高通量测序分析益生菌对冷食小鼠肠道菌群的干预

吕歌[1]，张智[1]，杨可心[1]，魏罡[1]，王嘉夫[2]
（1.东北林业大学林学院，黑龙江哈尔滨 150040）
（2.内蒙古大兴安岭林业科学技术研究所，内蒙古呼伦贝尔 022150）

摘要：采用高通量测序技术分析益生菌对冷食小鼠肠道菌群的影响。将实验小鼠随机分为模型组、对照组和低中高剂量组，分别灌喂等量的普通冰淇淋、10^7 cfu/mL 益生菌液和 10^7、10^8、10^9 cfu/mL 的益生菌冰淇淋。连续灌喂 15 d，记录并计算小鼠的稀便率和腹泻指数，15 d 后，收集各组小鼠粪便进行高通量测序分析。发现食用冷食会导致部分小鼠腹泻，在剂量范围内，益生菌可以缓解冷凉性敏感小鼠的腹泻症状，高剂量组小鼠的稀便率降低了 3.11%，腹泻指数（10^{-1}）降低了 0.33，抑制效果较其它各组最为明显。服用了益生菌的小鼠粪便菌群多样性较高（高剂量组 ACE 值为 69987.29，Chao1 值为 27098.77），乳酸菌属、艾克曼氏菌属、*Blautia* 等菌属占比增大，菌群结构发生改变。因此益生菌可以提高冷凉性腹泻敏感小鼠对冷食的接受度，冷冻载体下的益生菌可以在小鼠肠道中定植并对小鼠肠道起到调节作用。

关键词：益生菌；肠道菌群；腹泻；高通量测序
文章篇号：1673-9078(2019)04-50-55 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.4.008

High-throughput Sequencing Analysis of Probiotics Intervention in Intestinal Flora of Cold-fed Mice

LYU Ge[1], ZHANG Zhi[1], YANG Ke-xin[1], WEI Gang[1], WANG Jia-fu[2]
(1.College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)
(2.Inner Mongolia Daxing'anling Forestry Science and Technology Institute, Hulunbuir 022150, China)

Abstract: High-throughput sequencing was used to analyze the effects of probiotics on the intestinal flora of cold-fed mice. The experimental mice were randomly divided into a model group, a control group, and a low, medium, and high dose group, and an equal amount of ordinary ice cream, 10^7 cfu/mL probiotic liquid, and 10^7, 10^8, 10^9 cfu/mL probiotic ice cream, respectively. The rats were continuously fed for 15 days, and the stool rate and diarrhea index of mice were recorded and calculated. After 15 days, the feces of each group were collected for high-throughput sequencing analysis. It was found that cold food could cause diarrhea in some mice. In the dose range, probiotics could alleviate the symptoms of diarrhea in cold-sensitive mice. The high-dose group decreased the stool rate by 3.11% and the diarrhea index (10^{-1}) by 0.33. The inhibition effect was significant, compared to the other groups. The fecal flora of mice with probiotics was highly diverse (the high-dose group had an ACE value of 69987.29 and the Chao1 value was 27098.77), and the proportion of genus *Lactobacillus, Ekmenia, and Blautia* increased and their structure changed. Therefore, probiotics could improve the acceptance of cold food in cold-sensitive diarrhea-sensitive mice. The probiotics under the frozen carrier could be colonized in the intestine of mice and regulate the intestinal tract of mice.

Key words: probiotics; intestinal flora; diarrhea; high-throughput sequencing

冰淇淋中含有丰富的乳质营养成分[1]，口感丰富，因此成为了人们喜欢的冷食品，但是部分人群食用冷食后会导致肠道冷应激反应从而发生腹泻，这类冷凉性腹泻在临床上大多被归为腹泻型肠易激综合征（IBS）[2]。大量文献表明 IBS 的病因受多方面因素影响，包括肠粘膜屏障通透性改变、脑肠轴功能失调和免疫功能改变等多种病因，但其具体发病机制尚不完全清楚[3~6]。大量临床调查表明，小肠有害菌过度增殖、肠道菌群失调是 IBS 的重要诱因之一[7]。益生菌能够定植于人体肠道，具有调节肠道菌群、促进人体营养吸收、增强机体免疫力等多种生理功能[8~11]。采用益

