

益生菌水牛奶发酵乳对妊娠大鼠血压和肠道菌群的影响

陆焕钊¹, 姜铁民¹, 梁祎¹, 宋家乐^{2, 3}, 莫蕾³, 钟萍^{3*}

(1. 桂林理工大学化学与生物工程学院, 广西桂林 541004) (2. 桂林医学院公共卫生学院, 广西桂林 541001) (3. 桂林医学院第二附属医院产科, 广西桂林 541199)

摘要: 该研究探讨了母乳源植物乳植杆菌联合酸奶发酵剂发酵水牛乳对妊娠大鼠血压和肠道微生物结构与功能的影响。将大鼠(10周龄)随机分为发酵乳组、盐酸拉贝洛尔组和模型对照组, 每组5只, 自受孕第1天开始, 按发酵乳20 mg/kg、盐酸拉贝洛尔4 mg/kg和生理盐水等体积(10 mL)灌胃, 每天1次, 共21 d, 并于妊娠第15天开始造模, 每天注射N-硝基-L-精氨酸甲酯盐酸盐(L-NAME, 125 mg/kg)至分娩前, 测定血压和结肠内容物微生物组成。研究表明, 发酵乳组血压显著低于L-NAME诱导前和模型对照组($P<0.05$), 与盐酸拉贝洛尔组无显著差异($P>0.05$)。同时, 相比于生理盐水组, 发酵乳组表现出更低厚壁菌门丰度和更高罗斯氏菌、双歧杆菌、拟杆菌和副拟杆菌丰度($P<0.05$), 厚壁菌门与拟杆菌门比例由10.46降低至3.74, 此外, 发酵乳摄入可显著促进叶酸和鞘糖脂生物合成, 以及显著增加乙酸和异戊酸的含量。该研究揭示植物乳植杆菌B发酵水牛乳可通过改善妊娠大鼠肠道菌群结构与功能达到稳定妊娠大鼠血压的作用, 有望成为改善妊娠健康状况的新功能营养食品。

关键词: 植物乳植杆菌; 水牛乳发酵乳; 妊娠大鼠; 肠道菌群; 血压

文章编号: 1673-9078(2025)03-54-62

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.3.0112

Effects of Buffalo Milk Fermented with *Lactiplantibacillus plantarum* B from Breast Milk on Blood Pressure and Gut Microbiota in Pregnant Rats

LU Huanzhao¹, JIANG Tiemin¹, LIANG Yi¹, SONG Jiale^{2,3}, MO Lei³, ZHONG Ping^{3*}

(1. College of Chemistry and Bioengineering, Guilin University of Technology, Guilin 541004, China) (2. School of Public Health, Guilin Medical College, Guilin 541001, China) (3. Department of Obstetrics, The Second Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541199, China)

Abstract: The effects of buffalo milk fermented with *Lactiplantibacillus plantarum* B (LPB) and yogurt starter on blood pressure and gut microbiota structure and function were assessed using pregnant rats. The rats (10 weeks old) were randomly divided into a fermented buffalo milk group (YT), labetalol hydrochloride positive control group (PC), and negative control group (NC), with five rats per group. Starting from the 1st day of pregnancy, the rats in groups YT, PC, and NC were

引文格式:

陆焕钊,姜铁民,梁祎,等. 益生菌水牛奶发酵乳对妊娠大鼠血压和肠道菌群的影响[J]. 现代食品科技, 2025, 41(3): 54-62.

LU Huanzhao, JIANG Tiemin, LIANG Yi, et al. Effects of buffalo milk fermented with *Lactiplantibacillus plantarum* B from breast milk on blood pressure and gut microbiota in pregnant rats [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(3): 54-62.

收稿日期: 2024-01-24

基金项目: 中央引导地方科技发展专项资金(桂科 ZY22096025); 广西壮族自治区卫生健康委员会自筹经费科研课题项目(Z20211390)

作者简介: 陆焕钊(1998-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品营养与健康, E-mail: lhz1368@126.com

