

# 乳双歧杆菌 XLTG11 缓解环磷酰胺致小鼠免疫功能损伤

李玟玟, 马微微, 马青, 张振华, 黄莉莉\*  
(黑龙江中医药大学药学院, 黑龙江哈尔滨 150040)

**摘要:** 该研究探讨乳双歧杆菌 XLTG11 对免疫功能损伤模型小鼠免疫功能的影响。采用环磷酰胺 (CTX) 构建小鼠免疫损伤模型, 设立空白组和模型组, 灌服生理盐水, 阳性对照组, 灌服盐酸左旋咪唑 (LEV) (10 mg/kg), 给药组灌服不同浓度乳双歧杆菌 XLTG11 ( $1 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^9$  CFU), 连续 28 d, 测定各组小鼠免疫功能相关指标。各剂量组乳双歧杆菌 XLTG11 可以拮抗 CTX 对小鼠胸腺的损伤, 胸腺指数分别比模型组提高 37.37%、43.43%、56.56% 和 84.84% ( $p < 0.05$ ); 增加小鼠足跖肿胀程度, 足跖厚度分别比模型组提高 38.24%、50.00%、55.89% 和 94.12% ( $p < 0.05$ ); 提高小肠绒毛高度, 增加杯状细胞数目 ( $p < 0.05$ ), 其中  $1 \times 10^9$  CFU 剂量组小肠绒毛高度提高 20.82% ( $p < 0.01$ ), 杯状细胞数目提高 51.23% ( $p < 0.01$ ); 升高血清免疫球蛋白和细胞因子水平 ( $p < 0.05$ ), 以 IgA、IL-2 和 TNF- $\alpha$  水平升高最为显著,  $1 \times 10^9$  CFU 剂量组 IgA 水平升高 20.03% ( $p < 0.001$ ), IL-2 水平升高 35.94% ( $p < 0.001$ ), TNF- $\alpha$  水平升高 14.50% ( $p < 0.05$ )。乳双歧杆菌 XLTG11 具有增强小鼠免疫功能作用, 且呈剂量依赖性。该研究为益生菌保健食品开发和提供理论依据。

**关键词:** 乳双歧杆菌 XLTG11; 环磷酰胺; 增强免疫; 免疫球蛋白; 细胞因子

文章编号: 1673-9078(2022)08-10-16

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.8.1372

## *Bifidobacterium lactis* XLTG11 Alleviates Cyclophosphamide-induced Immunosuppression in Mice

LI Wenwen, MA Weiwei, MA Qing, ZHANG Zhenhua, HUANG Lili\*

(College of Pharmacy, Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

**Abstract:** The effects of *Bifidobacterium lactis* XLTG11 on immune function utilizing an immunosuppressed mouse model that was constructed using cyclophosphamide (CTX) were investigated. The blank control and model groups were given normal saline, the positive control group was given levamisole hydrochloride (LEV) (10 mg/kg), and the experimental groups were given *B. lactis* XLTG11 at different concentrations ( $1 \times 10^9$ ,  $1 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^7$ , or  $1 \times 10^6$  CFU) for 28 consecutive days; subsequently, immunological indices were measured. All mice dosed with *B. lactis* XLTG11 resisted CTX damage to the thymus; their thymic indices increased by 37.37%, 43.43%, 56.56%, and 84.84% ( $p < 0.05$ ), respectively, compared with those of the model group. Additionally, the experimental groups showed increases in plantar thickness of 38.24%, 50.00%, 55.89%, and 94.12% ( $p < 0.05$ ), respectively. Higher villus height and goblet cell number in the small intestines ( $p < 0.05$ ) were also observed, with those of the  $1 \times 10^9$  CFU group increasing by 20.82% ( $p < 0.01$ ) and 51.23% ( $p < 0.01$ ), respectively. Moreover, elevated serum immunoglobulin and cytokine levels were detected ( $p < 0.05$ ). IgA, IL-2, and TNF- $\alpha$  levels increased the most; in the  $1 \times 10^9$  CFU group, IgA increased by 20.03% ( $p < 0.01$ ), IL-2 by 35.94% ( $p < 0.01$ ), and TNF- $\alpha$  by 14.50% ( $p < 0.05$ ). Therefore, *B. lactis* XLTG11 enhanced the immune

引文格式:

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

LI Wenwen, MA Weiwei, MA Qing, et al. *Bifidobacterium lactis* XLTG11 alleviates cyclophosphamide-induced immunosuppression in mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(8): 10-16

收稿日期: 2021-12-06

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目 (LH2019H106); 黑龙江省“头雁”团队

作者简介: 李玟玟 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药及天然药物生物活性与机制, E-mail: 1583608024@qq.com; 共同第一作者: 马微微 (1980-), 女, 博士, 研究方向: 药用资源开发利用, E-mail: maweiwei@163.com

通讯作者: 黄莉莉 (1978-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 中药及天然药物生物活性与机制, E-mail: huanglili@hljucm.com

function of immunocompromised mice in a dose-dependent manner. Our findings can serve as a theoretical basis for the development and use of probiotic health foods.