收稿日期：2018-12-18
基金项目：内蒙古自治区科技成果转化项目（0GZH2018179）；国家林业局，大熊猫国际资金项目（SG1409）；黑龙江省应用技术研究与开发计划（GA15B203）
作者简介：吕歌（1994-），女，硕士，研究方向：微生物发酵、功能食品和生物转化
通讯作者：张智（1964-），女，教授，研究方向：微生物发酵、功能食品和生物转化；共同通讯作者：王嘉夫（1968-），男，高级经济师，研究方向：从事森林生态和森林资源开发

生菌防治 IBS 的方法在国内外均有应用，并取得了一定的成效[12,13]。目前，人们补充益生菌主要是通过益生菌发酵饮料和益生菌制剂，冷载益生菌是一种补充益生菌的新型方式，将益生菌加入冰淇淋中不仅使益生菌产品口味多元化，更有望一定程度上缓解因食用冰淇淋而产生的 IBS 症状，使冰淇淋被更广泛的人群所接受。

但低温会导致益生菌死亡率增加，本研究前期通过大量筛选得到两株抗冻植物乳杆菌 *Lp-01* 和青春双歧杆菌 *Bba-02*；并将 *Lp-01* 和 *Bba-02* 应用于益生菌冰淇淋的配方中，可以使其在较长的贮藏期内依然保持较高的益生菌活菌数量及活力。近年来，高通量测序技术[14]已经成为肠道微生物群研究的最前沿平台，它是以 16S rRNA 为基础的分析技术，具有通量高、测序快及准确率高等明显优势，帮助人们更全面地了解肠道微生物群落的构成。本研究采用高通量测序技术，考察灌胃益生菌冰淇淋后，小鼠的腹泻情况以及肠道菌群变化；探究益生菌对冷食致肠道应激的缓冲及对肠道菌群的调节作用。

1 材料与方法

1.1 动物、材料与试剂

1.1.1 实验动物

清洁级雄性昆明小鼠，周龄 4~6 周，体质量 18~22 g，由黑龙江省中医药大学药物评价中心提供（合格证号：SCXK 黑 2013-004）。

1.1.2 材料与试剂

植物乳杆菌 *Lp-01*、青春双歧杆菌 *Bba-02*，东北林业大学食品发酵实验室保存；全脂乳粉、白砂糖、淀粉、稳定剂、乳化剂，绿豆，市售；D4015 粪便基因组 DNA 提取试剂盒，美国 OMEGA 公司。

1.2 仪器与设备

灭菌锅；厌氧培养箱；超净工作台；均质机；凝冻机。

1.3 实验方法

1.3.1 益生菌冰淇淋的制备

按 14%白砂糖、7%全脂乳粉、3%淀粉、0.5%稳定剂、0.02%乳化剂的比例称取原料，加入适量水，经加热、搅拌、均质、灭菌后加入适量植物乳杆菌 *Lp-01*：青春双歧杆菌 *Bba-02* 比例为 1:1 的发酵绿豆汁，老化后倒入凝冻机内凝冻，使凝冻后物料中益生菌总浓度分别达到 10^7、10^8、10^9 cfu/mL。分别装入冰淇淋盒子，在-40 ℃下迅速冷冻硬化，备用。

1.3.2 动物分组

将 200 只清洁级雄性昆明小鼠正常饲喂 3 d，适应环境后将其随机分为 5 组，每组 40 只，即为模型组（B），对照组（C）和低（L）中（M）高（H）三个剂量组。按表 1 的剂量和方法，连续灌喂 15 d，观察小鼠生理状态，早晚监测小鼠体重。

