567-573.
- [30] ZHOU F, LIN Y, CHEN S, et al. Ameliorating role of *Tetrastigma hemsleyanum* polysaccharides in antibiotic-induced intestinal mucosal barrier dysfunction in mice based on microbiome and metabolome analyses [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 241: 124419.
- [31] DIN A U, HASSAN A, ZHU Y, et al. Inhibitory effect of *Bifidobacterium bifidum* ATCC 29521 on colitis and its mechanism [J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2020, 79: 108353.
- [32] CHEN M, YAO H, TAN H, et al. Impact of *Bifidobacterium longum* NSP001 on DSS-induced colitis in conventional and humanised mice [J]. *Food Science and Human Wellness*, 2023, 12(4): 1109-1118.
- [33] AYOB N, MUHAMMAD NAWAWI K N, MOHAMAD NOR M H, et al. The effects of probiotics on small intestinal microbiota composition, inflammatory cytokines and intestinal permeability in patients with non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Biomedicine*, 2023, 11(2): 640.
- [34] BAI Y, ZHOU Y, ZHANG R, et al. Gut microbial fermentation promotes the intestinal anti-inflammatory activity of Chinese yam polysaccharides [J]. *Food Chemistry*, 2023, 402: 134003.
- [35] JI H, HU J, ZUO S, et al. *In vitro* gastrointestinal digestion and fermentation models and their applications in food carbohydrates [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2022, 62(19): 5349-5371.
- [36] 连晓蔚,彭喜春.不同肠道菌群利用低聚异麦芽糖体外发酵产短链脂肪酸的初步研究[J].*食品与发酵工业*,2011, 37(6):39-41.
- [37] MARKOWIAK-KOPEĆ P, ŚLIŻEWSKA K. The effect of probiotics on the production of short-chain fatty acids by human intestinal microbiome [J]. *Nutrients*, 2020, 12(4): 1107.