**Key words:** *Bifidobacterium lactis* XLTG11; cyclophosphamide; immunity enhancement; immunoglobulin; cytokine

益生菌是对宿主有益并有利于肠内菌群生态平衡的活性微生物制剂,当摄入足够剂量时会刺激宿主免疫系统,增强宿主免疫应答反应,从而帮助宿主抵抗各类疾病发生<sup>[1]</sup>。目前,益生菌作为保健食品在临床使用广泛,主要以调节肠道菌群提高免疫力为主,其主要来源于乳杆菌属和双歧杆菌属。双歧杆菌属下的动物双歧杆菌乳亚种(*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*)即乳双歧杆菌(*Bifidobacterium lactis*)安全性高,使用时间长,在我国《可用于食品菌种名单》和欧盟安全资格认定(qualified presumption of safety, QPS)名单中均有收录<sup>[2,3]</sup>。乳双歧杆菌 XLTG11 分离自健康婴儿肠道,具有优良益生特性,在 pH 2.5 的人工胃液中 3 h,存活率为 75.01%,之后继续在 pH 8.0 的人工消化液中 11 h,存活率为 89.75%,具有良好的胃肠道消化液耐受性,具有开发为保健食品的优势。马微微等<sup>[4]</sup>发现乳双歧杆菌 XLTG11 可以升高小鼠全血白细胞数目、刺激 T 淋巴细胞增殖分化,增强小鼠细胞免疫与体液免疫功能。此外,乳双歧杆菌 XLTG11 可以降低促炎细胞因子表达,增强肠道屏障,调节肠道菌群组成,提高短链脂肪酸含量,进而有效缓解葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠溃疡性结肠炎<sup>[5]</sup>。环磷酰胺(cyclophosphamide, CTX)是一种细胞毒化疗药物,对动物的体液和细胞免疫应答具有抑制作用,是制备动物免疫抑制模型的常用药物<sup>[6]</sup>。

本研究以 CTX 构建免疫低下小鼠模型,灌服乳双歧杆菌 XLTG11 探讨其对小鼠胸腺及脾脏指数、细胞免疫功能、小肠黏膜屏障、免疫球蛋白和炎症因子的影响,全面评价乳双歧杆菌 XLTG11 的免疫调节功能,为益生菌微生态制剂产品的合理应用及保健食品开发提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 实验菌株

乳双歧杆菌 XLTG11, 葵花药业集团有限公司; 中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心保藏编号 CGMCC No.18738。实验前将菌株以不同剂量分装保存于-80℃冰箱,用 0.4 mL 生理盐水作为溶剂临用现配。

#### 1.1.2 实验动物

8 周龄健康 SPF 级雄性 BALB/c 小鼠(18~22 g), 辽宁长生生物技术股份有限公司,动物许可证号: SCXK(辽)2020-0001。实验动物饲养于屏障环境动物室,期间自由饮水、摄食,温度控制在 20~23℃,12 h 明暗交替。

#### 1.1.3 主要试剂和仪器

环磷酰胺冻干粉(批号 20172225),江苏恒瑞医药股份有限公司;盐酸左旋咪唑(levamisole hydrochloride, LEV)(批号 200102),山西太原药业有限公司;绵羊红细胞(SRBC)(批号 20210605),上海源叶生物科技有限公司;小鼠免疫球蛋白 A(immunoglobulin A, IgA, 编号 MM-0055M2)、免疫球蛋白 G(immunoglobulin G, IgG, 编号 MM-0057M2)、干扰素  $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ , 编号 MM-0182M2)、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , 编号 MM-0132M2)、白细胞介素 2(interleukin, IL-2, 编号 MM-0701M2)、白细胞介素 6(interleukin, IL-6, 编号 MM-0163M2)试剂盒,江苏酶免实业有限公司;Donatello 脱水机,意大利 DIAPATH 公司;JB-P5 包埋机,武汉俊杰电子有限公司;RM2016 病理切片机,上海徕卡仪器有限公司;SORVALL ST8/8R 离心机,美国 TOMOS 公司;Nikon Eclipse E100 光学显微镜,日本尼康。

## 1.2 方法

### 1.2.1 实验动物分组及模型建立

空白组和模型组灌服生理盐水 0.4 mL,阳性对照组灌服 LEV(10 mg/kg),乳双歧杆菌 XLTG11 不同剂量组分别灌服乳双歧杆菌 XLTG11 溶液  $1 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^9$  CFU,持续 28 d,期间自由饮食。第 23、24 d,除空白组腹腔注射生理盐水外,其余各组小鼠腹腔注射 CTX(40 mg/kg),参照文献<sup>[7]</sup>方法建立免疫低下小鼠模型。

### 1.2.2 免疫器官指数测定

实验第 28 d 末次给药 30 min 后,各组小鼠称重,脊椎脱臼处死,摘取胸腺和脾脏,剥离表面脂肪,用滤纸吸干表面水分,称重并按照公式计算胸腺和脾脏指数。

$$\text{胸腺或脾脏指数} = \frac{\text{胸腺或脾脏质量}(mg)}{\text{小鼠体重}(g)}$$

### 1.2.3 迟发型变态反应(delayed type

hypersensitivity, DTH) 测定

实验第 23 d, 先后用 0.2  $\mu\text{L}$ 、20  $\mu\text{L}$  2%(V/V)SRBC 间隔 4 d 对小鼠进行致敏和攻击。于攻击前、后 24 h 分别测量每只小鼠左后足趾部位厚度, 同一部位测量三次取平均值, 计算足趾厚度差值。