表 1 小鼠分组及灌喂方式

Table 1 Mouse grouping and intragastric administration methods

组别	灌喂量/(mL/kg)	灌喂物
模型组（B）	200	普通冰淇淋
对照组（C）	200	10^7 cfu/mL 的益生菌液
低剂量组（L）	200	10^7 cfu/mL 的益生菌冰淇淋
中剂量组（M）	200	10^8 cfu/mL 的益生菌冰淇淋
高剂量组（H）	200	10^9 cfu/mL 的益生菌冰淇淋

1.3.3 小鼠粪便计数

每日灌喂结束后，将小鼠置于垫有滤纸的鼠笼内，每笼 1 只，视排便情况及时更换滤纸，连续观察 6 h，记录小鼠的稀便数、总便数。

1.3.4 腹泻指标

以稀便率和腹泻指数作为评价小鼠腹泻程度的指标。稀便率为每只小鼠稀便数与总便数之比。小鼠稀便后，根据其在滤纸上形成的粪便污迹面积大小来评定稀便的等级称为稀便级，可分为 4 级：稀便污染直径小于 1 cm 为 1 级，稀便污染直径 1~1.99 cm 为 2 级，稀便污染直径 2~2.99 cm 为 3 级，稀便污染直径大于等于 3 cm 为 4 级。将小鼠灌喂后 6 h 内所有粪便的稀便级统计起来，求其平均值即为该鼠当天的稀便级。腹泻指数为稀便率与稀便级的乘积。

1.3.5 小鼠粪便的收集

最后一次灌喂 12 h 后，收集每组小鼠的粪便不少于 0.5 g 于干燥的灭菌试管中，在-40 ℃的冰箱中保存备用。

1.3.6 高通量测序

使用 D4015 粪便基因组 DNA 提取试剂盒按说明书所述步骤提取小鼠粪便中 DNA，干冰条件下送往上海生工生物工程股份有限公司，对样品进行 PCR 扩增及上机测序分析。通过引物 341F（CCTACGGGNGGCWGCAG）和 805R（GACTACHVGGGTATCTAATCC）扩增样品 16S rRNA 的 V3~V4 区。提取扩增后的高质量序列，通过质量控制过滤去除不符合要求的序列，对所得样品进行 OUT 聚类分析、物种分类分析和菌群差异分类分析等分析。

表 2 益生菌对冷食小鼠稀便率的影响

Table 2 Effect of probiotics on the rate of loose stools in cold-fed mice

组别	稀便率/%				
	3 d	6 d	9 d	12 d	15 d
对照组（C）	0	0	0	0	0
模型组（B）	10.35±2.02	9.80±1.58	9.45±1.97	9.53±1.68	9.38±1.71
低剂量组（L）	6.95±1.29*	6.74±1.27*	6.44±1.96*	6.34±1.92*	5.73±1.81**
中剂量组（M）	5.41±1.15*	5.03±1.59**	4.37±1.09**	3.83±1.44**	3.62±1.26**
高剂量组（H）	4.86±1.37**	3.58±1.24**	2.72±0.95**	2.06±0.86**	1.75±0.92**

注：*表示与模型组相比，$p<0.05$，**表示与模型组相比，$p<0.01$。下表同。

表 3 益生菌对冷食小鼠腹泻指数的影响

Table 3 Effect of probiotics on diarrhea index in cold-fed mice

组别	腹泻指数(10^{-1})				
	3 d	6 d	9 d	12 d	15 d
对照组（C）	0	0	0	0	0
模型组（B）	1.35±0.19	1.27±0.16	1.22±0.17	1.22±0.28	1.21±0.21
低剂量组（L）	0.78±0.19*	0.75±0.26*	0.72±0.34*	0.71±0.19**	0.64±0.33**
中剂量组（M）	0.60±0.21**	0.55±0.18**	0.48±0.26**	0.42±0.24**	0.40±0.15**
高剂量组（H）	0.52±0.24**	0.38±0.17**	0.29±0.31**	0.22±0.23**	0.19±0.26**

1.3.7 数据分析

实验所得数据均采用 SPSS 20.0 软件进行分析，所得实验数据采取均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）来表示，利用单因素方差分析组间数据。