通讯作者: 钟萍(1972-), 女, 硕士, 主任医师, 研究方向: 孕产妇营养与健康, E-mail: 1045860606@qq.com

respectively gavaged with 10 mL of 20 mg/kg fermented buffalo milk, 10 mL of 4 mg/kg labetalol hydrochloride, and 10 mL of normal saline once a day for 21 days. Modeling was initiated on day 15 of pregnancy, with daily injections of N-nitro-L-arginine methyl ester hydrochloride (L-NAME, 125 mg/kg) until delivery, and blood pressure and microbial composition of colonic contents were measured daily. Blood pressure in group YT was significantly reduced by induction with L-NAME and was significantly lower than that in the post-induced group NC ($P<0.05$) but was not significantly different from that of group YT or group PC ($P>0.05$). Compared with group NC, group YT exhibited lower abundance of Firmicutes and higher abundance of *Rothia*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, and *Parabacteroides* ($P<0.05$), and the ratio of Firmicutes to Bacteroidetes was reduced from 10.46 to 3.74. Fermented milk intake also significantly promoted folate and sphingolipid biosynthesis while significantly increasing the levels of acetic acid and isovaleric acid. This study demonstrates that buffalo milk fermented with LPB can aid in stabilizing blood pressure in pregnant rats by improving their gut microbiota structure, indicating great potential as a new functional food to improve prenatal health.

Key words: *Lactiplantibacillus plantarum* B; fermented buffalo milk; pregnancy rat; gut microbiota; blood pressure

妊娠是一个营养需求、氧化应激和炎症升高的特殊时期，母体激素、免疫、代谢、肠道菌群等系列变化，可能会引发妊娠高血压疾病（Hypertensive Disorders of Pregnancy, HDP）、糖尿病等^[1]。然而，随着高龄产妇和肥胖等风险因素的增多，妊娠并发症和合并症的发生也会随之增加^[2]。加强孕期营养管理，对提高母婴健康水平和妊娠质量具有重要作用。

肠道菌群结构复杂多样，参与机体的生长发育、免疫、代谢和疾病等各方面，调节肠道微生物组成被视为多种疾病的潜在新型疗法^[3]。随着肠道微生物组研究深入，人们发现肠道菌群与正常妊娠和妊娠相关疾病的病理生理过程存在密切联系^[4]，课题组前期研究也发现，孕妇妊娠早期粪便中肠道菌群的香农（Shannon）指数和辛普森（Simpson）指数的下降与孕妇发生子痫前期的关系显著^[5]。膳食能够影响机体的肠道微生物群落结构与功能，不同的膳食营养成分导致肠道微生物群落组成的显著差异，因此，营养干预被作为许多疾病防治的重要手段^[6]。大量的研究显示酸奶，特别是富含益生菌酸奶能有效减少肥胖、心血管疾病和糖尿病等代谢性疾病的发病风险^[7,8]。最近，He等^[9]系统分析了益生菌酸奶在管理妊娠相关不良事件中的作用后发现，食用益生菌酸奶能够通过调节肠道菌群、改善代谢水平和抗炎作用，降低妊娠期糖尿病、婴儿特应性皮炎和早产等围产期不良现象的发表风险；Yuan等^[8]发现长期摄入益生菌发酵乳通过调节肠道微生物组成与代谢水平，达到抑制大鼠血压升高的作用。早期研究者认为母乳中是没有细菌的，然而后来发现母乳中含有丰富的微生物群^[10]，是婴幼儿肠道微生物的主要来源，已被证明会影响婴儿肠道的细菌组成，

同样也直接影响着宿主未来疾病发生的风险^[11]，并且认为母乳源益生菌有更好的安全性、适应性和促进肠道健康活性^[12]，从而使母乳源益生菌在功能食品中日益受到重视。但目前有关益生菌酸奶，特别是益生菌发酵水牛乳对妊娠期血压的影响和机制未见报道。为此，本文以妊娠大鼠为动物模型，研究了母乳源植物乳植杆菌 B (*Lactiplantibacillus plantarum* B, LPB) 发酵水牛乳对 N-硝基-L-精氨酸甲酯盐酸盐 (L-NAME) 诱导妊娠大鼠血压和肠道菌群的影响，以期开发新型功能酸奶提供依据，同时为临床改善妊娠期健康状况提供新的营养管理策略。

1 材料与方法

1.1 主要材料和仪器

大鼠：SPF 级的 10 周龄雌性 SD 大鼠 15 只，体重 250~350 g，购于斯贝福（北京）生物技术有限公司，许可证号 SCXK（京）2019-0010；LPB 发酵水牛乳，实验室自制；盐酸拉贝洛尔（HY-B1108），MCE；N-硝基-L-精氨酸甲酯盐酸盐（L-NAME），上海源叶生物科技有限公司；酸奶发酵剂：嗜热链球菌（*Streptococcus thermophilus*）和保加利亚乳杆菌（*Lactobacillus bulgaricus*），丹尼斯（中国）有限公司；LPB，国家母婴乳品健康工程技术研究中心筛选自中国健康母乳；无创血压仪（BP-2010），北京软隆生物技术有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 发酵乳制备