#### 1.2.4 小肠黏膜组织病理变化

小鼠处死后, 采集 2~3 cm 小鼠回肠, 4%多聚甲醛固定, 经脱水、包埋、切片等步骤制作石蜡切片, HE 染色, 使用光学显微镜观察小肠黏膜组织病理变化, 染色步骤参考文献操作<sup>[8]</sup>。

#### 1.2.5 小肠黏膜绒毛高度和杯状细胞数目测定

使用 1.2.4 的小肠黏膜组织 HE 染色切片, 选取小肠组织目的区域进行 100 倍成像, 使用 Image-Pro Plus 6.0 分析软件, 以毫米作为标准单位, 分别测量每张切片中 5 根完整肠绒毛高度 (Villus height), 并求出平均值。

使用 1.2.4 的小肠黏膜组织未染色切片, 将切片进行碘酸雪夫氏 (PAS) 染色处理, 选取小肠组织目的区域进行 100 倍成像, 使用 Image-Pro Plus 6.0 分析软件, 以毫米作为标准单位, 计数单位长度杯状细胞数量。

#### 1.2.6 血清中细胞因子水平测定

实验第 28 d 末次给药 30 min 后, 摘除各组小鼠眼球取全血, 3000 r/min 离心 10 min, 取血清分装 -80  $^{\circ}\text{C}$  冰箱冷冻待测。ELISA 试剂盒检测血清 IgA、IgG、IL-2、IL-6、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  水平, 操作步骤按说明书进行。

### 1.3 统计学方法

应用 SPSS 26.0 统计软件, 实验数据以均数 $\pm$ 标准差 ( $\bar{x}\pm S$ ) 表示, 单因素方差分析方法进行数据处理, LSD 法进行两两比较,  $p<0.05$  具有显著性差异。

## 2 结果与讨论

### 2.1 各组小鼠免疫器官指数测定

胸腺是机体最重要的免疫器官, 是 T 细胞分化、发育的场所; 脾脏是机体最大的免疫器官, 其中的免疫细胞在机体防御和清除功能中具有重要作用<sup>[9]</sup>。当机体接受抗原刺激后, T 淋巴细胞及 B 淋巴细胞数目增多, 相应细胞区体积扩大, 免疫器官的体积和重量也随之增大。因此, 胸腺指数和脾指数的高低可以反映机体非特异性免疫水平, 在保健品免疫功能评价中具有重要意义<sup>[10,11]</sup>。田艳等<sup>[12]</sup>研究了以乳双歧杆菌为

主要成分的益生菌对 CTX 模型小鼠免疫功能的影响, 结果表明 CTX 可以降低小鼠胸腺和脾指数, 经益生菌给药处理后, 小鼠胸腺指数明显回升, 但脾指数无显著差异。乳双歧杆菌 XLTG11 不同剂量组对 CTX 小鼠胸腺和脾指数的影响如表 1 所示。与空白组比较, 模型组小鼠胸腺指数和脾指数显著降低 ( $p<0.05$ ), 说明免疫低下小鼠模型构建成功。与模型组比较, 阳性对照组小鼠胸腺指数增长 43.43% ( $p<0.05$ ), XLTG11 各剂量组小鼠胸腺指数均增加 ( $p<0.05$ ), 且呈剂量依赖性, 其中  $1\times 10^6$  CFU 剂量组增加 37.37% ( $p<0.05$ ),  $1\times 10^7$  CFU 剂量组增加 43.43% ( $p<0.05$ ),  $1\times 10^8$  CFU 剂量组增加 56.56% ( $p<0.01$ ),  $1\times 10^9$  CFU 剂量组增加 84.84% ( $p<0.001$ ), 但各组小鼠脾指数无明显变化。表明乳双歧杆菌 XLTG11 可以拮抗 CTX 对小鼠胸腺的损伤, 回调胸腺指数使其接近正常水平, 但不能拮抗 CTX 导致的小鼠脾脏损伤。

表 1 XLTG11 不同剂量组对 CTX 小鼠胸腺和脾指数的影响

Table 1 Effect of different dose groups of XLTG11 on thymus and spleen indexes in CTX mice ( $\bar{x}\pm S$ , n=8)

组别	胸腺指数	脾指数
空白组	2.11 $\pm$ 0.36	3.12 $\pm$ 0.94
模型组	0.99 $\pm$ 0.20 <sup>***</sup>	2.40 $\pm$ 0.54 <sup>*</sup>
阳性对照组	1.42 $\pm$ 0.44 <sup>#</sup>	2.97 $\pm$ 0.49
XLTG11 ( $1\times 10^6$ CFU)	1.36 $\pm$ 0.31 <sup>#</sup>	2.69 $\pm$ 0.42
XLTG11 ( $1\times 10^7$ CFU)	1.42 $\pm$ 0.41 <sup>#</sup>	2.71 $\pm$ 0.50
XLTG11 ( $1\times 10^8$ CFU)	1.55 $\pm$ 0.44 <sup>###</sup>	2.73 $\pm$ 0.62
XLTG11 ( $1\times 10^9$ CFU)	1.83 $\pm$ 0.32 <sup>####</sup>	2.89 $\pm$ 0.42

注: \* $p<0.05$ , \*\* $p<0.001$ , 与空白组比较; # $p<0.05$ , ## $p<0.01$ , ### $p<0.001$  与模型组比较。