2 结果与讨论

2.1 小鼠腹泻情况

实验过程中，对照组小鼠未食用冷凉食物，因此未发生腹泻现象。部分模型组小鼠出现背毛毛色暗淡、行动迟缓，水样便次数较多、便内固体内容物较少的症状，其它组小鼠也出现不同程度此类症状。由表 2、表 3 可知，随着实验的进行，各组小鼠腹泻情况均有改善，其中高剂量组小鼠的稀便率降低了 3.11%，在各组小鼠中下降最多。模型组小鼠在连续 15 d 的实验过程中，腹泻指数（10^{-1}）由 1.35 下降至 1.21，降低了 0.14，说明小鼠自身在冷凉性腹泻的症状上体现出一定的适应性，但直至实验结束并未有大幅度改善。而高剂量组小鼠腹泻指数（10^{-1}）由 0.52 下降至 0.19，降低了 0.33，与模型组数据区别极显著，说明益生菌在剂量组小鼠的肠道内积累定植并逐渐起到调节作用。实验过程中，两种腹泻指标下剂量组小鼠的腹泻症状始终呈现高剂量组<中剂量组<低剂量组<模型组，说明在剂量范围内，服用益生菌的浓度越高，对小鼠冷凉性腹泻的抑制作用越强。这与 Tina Didari[15]和 Cong Dai[16]等人的研究结果一致，益生菌对 IBS 症状具有一定程度的缓解作用。

2.2 益生菌对冷食小鼠肠道菌群的影响

2.2.1 样品 OTU 韦恩图

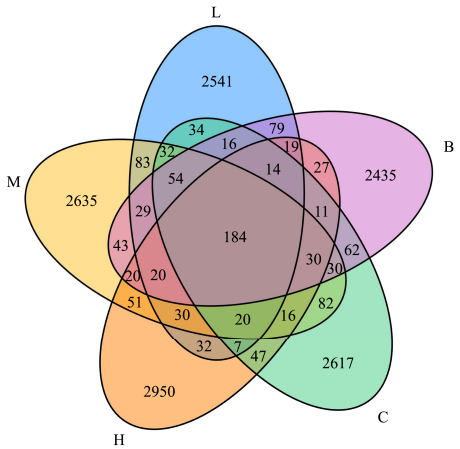

图 1 不同样本 OTU 韦恩图

Fig.1 Venn profile of OTU in different samples

用 VENN 图来统计各组样本中共有的和独有的 OTU（operational taxonomic unit）数目，直观地展现出样品与样品间 OTU 数目组成的相似性及重叠情况。利用 R 的 Venn Diagram package 软件分析绘制不同样本 OTU 分布韦恩图如图 1。可知五组样品中共有的 OTU 数目为 184 个，模型组、对照组以及高、中、低剂量组分别独有 OTU 数目 2435 个、2617 个、2950 个、2635 个和 2541 个。模型组与高、中、低剂量组共有的 OTU 数目分别为 325 个、350 个和 415 个，说

明在三个冷载益生菌剂量组中高剂量组与模型组之间OTU 差异较大，可能是由于高剂量组摄入冷载益生菌剂量较高从而对小鼠肠道调控程度最大。对照组与高、中、低剂量组共有的 OTU 数目分别为 329 个、448 个和 361 个，说明在三个冷载益生菌剂量组中中剂量组与对照组 OTU 分类更为接近。

2.2.2 菌群多样性分析

利用 mouther 软件分析，采用对测序序列进行随机抽样的方法，以抽到的序列数与它们所能代表 OTU 的数目构建稀疏曲线。由图 2 可见，随着测序数量的升高，各样本曲线逐渐趋向平缓，继续增加数据量只会有少量新的 OTU 产生，这说明样本的测序质量较高。