参照贺小龙等^[13]报道的酸奶制备方法略作改动

后进行 LPB 发酵水牛乳的制备, 具体如下: $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存 LPB 活化两次后, 按 3% (V/V) 比例与酸奶发酵剂共同接种于添加 0.5% (m/V) 浓缩乳蛋白与 0.08% (m/V) CaCl_2 的水牛乳中, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 发酵凝乳后得到 LPB 发酵乳产品。

1.2.2 动物干预与血压测定

总 15 只 10 周龄雌性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 (体质量为 250~350 g) 由斯贝福 (北京) 生物技术有限公司提供 (SCXK (京) 2019-0010), 饲养于江西中洪博元生物技术有限公司动物房 (SYXK (赣) 2020-0001)。所有的动物都饲养在标准环境中 ($25\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, 12 h 光照 / 黑暗条件), 饲养期间自由饮水与采食。本研究中所采用的研究方法和具体实施步骤均经江西中洪博元生物技术有限公司动物实验伦理审批通过 (审批号: 2022072101)。受孕与干预: 雌性大鼠在 SPF 条件下适应性饲养 1 周后, 与雄性大鼠 1:1 进行合笼受孕, 发现阴栓标记当天为受孕 0 d, 并随机分为 3 组 (5 只 / 组), 即 LPB 发酵乳组 (YT)、盐酸拉贝洛尔组 (PC) 和生理盐水模型对照组 (NC)。自受孕第 1 天开始, 按发酵乳 20 mg/kg^[14]、盐酸拉贝洛尔 4 mg/kg^[15] 和生理盐水等体积 (10 mL) 灌胃, 每天 1 次, 至分娩当天共 21 d。同时, 为了更直观观察发酵乳对妊娠大鼠血压的影响, 自怀孕第 15 天至分娩前, 每天按皮下注射 L-NAME (125 mg/kg) 诱导血压升高^[16], 使用无创血压仪检测血压进行高血压评价。

1.2.3 结肠内容物采集及 16S rRNA 基因测序

实验结束后通过麻醉安乐死, 按结肠肠段采集内容物样本, 用于肠道微生物基因分析。根据试剂盒操作说明, 使用 QIAamp 快速粪便 DNA Mini 试剂盒 (Qiagen, GmbH, Hilden, 德国), 从粪便样品 (100 mg) 中提取基因组 DNA。然后以 10 ng DNA 为模板, 进行 PCR 扩增 V3-V4 区域的 16S rRNA 基因, 30 μL 总反应体系为: 15 μL 高保真 PCR 反应混合液 (New England Biolabs), 0.2 $\mu\text{mol/L}$ 正向和反向引物 (314F-805R)。PCR 条件包括 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$, 3 min; 25 次循环: $95\text{ }^{\circ}\text{C}$, 30 s; $55\text{ }^{\circ}\text{C}$, 30 s; $72\text{ }^{\circ}\text{C}$, 30 s; 并在 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下放置 5 min。根据操作说明, 使用 NEB Ultra DNA 文库制备试剂盒 (NEB, 美国) 生成测序文库, 扩增子采用 Illumina PE 2 \times 250 bp HiSeq 2500 平台 (Illumina, 美国) 进行测序。