### 2.2 各组小鼠 DTH 测定

表 2 XLTG11 不同剂量组对 CTX 小鼠足跖厚度的影响

Table 2 Effect of different doses of XLTG11 on plantar thickness of CTX mice ( $\bar{x}\pm S$ , n=8)

组别	足跖厚度/mm
空白组	0.50 $\pm$ 0.04
模型组	0.34 $\pm$ 0.08 <sup>*</sup>
阳性对照组	0.54 $\pm$ 0.11 <sup>###</sup>
XLTG11 ( $1\times 10^6$ CFU)	0.47 $\pm$ 0.12 <sup>#</sup>
XLTG11 ( $1\times 10^7$ CFU)	0.51 $\pm$ 0.05 <sup>#</sup>
XLTG11 ( $1\times 10^8$ CFU)	0.53 $\pm$ 0.09 <sup>###</sup>
XLTG11 ( $1\times 10^9$ CFU)	0.66 $\pm$ 0.24 <sup>####</sup>

注: \* $p<0.05$ , 与空白组比较; # $p<0.05$ , ## $p<0.01$ , ### $p<0.001$  与模型组比较。

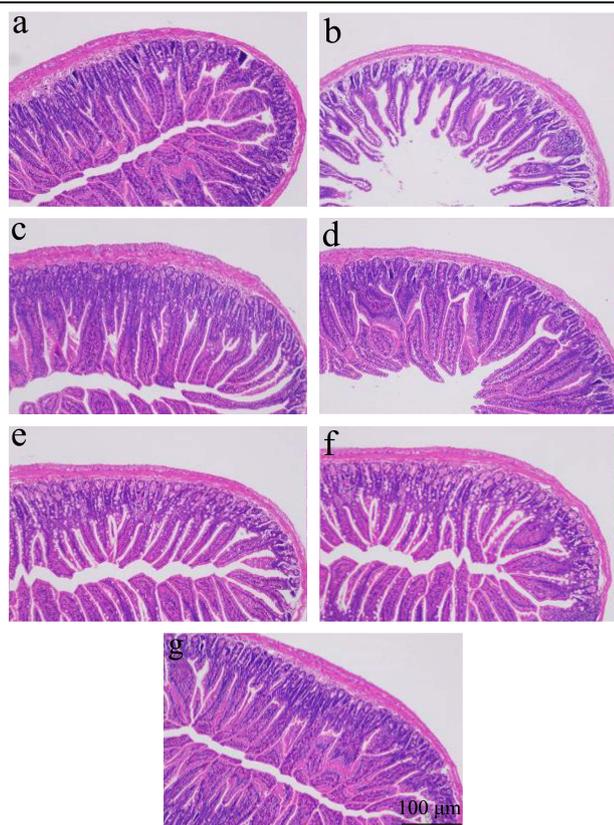


图1 光学显微镜下观察小肠黏膜组织苏木精-伊红 (HE) 染色 ( $\times 100$ )

**Fig.1 Observation of small intestinal mucosa tissues hematoxylin-eosin (HE) staining under the light microscope ( $\times 100$ )**

注: a: 空白组; b: 模型组; c: 阳性对照组; d: XLTG11( $1 \times 10^6$  CFU); e: XLTG11( $1 \times 10^7$  CFU); f: XLTG11( $1 \times 10^8$  CFU); g: XLTG11( $1 \times 10^9$  CFU)。

SRBC 诱导小鼠 DTH 评价乳双歧杆菌对细胞免疫功能的影响<sup>[13]</sup>, 结果如表 2 所示。与空白组比较, 模型组小鼠足跖厚度显著降低 ( $p < 0.05$ ), XLTG11 ( $1 \times 10^9$  CFU) 组小鼠足跖厚度增加, 增加效果 32% ( $p < 0.05$ )。与模型组比较, 阳性对照组小鼠足跖厚度显著增加, 增加效果 58.82% ( $p < 0.01$ ), XLTG11 各剂量组小鼠足跖厚度均增加 ( $p < 0.05$ ), 且随着给药剂量增大效果越显著, 增加效果分别为 38.24% ( $p < 0.05$ )、50.00% ( $p < 0.05$ )、55.89% ( $p < 0.01$ )、94.12% ( $p < 0.001$ )。

### 2.3 各组小鼠小肠黏膜组织病理变化

人体 70% 的淋巴细胞都存在于肠道, 肠道具有黏膜免疫功能, 是机体最大的免疫器官, 其组织结构的完整性可以反应肠道健康状况, 而肠道健康又直接决定了人体健康<sup>[14]</sup>。研究表明, CTX 具有抑制肠道黏膜免疫作用<sup>[15]</sup>, 而乳双歧杆菌属益生菌对维持肠道微生态平衡, 增强肠道免疫功能尤为重要<sup>[16]</sup>。各组小鼠肠

组织 HE 染色结果见图 1。空白组小鼠小肠黏膜组织结构完好, 绒毛排列整齐紧密, 粗细均匀。模型组小鼠小肠黏膜组织损伤, 肠壁变薄, 绒毛萎缩长短不一, 且排列稀疏。阳性对照组和 XLTG11 各剂量组小鼠小肠黏膜组织损伤均有改善, 绒毛病变程度减轻。随着剂量增加, 小鼠的小肠黏膜损伤情况得到缓解, 呈剂量依赖性, 以 XLTG11 ( $1 \times 10^9$  CFU) 效果最明显。