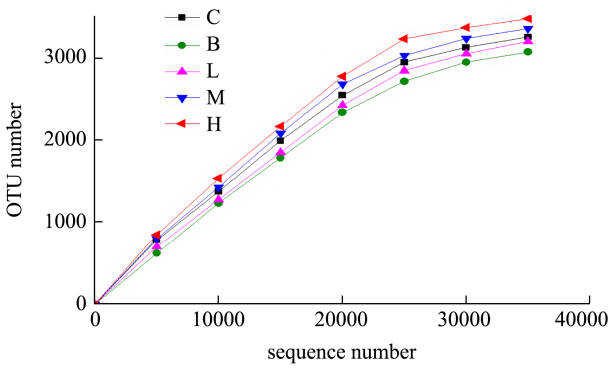

图 2 小鼠粪便菌群稀疏曲线

Fig.2 Rarefaction curve analysis of faecal microflora

表 4 中，OTU 可以代表样品物种的丰度，在各组样品中，高剂量组的 OTU 数量最高，其数值为 3968，模型组的 OTU 数量最低，其数值为 3392。ACE、Chao1 值是对样品中菌群物种总数的评估，其数值越大，说明样品物种丰度越高。各组样品中，高剂量组的 ACE 值和 Chao1 值最高，分别为 69987.29 和 27098.77；模型组的 ACE 值和 Chao1 值最低，分别为 51961.06 和 20965.44。Shannon 值用于分析样品中群落的多样性，其数值越大说明样本群落的多样性越高，各组样品的 Shannon 值分布于 4.25~5.16 之间，高剂量组最高，模型组最低。由表 4 及以上分析可知，通过对 OTU 和三种 alpha 多样性指数的评估得出样品菌群丰关系为：高剂量组>中剂量组>对照组>低剂量组>模型组。这说明，灌喂了冷载益生菌的小鼠肠道菌群中的菌群丰度更高，可能是益生菌通过在肠道内定植，起到了调节肠道菌群的作用，使肠道菌群维持在一个丰度较高的平衡水平。Coverage 值代表样品的测序深度，各组样品的测序覆盖率均达到 0.9 以上，说明样本测序覆盖率较高，实验数据可靠。

通过 PCoA（principal co-ordinates analysis）可以观察样本个体或群体间的差异。样本间相似度越高则在图中越聚集，反之样本间相似度越低则直线距离越远。由图 3 可知，五组样本可以显著区分，其中中剂量组与对照组相似度最为接近，而空白组与对照组相似度差异最大。

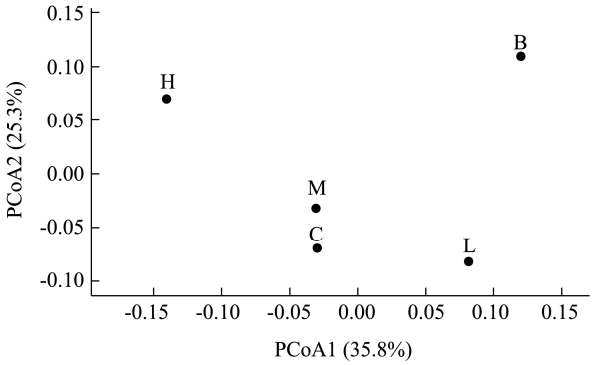

图 3 主坐标分析

Fig.3 Unifrac PCoA

表 4 样品 alpha 多样性指数

Table 4 Alpha diversity index of each group

组别	OTU	ACE	Chao1	Shannon	Coverage
模型组（B）	3073	51961.06	25965.44	4.62	0.95
对照组（C）	3256	61987.29	21035.58	4.25	0.94
低剂量组（L）	3205	60467.57	24082.42	4.80	0.95
中剂量组（M）	3359	62520.80	26178.85	4.91	0.94
高剂量组（H）	3478	69987.29	27098.77	5.16	0.94