1.2.4 结肠短链脂肪酸代谢组学

将样品冰上解冻, 取 100 μL 样品于 2 mL 玻璃离心管中。加入 900 μL 0.5 wt.% 的磷酸重悬, 震荡混匀 2 min; 14 000 g 离心 10 min, 取上清液 800 μL , 加入等量的乙酸乙酯提取, 震荡混匀 22 min, 14 000 g 离心 10 min; 取 600 μL 上层有机相, 加入终浓度为 500 $\mu\text{mol/L}$ 的 4-甲基戊酸作为内标, 混匀加入进样瓶, 进入 GC-MS 检测, 进样量 1 μL , 分流比 10:1, 分流进样。色谱条件: 样品采用 Agilent DB-FFAP 毛细管柱 (30 m \times 250 $\mu\text{m}\times$ 0.25 μm) 气相色谱系统进行分离。程序升温: 初始温度 $90\text{ }^{\circ}\text{C}$; 以 $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 $160\text{ }^{\circ}\text{C}$; 再以 $40\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 $240\text{ }^{\circ}\text{C}$ 并维持 5 min。载气为氦气, 载气流量 1.0 mL/min。样本队列中每间隔一定数量的实验样本设置一个 QC 样本, 用于检测和评价系统的稳定性及重复性。质谱条件: 采用 5977B MSD 质谱仪 (Agilent) 进行质谱分析。5977B MSD 条件如下: 进样口温度 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$; 离子源温度 $230\text{ }^{\circ}\text{C}$; 传输线温度 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$, 四极杆温 $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。电子轰击电离 (EI) 源, 电子能量 70 eV; 采用 SCAN/SIM 模式检测待测物。

1.3 数据处理与统计分析

肠道细菌测序结果使用 QIIME 1.9.0^[17] 合并、质量筛选和 Demultiplex 原始下机测序数据。序列进行聚类, 并将具有 97% 的相似性的序列归为操作分类单元 (OTU), 然后将 OTU 序列根据 Greengenes 数据库 (Version 13.5) 进行物种注释, 分类为从门到属的级别。下游数据在生科云平台 (www.bioincloud.tech) 上, 采用 DESeq2 进行组间物种差异统计分析, 以 FDR (False Discovery Rate) 校正后的 $P<0.1$ 确定为有差异显著性, 统计检验均为双侧检验, 微生物组成含量以平均值 \pm 标准差表示。同时, 利用 PICRUST 方法将测序得到的微生物组成映射到 MetaCyc 数据库中, 预测微生物代谢功能, 并进行 Dunn test 差异分析。短链脂肪酸代谢组学数据在生科云平台上, 先对样本数据的 QC 质量控制、批次校正和标准化进行处理, 采用主成分分析法 (PCA) 和正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 对数据进行分析, 以 OPLS-DA 模型中变量权重值 (VIP, Value Importance in Projection) >1 且 $P<0.05$ 的标准筛选差异代谢物。

表 1 大鼠不同时期收缩压与舒张压

Table 1 Systolic blood pressure and diastolic blood pressure in different periods of rats

分组	舒张压/mmHg		收缩压/mmHg	
	14 d	21 d	14 d	21 d
NC	97.60 ± 8.42 ^{ab}	108.13 ± 14.28 ^{aa}	117.46 ± 8.20 ^{ab}	135.46 ± 16.53 ^{aa}
PC	92.06 ± 5.48 ^{aa}	91.00 ± 14.32 ^{ba}	118.26 ± 9.88 ^{aa}	119.86 ± 11.39 ^{ba}
YT	93.60 ± 6.37 ^{aa}	86.06 ± 6.88 ^{bb}	119.66 ± 10.36 ^{aa}	106.53 ± 10.29 ^{bb}

注：采用多变量统计分析方法；不同英文字母表示同一观测点组间差异显著，不同希腊字母表示组内不同观测点差异显著。NC 为模型对照组，PC 为拉贝洛尔对照组，YT 为益生菌发酵乳组。