### 2.4 各组小鼠小肠黏膜绒毛高度和杯状细胞

#### 数目测定

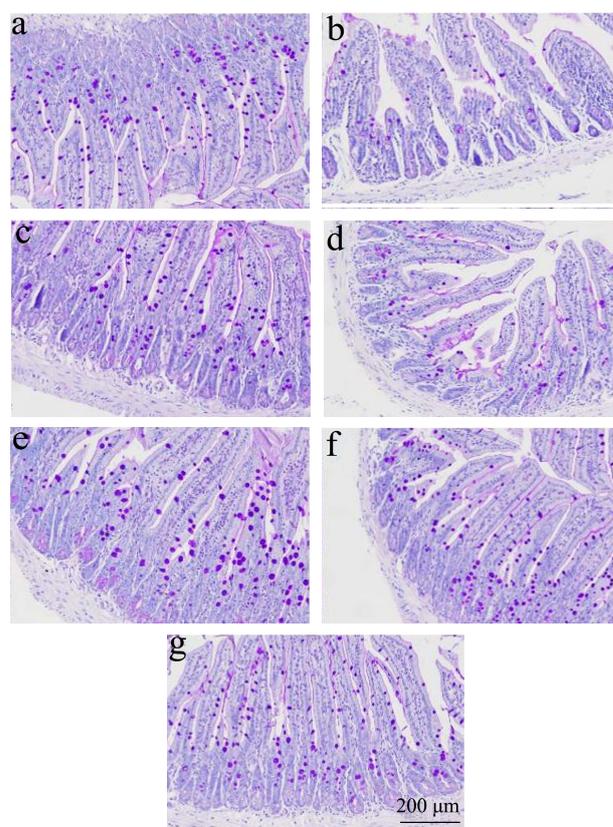


图2 光学显微镜下观察小肠黏膜组织碘酸雪夫氏 (PAS) 染色 ( $\times 200$ )

**Fig.2 Observation of small intestinal mucosa tissues periodic acid-schiff (PAS) staining under the light microscope ( $\times 200$ )**

注: a: 空白组; b: 模型组; c: 阳性对照组; d: XLTG11( $1 \times 10^6$  CFU); e: XLTG11( $1 \times 10^7$  CFU); f: XLTG11( $1 \times 10^8$  CFU); g: XLTG11( $1 \times 10^9$  CFU)。

在小肠黏膜层中, 小肠黏膜向管腔内伸出的指状突起为绒毛, 绒毛外部被覆一层单层柱状细胞, 柱状细胞间的粘液分泌细胞即为杯状细胞。小肠绒毛高度和小肠与营养物质接触面积直接相关, 绒毛高度是衡量机体生长发育的重要指标, 绒毛越高则证明小肠吸收转化营养物质能力越好, 在一定程度上反应化学消化能力以及细胞的更新状态<sup>[17]</sup>。杯状细胞数量与小肠

黏膜免疫功能密切相关,杯状细胞可以调节黏蛋白合成相关过程,参与肠道黏膜屏障构成<sup>[18]</sup>。Nana Wang等<sup>[19]</sup>发现乳双歧杆菌 XLTG11 可以改善硫酸葡聚糖钠致小鼠结肠组织结构损伤,拮抗杯状细胞数目减少,从而增强小鼠肠道黏膜免疫功能。各组小鼠小肠黏膜绒毛高度 HE 染色结果见图 1,杯状细胞数目 PAS 染色结果见图 2,测定结果见表 3。与空白组比较,模型组小鼠小肠绒毛高度显著降低 ( $p<0.001$ ),杯状细胞数目降低 ( $p<0.05$ )。与模型组比较,阳性对照组小鼠小肠绒毛高度增高,增加效果为 16.91% ( $p<0.05$ ),杯状细胞数目增加,增加效果为 47.83%,XLTG11 各剂量组小鼠小肠绒毛高度均增加,剂量由小到大增加效果分别为 15.23% ( $p<0.05$ ), 15.77% ( $p<0.05$ ), 16.35% ( $p<0.05$ ), 20.82% ( $p<0.01$ )。1×10<sup>7</sup> CFU 组杯状细胞数目增加 33.59%, 1×10<sup>8</sup> CFU 增加 40.45%, 1×10<sup>9</sup> CFU 增加 51.23%。实验结果表明,乳双歧杆菌 XLTG11 可以提高小肠绒毛高度,增加小肠对营养物质的吸收转化,增加杯状细胞数目,拮抗 CTX 对肠道黏膜造成的损伤,对小鼠肠道黏膜免疫具有明显增强作用,