2.2.3 菌群结构分析

由图 4 可知，各组小鼠粪便菌群在门水平上主要由拟杆菌门（*Bacteroidetes*）、厚壁菌门（*Firmicutes*）以及变形菌门（*Proteobacteria*）细菌构成，三种菌门细菌在各组样品中总占比均达到 95%以上，其中拟杆菌门占比最大。比较对照组与模型组小鼠粪便菌群在门水平上的构成发现，拟杆菌门占比下降而厚壁菌门占比增高。观察低、中、高三个剂量组，也呈现出相同趋势。益生菌冰淇淋中的植物乳杆菌正属于厚壁菌门，具有调节肠道菌群的作用，能够有效抑制某些肠道感染[17]。模型组中疣微菌门（*Verrucomicrobia*）细菌占比较其它实验组明显较高，而其它各组中，疣微菌门细菌占比均显著减少，而变形菌门占比均有所增加，说明服用益生菌小鼠的肠道菌群结构发生改变，

变形菌门细菌取代了疣微菌门细菌在小鼠肠道内占有一席之地。比较各组样品中放线菌门（*Actinobacteria*）的占比发现，低、中、高剂量组中放线菌门细菌占比依次增加，而模型组中放线菌门占比很小，这可能是由于益生菌冰淇淋中含有青春双歧杆菌，而双歧杆菌属于放线菌门。青春双歧杆菌具有治疗腹泻、增强机体免疫力、调节肠道菌群的功能[18]。Eleonora Distrutti 等[19]认为肠道菌群的改变与 IBS 的症状存在关联，通过调节肠道菌群扩增肠道内的有益菌，减少有害菌可以缓解 IBS 的症状。由此可见，随着益生菌在小鼠肠道内定植并起到调节作用，小鼠的肠道菌群结构发生改变。