2 结果与讨论

2.1 益生菌发酵乳对妊娠大鼠血压的影响

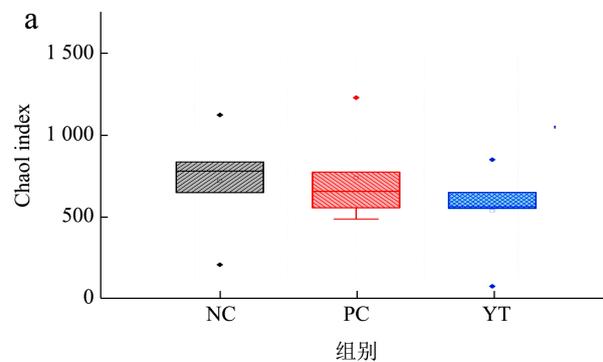
妊娠高血压会造成母婴死亡，并增加孕妇后期患心血管疾病和其他慢性疾病的风险^[18]。妊娠期高血压的治疗不能只考虑疗效、预后，也要考虑到胎儿的安全。目前，大多数指南推荐拉贝洛尔，甲基多巴或硝苯啶作为选择^[19]。然而有证据表明，不同种类的药物都存在潜在毒性（如致畸风险等）^[20]。因此，寻求一种非药物替代或辅助疗法成为管理妊娠并发症的重要方向。饮食是一个可改变的因素，是妊娠期代谢并发症发展中的关键因素^[21]。本研究以收缩压 ≥ 140 mmHg 或舒张压 ≥ 90 mmHg 作为是否患高血压的标准^[22]，生理盐水组（NC）第 21 天的舒张压为 108.13 mmHg，确定患有妊娠高血压，研究发现 LPB 发酵乳能明显抑制 L-NAME 诱导的妊娠大鼠高血压（表 1），即 YT 组在 L-NAME 诱导后 7 d（第 21 天）的收缩压和舒张压分别为 106.53 mmHg 和 86.06 mmHg，显著低于 NC 组（ $P < 0.05$ ），说明 LPB 发酵乳可以稳定妊娠期大鼠的血压。同时，YT 组大鼠在第 21 天的收缩压和舒张压均显著低于第 14 天，提示发酵乳具有防止 L-NAME 升高血压的作用，且效果优于 4 mg/kg 的拉贝洛尔（表 1）。Yuan 等^[8]在研究益生菌发酵乳的抗高血压活性中，也发现植物乳植杆菌发酵乳可显著降低 L-NAME 诱导的高血压大鼠血压。

2.2 益生菌发酵乳对妊娠大鼠肠道菌群的影响

2.2.1 肠道菌群多样性分析

肠道菌群作为机体内最大的微生物群落，对人体健康起重要作用，但其组成与结构受抗生素、年龄、饮食模式和健康状态等因素的影响^[23,24]。妊娠是一个营养需求、氧化应激和炎症升高的特殊时

期，母体激素、免疫、代谢等系列变化容易导致肠道菌群改变。已有研究报道，孕妇，尤其是伴有高血压者，其肠道微生物有显著改变，主要表现为生物多样性显著降低，厚壁菌门（Firmicutes）与拟杆菌门（Bacteroidetes）比例（F/B）升高，乳杆菌属（*Lactobacillus*）、粪杆菌属（*Faecalibacterium*）、粪球菌属（*Coprococcus*）等有益菌丰度显著降低，梭菌属（*Clostridium*）、韦荣氏球菌属（*Veillonella*）和布劳特氏菌属（*Blautia*）等机会致病菌的丰度明显升高^[25-28]。在本项研究中，针对妊娠高血压大鼠的结肠肠道微生物群落进行观察，结果表明 α -多样性指标（如 Chao1 指数和 Shannon 指数，见图 1a、1b）在大鼠食用 LPB 发酵乳和拉贝洛尔后并未表现出显著变化。然而，利用稀疏偏最小二乘 - 判别分析结果显示了三个不同处理组之间具有明显的分离趋势（图 1c）。此外，基于 Bray-Curtis 距离的置换多元方差分析（Permutational multivariate analysis of variance, PERMANOVA）证实 LPB 发酵乳可显著增加妊娠高血压大鼠肠道菌群的 β -多样性（ $P < 0.05$ ），说明 LPB 发酵乳可通过改变妊娠大鼠肠道微生物结构组成，恢复肠道生物的多样性。同时，拉贝洛尔虽然一定程度也能增加妊娠高血压大鼠肠道菌群的 β -多样性，但无统计学意义（图 1d）。