表 4 各组小鼠血清 IgA、IgG、IL-2、IL-6、IFN-γ、TNF-α 水平

**Table 4 Levels of serum IgA, IgG, IL-2, IL-6, IFN-γ, TNF-α of rats in various groups ( $\bar{x}\pm S, n=8$ )**

组别	IgA/(ng/mL)	IgG/(ng/mL)	IL-2/(ng/L)	IL-6/(pg/mL)	IFN-γ/(ng/L)	TNF-α/(ng/L)
空白组	57.87±3.64	462.19±21.64	700.68±123.49	82.29±7.06	472.73±51.55	467.16±30.28
模型组	48.38±3.65**	378.10±92.63**	533.40±65.94**	56.50±13.29***	403.99±64.51*	412.70±57.50*
阳性对照组	55.95±3.66###	467.59±54.35###	666.32±134.02#	77.12±17.49###	466.78±62.60#	496.86±49.31###
XLTG11(1×10 <sup>6</sup> CFU)	54.11±3.19#	405.24±35.33	646.22±142.10#	61.59±8.77	399.58±51.32	463.58±38.69#
XLTG11(1×10 <sup>7</sup> CFU)	54.75±3.30#	432.87±32.42#	663.80±103.17#	67.96±5.73	433.15±53.26	465.62±41.08#
XLTG11(1×10 <sup>8</sup> CFU)	56.95±8.72###	440.56±47.27#	673.12±80.22#	68.73±14.61#	460.97±33.15#	468.12±78.39#
XLTG11(1×10 <sup>9</sup> CFU)	58.07±6.85####	512.72±21.05####	725.08±63.62###	69.36±9.44#	476.94±47.67###	472.56±33.93#

注: \* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$ , \*\*\* $p<0.001$ , 与空白组比较; # $p<0.05$ , ## $p<0.01$ , ### $p<0.001$ , 与模型组比较。

机体内 IgA 和 IgG 浓度升高可以说明机体能更好地应对胃肠道中病原体定植的负面影响,从而发挥免疫调节作用<sup>[20]</sup>。IL-2 是 T 细胞系 Th1 型细胞因子,可诱导杀伤细胞产生其他细胞因子,如 IFN-γ、TNF-α 等<sup>[21]</sup>。IL-6 是 Th2 型细胞因子,主要来自于活化的 T 细胞和其他免疫细胞分泌<sup>[22]</sup>,促进 B 淋巴细胞向浆细胞增殖分化,从而分泌特异性免疫球蛋白参与体液免疫<sup>[23,24]</sup>。各组小鼠血清细胞因子结果见表 4。与空白组比较,模型组小鼠血清 IgA、IgG、IL-2、IL-6、IFN-γ、TNF-α 水平明显降低 ( $p<0.05$ ),说明 CTX 会干扰小鼠血清细胞因子分泌。与模型组比较,阳性对照组小鼠血清 IgA、IgG、IL-2、IL-6、IFN-γ、TNF-α 水平分别升高 15.65% ( $p<0.01$ )、23.67% ( $p<0.01$ )、24.92% ( $p<0.05$ )、36.49% ( $p<0.01$ )、15.54% ( $p<0.05$ )、20.39% ( $p<0.01$ );乳双歧杆菌 XLTG11 四个剂量组

与 Nana<sup>[19]</sup>研究结果相一致。

表 3 XLTG11 不同剂量组对小鼠小肠黏膜绒毛高度和杯状细胞数目的影响

**Table 3 Effect of different doses of XLTG11 on villus height and goblet cell number of small intestinal mucosa ( $\bar{x}\pm S, n=8$ )**

组别	绒毛高度/mm	杯状细胞数目
空白组	338.22±29.51	23.90±5.01
模型组	264.80±26.27***	17.06±3.49*
阳性对照组	309.58±51.42#	25.22±5.93###
XLTG11 (1×10 <sup>6</sup> CFU)	305.13±34.31#	19.50±6.77
XLTG11 (1×10 <sup>7</sup> CFU)	306.57±32.71#	22.79±3.53#
XLTG11 (1×10 <sup>8</sup> CFU)	308.10±38.47#	23.96±5.68#
XLTG11 (1×10 <sup>9</sup> CFU)	319.93±51.5###	25.80±7.90###

注: \* $p<0.05$ , \*\*\* $p<0.001$ , 与空白组比较; # $p<0.05$ , ## $p<0.01$ , 与模型组比较。

## 2.5 各组小鼠血清 IgA、IgG、IL-2、IL-6、IFN-γ、TNF-α 水平测定

对 IgA、IL-2、和 TNF-α 含量均有显著提高作用 ( $p<0.05$ ), 1×10<sup>8</sup> CFU 组 IgG、IL-6、IFN-γ 水平分别升高 16.52% ( $p<0.05$ )、21.65% ( $p<0.05$ )、14.10% ( $p<0.05$ ); 1×10<sup>9</sup> CFU 组分别升高 35.60% ( $p<0.001$ )、22.76% ( $p<0.05$ )、18.06% ( $p<0.01$ )。本实验前期研究结果<sup>[4]</sup>显示,乳双歧杆菌 XLTG11 对 CTX 致免疫低下小鼠的脾脏 T 淋巴细胞亚群平衡具有调节作用,可提高小鼠脾脏 T 淋巴细胞 CD3<sup>+</sup>、CD19<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>和 CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>百分比。研究表明,CD19<sup>+</sup>参与 B 淋巴细胞发育再生,促进免疫球蛋白类别转换,使被激活的 B 细胞膜表面表达和分泌的免疫球蛋白类别从产生 IgM 转换为产生 IgG、IgA 或 IgE,从而升高血清中免疫球蛋白 IgA 和 IgG 表达水平<sup>[25]</sup>。CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>和 CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞与细胞因子 IL-2 和 TNF-α 呈正相关<sup>[26]</sup>。因此,我们推测乳双歧杆菌 XLTG11 增强小