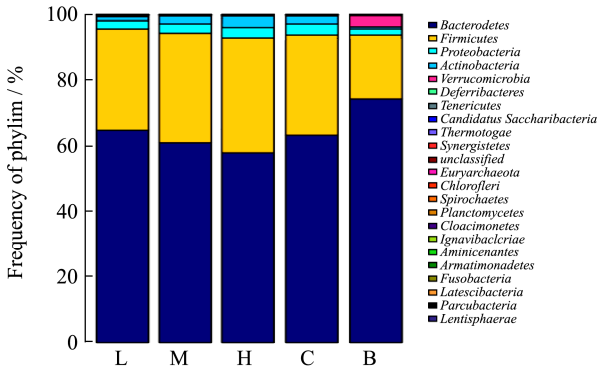

图 4 小鼠粪便菌群在门水平上的百分比

Fig.4 Percentage of flora at the phylum level

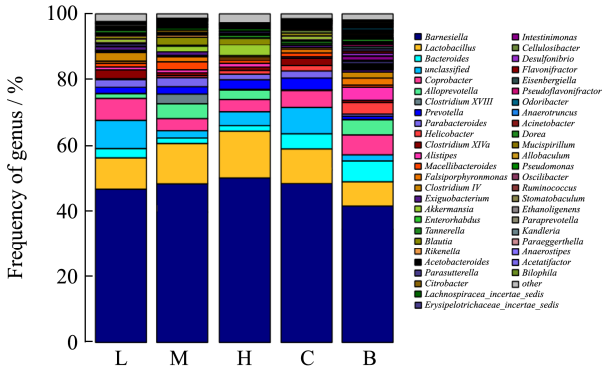

图 5 小鼠粪便菌群在属水平上的百分比

Fig.5 Percentage of flora at the genus level

由图 5 可知，各组样品中优势菌属均为巴恩斯氏菌属（*Barnesiella*），巴恩斯氏菌是一种厌氧菌，可以抑制肠道中有害菌的生长。高剂量组中乳酸菌属（*Lacrobacillus*）的占比为各组最高，说明益生菌冰淇淋中的冷载植物乳杆菌可以在小鼠肠道内定植。大量文献表明，乳酸菌具有良好的改善肠道屏障功能的作用，这种作用与乳酸菌对肠道菌群结构、肠绒毛结构、上皮细胞通透性和 TJs、黏液的分泌和免疫功能的调节有关[20]，通过促进肠道内有益微生物的定植，改变肠道中短链脂肪酸的组成及数量[21]，从而抵抗致病微生物侵袭并增强肠道屏障功能的作用[22]。模型组较其它各组含有较多的 *Alistipes* 菌属，这是一种容易导致肠道炎症的致病菌。而高、中剂量组则相对其它各组含有较高的艾克曼氏菌属（*Akkermansia*）和 *Blautia* 菌属。艾克曼氏菌具有潜在的抗炎作用，并且对调节宿主代谢紊乱有着积极的作用[23]。*Blautia* 菌属可通过将肠道气体转化为乙酸清除小肠胀气。由此说明通过冷载益生菌在肠道内定植，逐渐使更多的有益菌成为优势菌种，抑制有害菌，从而对机体起到调节作用。剂量组小鼠腹泻症状的减弱可能也与益生菌定植后肠道菌群受到调节有关。

3 结论

通过对冷食小鼠灌喂益生菌干预，观察记录其体征及腹泻指标的变化，发现食用冷食会导致部分小鼠腹泻，但益生菌可以缓解冷凉性敏感小鼠的腹泻症状。实验过程中高剂量组小鼠的稀便率降低了 3.11%，腹泻指数（10^{-1}）由 0.52 下降至 0.19，降低了 0.33，在各组中降低幅度最大，说明剂量范围内益生菌浓度越高对小鼠冷凉性腹泻的抑制效果越强。因此，冷载益生菌未来有望被冷凉食物敏感人群所接受。通过对不同组别小鼠的粪便菌群进行高通量测序分析，发现服用了冷载益生菌的小鼠肠道菌群丰度较未服用益生菌的小鼠有所增加，乳酸菌属、艾克曼氏菌属、Blautia 等菌属占比增大，菌群结构发生改变，说明冷载益生菌可以在正常小鼠肠道中定植并对小鼠肠道起到调节作用。本实验为冷载益生菌的整肠功能研究提供了参考依据，为肠胃敏感的冷食爱好者提供了预防腹泻的新思路。

参考文献

[1] 张健,郑义,朱金锦,等.冰淇淋中益生菌冷冻胁迫致菌体损伤机制研究进展[J].食品安全质量检测学报,2015,6(10): 3885-3888
ZHANG Jian, ZHENG Yi, ZHU Jin-jin, et al. Research progress on bacterial damage mechanism of probiotics induced by freezing stress in ice cream [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2015, 6(10): 3885-3888

[2] 张梅,彭国球,孙樱,等.阿泰宁治疗冷凉、喝酒性腹泻 35 例疗效观察[J].中国微生态学杂志,2008,20(2):169-170
ZHANG Mei, PENG Guo-qiu, SUN Ying, et al. Therapeutic effect of atai ning on 35 cases of cold and drinking diarrhea [J]. Chinese Journal of Microecology, 2008, 20(2): 169-170

[3] Ringel Y, Maharshak N. Intestinal microbiota and immune function in the pathogenesis of irritable bowel syndrome [J]. American Journal of Physiology Gastrointestinal & Liver

Physiology, 2013, 305(8): G529

[4] Ford A C, Lacy B E, Talley N J. Irritable bowel syndrome [J]. New England Journal of Medicine, 2017, 376(26): 2566-2578

[5] Qin S Y, Jiang H X, Lu D H, et al. Association of interleukin-10 poly‑morphisms with risk of irritable bowel syndrome: A meta-analysis [J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(48): 9472-9480

[6] Holtmann G J, Ford A C, Talley N J. Pathophysiology of irritable bowel syndrome [J]. Lancet Gastroenterology & Hepatology, 2016, 1(2): 133-146

[7] Ringel Y, Ringelkulka T. The intestinal microbiota and irritable bowel syndrome [J]. Journal of Clinical Gastroenterology, 2015, 49(1): 56

[8] Yu Z, Kong M, Zhang P, et al. Immune-enhancing activity of extracellular polysaccharides isolated from Rhizopus nigricans [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 148

[9] Aboulfazli F, Shori A B, Baba A S. Effects of the replacement of cow milk with vegetable milk on probiotics and nutritional profile of fermented ice cream [J]. LWT - Food Science and Technology, 2016, 70: 261-270

[10] Jingjie Li, Wen Zhang, Chuan Wang, et al. Lactococcus lactis expressing food-grade β-galactosidase alleviates lactose intolerance symptoms in post-weaning Balb/c mice [J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 2012, 96(6): 1499-1506

[11] Savino F, Fornasero S, Ceratto S, et al. Probiotics and gut health in infants: A preliminary case-control observational study about early treatment with *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 [J]. Clinica Chimica Acta, 2015, 451: 82-87

[12] 曾令容,李荣萍,陈青云,等.益生菌制剂对腹泻型肠易激综合征的防治作用[J].局解手术杂志,2011,20(4):430-432
ZENG Ling-rong, LI Rong-ping, CHEN Qing-yun, et al. Preventive and therapeutic effect of probiotic preparation on diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [J]. J Reg Anat Oper Surg, 2011, 20(4): 430-432

[13] Eleonora Distrutti, Lorenzo Monaldi, Patrizia Ricci, et al. Gut microbiota role in irritable bowel syndrome: New therapeutic strategies [J]. World Journal of Gastroenterology, 2016, 22(7): 2219-2241

[14] 曲巍,张智,马建章,等.高通量测序研究益生菌对小鼠肠道菌群的影响[J].食品科学,2017,38(1):214-219
QU Wei, ZHANG Zhi, MA Jian-zhang, et al. Effects of probiotics on intestinal flora in mice by high-throughput sequencing [J]. Food Science, 2017, 38(1): 214-219

[15] Tina Didari, Shilan Mozaffari, Shekoufeh Nikfar, et al. Effectiveness of probiotics in irritable bowel syndrome: Updated systematic review with meta-analysis [J]. World Journal of Gastroenterology, 2015, 21(10): 3072-3084

[16] Cong Dai, Chang-Qing Zheng, Min Jiang, et al. Probiotics and irritable bowel syndrome [J]. World Journal of Gastroenterology, 2013, 19(36): 5973-5980

[17] Meizhong H, Haizhen Z, Chong Z, et al. Purification and characterization of plantaricin 163, a novel bacterioncin produced by Lactobacillus Plantarum 163 isolated from traditional Chinese fermented vegetables [J]. J. Agric Food Chem, 2013, 61(47): 11676-11682

[18] 张智,林秀芳,马建章,等.玉米肽对双歧杆菌免疫力作用的影响 [J].食品研究与开发,2017,38(3):9-14
ZHANG Zhi, LIN Xiu-fang, MA Jian-zhang, et al. Effects of corn peptide on the immunity of bifidobacteria [J]. Food Research and Development, 2017, 38(3): 9-14

[19] Eleonora Distrutti, Lorenzo Monaldi, Patrizia Ricci, et al. Gut microbiota role in irritable bowel syndrome: New therapeutic strategies [J]. World Journal of Gastroenterology, 2016, 22(7): 2219-2241

[20] 谯仕彦,侯成立,曾祥芳.乳酸菌对猪肠道屏障功能的调节作用及其机制 [J].动物营养学报,2014,26(10):3052-3063
QIAO Shi-yan, HOU Cheng-li, ZENG Xiang-fang. Regulatory effect of *Lactic acid bacteria* on intestinal barrier function of pigs and its mechanism [J]. Journal of Animal Nutrition, 2014, 26(10): 3052-3063

[21] Maynatd C L, Elson C O, Hatton R D, et al. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system [J]. Nature, 2012, 489(7415): 231-241

[22] Guilloteau P, Martin L, Eeckhaut V. et al. From the gut to the peripheral tissues: the multiple effects of butyrate [J]. Nutrition Research Reviews, 2010, 23(2): 366-384

[23] Muriel Derrien, Clara Belzer, Willem M. de Vos. Akkermansia muciniphila and its role in regulating host functions [J]. Microbial Pathogenesis, 2017, 106: 171-181