鼠免疫功能是通过刺激淋巴细胞增殖分化, 升高 B 淋巴细胞和 T 淋巴细胞分泌免疫球蛋白及 Th1 细胞、Th2 细胞因子水平参与机体免疫反应实现的。

### 3 结论

本实验研究结果显示, 40 mg/kg CTX 连续腹腔注射 2 d 可显著降低小鼠胸腺指数和脾指数、降低足跖肿胀度, 降低小肠绒毛高度和杯状细胞数目, 降低血清免疫球蛋白 IgA、IgG 和细胞因子 IL-2、IL-6、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  的水平 ( $p < 0.05$ ), 成功建立小鼠免疫功能低下模型。在灌胃给予各剂量组乳双歧杆菌 XLTG11 干预 28 d 后, CTX 小鼠免疫功能低下情况得到明显改善, 乳双歧杆菌 XLTG11 ( $1 \times 10^9$  CFU) 组小鼠胸腺指数提高了 84.84%, 足跖肿胀程度增加了 94.12% ( $p < 0.05$ ), 血清细胞因子 IgA、IgG、IL-2、IL-6、TNF- $\gamma$  和 TNF- $\alpha$  水平分别升高 20.03% ( $p < 0.001$ )、35.60% ( $p < 0.001$ )、36.03% ( $p < 0.01$ )、22.76% ( $p < 0.05$ )、18.06% ( $p < 0.01$ )、14.50% ( $p < 0.05$ ), 且呈剂量依赖性, 表现出增强机体免疫功能的作用。此外, 乳双歧杆菌 XLTG11 可以缓解小肠黏膜组织损伤, 减轻组织病变程度, 增加小肠绒毛高度和杯状细胞数目,  $1 \times 10^9$  CFU 组小鼠小肠绒毛高度增加 20.82% ( $p < 0.01$ ), 杯状细胞数目增加 51.23% ( $p < 0.01$ ), 表现出较好的黏膜免疫调节和肠道屏障保护作用, 具有较强的肠道黏膜免疫增强作用。综上, 乳双歧杆菌 XLTG11 具有增强免疫功能作用, 且呈剂量依赖性。这一结论为乳双歧杆菌 XLTG11 在保健品方面的开发与应用提供了理论支持。

### 参考文献

- [1] 张娟, 陈坚. 益生菌功能开发及其应用性能强化[J]. 科学通报, 2019, 64(3): 246-259  
ZHANG Juan, CHEN Jian. Functional development and performance enhancement of probiotics [J]. Chinese Science Bulletin, 2019, 64(3): 246-259
- [2] 于学健, 刘锦滢, 赵婷, 等. 一株分离自婴儿肠道的乳双歧杆菌 BL-99 的菌株鉴定[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(21): 32-38  
YU Xuejian, LIU Jinfeng, ZHAO Ting, et al. Identification of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BL-99 isolated from infant intestine [J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(21): 32-38
- [3] 晓言. 卫生部出台《可用于食品的菌种名单》[N]. 中国食品报, 2010-05-25(005)  
XIAO Yan. The Ministry of Health 《List of bacteria that can be used in food》[N]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2010-05-25(005)
- [4] 马微微, 李玖玖, 黄莉莉, 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  
MA Weiwei, LI Wenwen, HUANG Lili, et al. Effects of *Bifidobacterium lactis* XLTG11 on immune function in mice [J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(13): 103-107
- [5] 马岩, 王中江, 杨靖瑜, 等. 动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 对葡聚糖硫酸钠诱导小鼠溃疡性结肠炎的缓解作用[J]. 食品科学: 1-13[2022-01-29]  
MA Yan, WANG Zhongjiang, YANG Jingyu, et al. Alleviating effect of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* XLTG11 on ulcerative colitis induced by sodium dextran sulfate in mice [J]. Food Science: 1-13[2022-01-29]
- [6] 齐丽娟, 宋雁, 王伟, 等. 用环磷酰胺建立小鼠免疫抑制动物模型[J]. 卫生研究, 2010, 39(3): 313-315  
QI Lijuan, SONG Yan, WANG Wei, et al. Cyclophosphamide immunosuppressive mechanism and its application in animal models [J]. Health Research, 2010, 39(3): 313-315
- [7] 钟金凤, 方热军. 环磷酰胺免疫抑制机制及在动物模型上的应用[J]. 中国免疫学杂志, 2016, 32(10): 1541-1546  
ZHONG Jinfeng, FANG Rejun. Immunosuppressive mechanism of cyclophosphamide and its application in animal models [J]. Chinese Journal of Immunology, 2016, 32(10): 1541-1546
- [8] 刘丹凤, 聂少平, 刘昕, 等. 膳食摄入染料木素对 ICR 小鼠血脂及肝脏的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(23): 292-296  
LIU Danfeng, NIE Shaoping, LIU Xin, et al. Effects of dietary genistein on serum lipid and liver of ICR mice [J]. Food Science, 2014, 35(23): 292-296
- [9] 单增天, 田岳凤, 李雷勇, 等. 不同灸法对免疫抑制兔脾脏指数及细胞因子的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2016, 36(11): 83-86  
SHAN Zengtian, TIAN Yuefeng, LI Leiyong, et al. Influence of different moxibustion on spleen index and cytokines in immunosuppressive model rabbits [J]. Journal of Traditional Chinese Medicine University of Hunan, 2016, 36(11): 83-86
- [10] 刘灵, 王萌, 宋自娟, 等. 大豆异黄酮复合软胶囊的免疫增强作用及安全性评价[J]. 现代食品科技, 2022, 2: 56-63  
LIU Ling, WANG Meng, SONG Zijuan, et al. Immune function and foodsafety evaluation of soybean isoflavone composite capsule [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 2: 56-63
- [11] 张兆肖, 郑铮, 杨丽, 等. 骆驼初乳对环磷酰胺诱导小鼠免疫功能低下的调节作用[J]. 现代食品科技, 2019, 35(4): 1-8

- ZHANG Zhaoxiao, ZHENG Zheng, YANG Li, et al. Effects of camel colostrum on cyclophosphamide-induced immunodeficiency in mice [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2019, 35(4): 1-8
- [12] 田艳,刘青青,田海霞,等. 益生菌缓解环磷酰胺所致小鼠免疫功能低下[J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36(15): 1805-1808
- TIAN Yan, LIU Qingqing, TIAN Haixia, et al. Probiotics alleviate immunosuppression induced by cyclophosphamide in mice [J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2020, 36(15): 1805-1808
- [13] Baldrige J R, Barry R A, Hinrichs D J. Expression of systemic protection and delayed-type hypersensitivity to *Listeria monocytogenes* is mediated by different T-cell subsets [J]. *Infection and Immunity*, 1990, 58(3): 654-658
- [14] Zhou R, He D, Xie J, et al. The synergistic effects of polysaccharides and ginsenosides from American ginseng (*Panax quinquefolius* L.) ameliorating cyclophosphamide-induced intestinal immune disorders and gut barrier dysfunctions based on microbiome-metabolomics analysis [J]. *Front Immunol*, 2021, 22(12): 665901
- [15] 李相玲,白莎莎,周联,等. 环磷酰胺和地塞米松对小鼠肠道黏膜免疫抑制的比较[J]. *中国免疫学杂志*, 2013, 29(1): 39-42, 47
- LI Xiangling, BAI Shasha, ZHOU Lian, et al. Comparison of the immunosuppressive functions induced by cyclophosphamide and dexamethasone in intestinal mucosa in mice [J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2013, 29(1): 39-42, 47
- [16] 蒙月月,霍贵成. 植物乳杆菌 KLDS 1.0318 对小鼠免疫调节作用初步研究[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(7): 303-308
- MENG Yueyue, HUO Guicheng. Preliminary study on the immunomodulatory function of *Lactobacillus plantarum* KLDS 1.0318 in mice [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2018, 39(7): 303-308
- [17] 贾玉臣,陈庆森. 生物活性肽对肠黏膜免疫调节作用的研究进展[J]. *食品科学*, 2009, 30(21): 409-415
- JIA Yuchen, CHEN Qingsen. Research progress in immune regulation of bioactive peptides on gut mucosa [J]. *Food Science*, 2009, 30(21): 409-415
- [18] 杨文娟,来利华,王青青. 肠道杯状细胞在肠道免疫调控中作用的研究进展[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2018, 34(11): 1046-1050
- YANG Wenjuan, LAI Lihua, WANG Qingqing. Progress in the role of intestinal goblet cells in intestinal immune regulation [J]. *Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology*, 2018, 34(11): 1046-1050
- [19] Wang Nana, Wang Song, Xu Baofeng, et al. Alleviation effects of *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis XLTG11 on dextran sulfate sodium induced colitis in mice [J]. *Microorganisms*, 2021, 9(10): 2093
- [20] Ulfman L H, Leusen J, Savelkoul H, et al. Effects of bovine immunoglobulins on immune function, allergy, and infection [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2018, 6(5): 52
- [21] Marianne D, Florence B, Juliette L, et al. A combination of cyclophosphamide and interleukin-2 allows CD4<sup>+</sup> T cells converted to tregs to control scurfy syndrome [J]. *Blood*, 2021, 137(17): 2326-2336
- [22] 陶根金,向全丹,余强,等. 发酵虫草菌对免疫抑制小鼠的免疫调节和抗氧化作用[J]. *南昌大学学报(理科版)*, 2016, 40(2): 156-160
- TAO Genjin, XIANG Quandan, YU Qiang, et al. The immune modulation and antioxidative activities of artificial fermented cordyceps powder in immune-suppressed mice [J]. *Journal of Nanchang University (Natural Science)*, 2016, 40(2): 156-160
- [23] 瞿俊勇,田梦,贺建华,等. 白花蛇舌草多糖对免疫抑制小鼠的免疫调节作用研究[J]. *中药材*, 2015, 38(9): 1942-1945
- QU Junyong, TIAN Meng, HE Jianhua, et al. Study on immunomodulatory effect of *Hedyotis diffusa* polysaccharide on immunosuppressed mice [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2015, 38(9): 1942-1945
- [24] Ohtani T, Nakamura T, Toda KI, et al. Cyclophosphamide enhances TNF- $\alpha$ -induced apoptotic cell death in murine vascular endothelial cell [J]. *Febs Letters*, 2006, 580(6): 1597-1600
- [25] 师越,王冬梅,廖晓龙. CD19 分子的研究进展及临床应用[J]. *国际免疫学杂志*, 2015, 38(2): 156-160
- SHI Yue, WANG Dongmei, LIAO Xiaolong. Research progress and clinical application of CD19 molecule [J]. *International Journal of Immunology*, 2015, 38(2): 156-160
- [26] Overgaard N H, Jung J W, Steptoe R J, Wells J W. CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> double-positive T cells: more than just a developmental stage? [J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2014, 97(1): 31-38