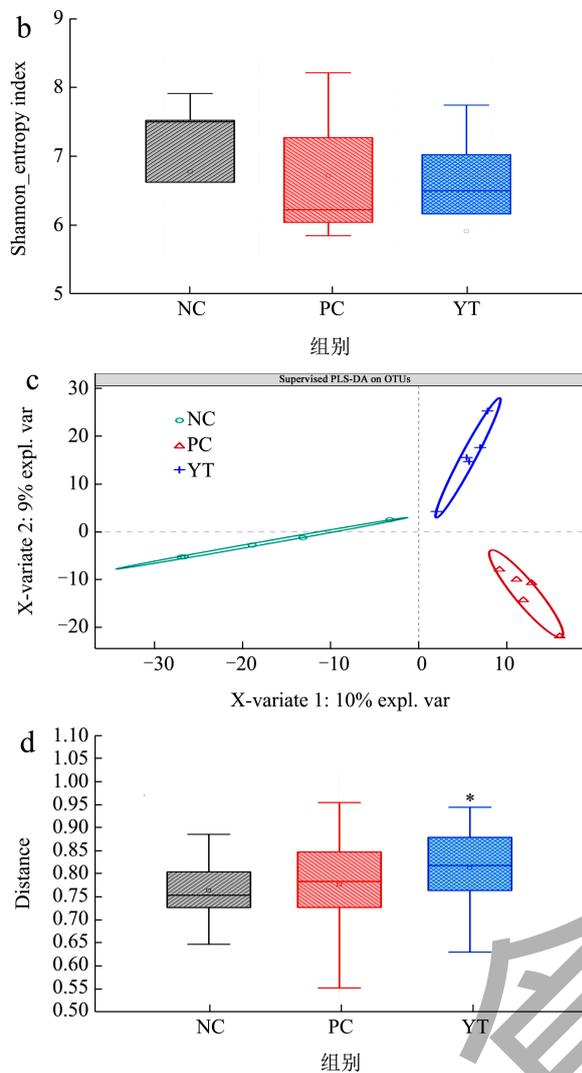


图1 妊娠大鼠不同处理后肠道微生物多样性的变化

Fig.1 Changes of intestinal microbial diversity in pregnant rats after different treatments

注: * 代表与 NC 组有显著差异。

2.2.2 肠道菌群组成分析

进一步分析肠道微生物分类组成发现,厚壁菌门(65.45%~82.16%)、拟杆菌门(7.85%~19.00%)、变形杆菌门(Proteobacteria, 3.38%~10.13%)和放线菌门(Actinobacteria, 2.44%~4.83%)为主要优势菌门,占肠道微生物群总相对丰度的98%以上(图2a)。与NC组相比,YT组的厚壁菌门由82.16%减少到65.45%,拟杆菌门由7.85%增加到17.52%。并且摄入LPB发酵乳和拉贝洛尔后,厚壁菌门与拟杆菌门的比例(F/B)由10.46分别降低至3.74和3.45,推测LPB发酵乳和拉贝洛尔均能通过调整肠道菌群的结构起到稳定血压的作用^[27]。在属水平分类上,LPB发酵乳和拉贝洛尔摄入后均引起16种优势菌属发生显著变化,包括对人体有

益的乳杆菌、双歧杆菌(*Bifidobacterium*)及AKK菌(*Akkermansia*)等(图2c、2d),其中相对丰度大于0.1%的有12种(图2b)。在维持人类健康中,除乳杆菌、双歧杆菌和AKK菌等有益肠道菌外,拟杆菌(*Bacteroides*)也有助于维持肠道稳态,可以通过分解人体无法直接消化的动植物糖苷,产生大量的短链脂肪酸(Short-chain Fatty Acids, SCFAs),供给宿主所需的养分和热能^[29]。最近,Yan等^[30]发现拟杆菌能够通过产生花生四烯酸来抑制由高盐饮食引起的肠皮质酮的增加,进而有助于血压的稳定。国内更有研究人员通过动物实验直接证明了副拟杆菌(*Parabacteroides*)具有通过减少炎症因子来发挥稳定血压的功能^[31]。在本项研究中,YT组的拟杆菌及副拟杆菌的相对丰度均显著比NC组高($P<0.05$),分别由0.28%和0.02%增加到3.04%和0.31%(图2b、2c),这表明LPB发酵乳的摄入可能通过增加有益菌的数量来维持妊娠期的血压稳定。此外,LPB发酵乳的摄入也可能通过增加罗斯氏菌(*Rothia*, 1.15%)与双歧杆菌(0.33%)、消除芽胞杆菌(*Bacillus*)和降低阿德勒克罗伊茨菌(*Adlercreutzia*, 0.05%)等优势菌的丰度来维持妊娠大鼠正常血压(图2b、2c)。与发酵乳不同,拉贝洛尔摄入除显著增加拟杆菌(4.97%)、双歧杆菌(0.55%)外,还显著降低乳杆菌(10.52%)、粪球菌(0.67%)、粪杆菌(0.01%)、*Dorea*(0.31%)等优势菌属丰度(图2b、2d),揭示拉贝洛尔除通过阻断 β 受体降血压作用外^[32],也可以通过改善肠道菌群结构多样性和调节优势菌群相对含量达到维持妊娠大鼠血压的效果。

2.2.3 肠道菌群对血压的影响

早期研究已经揭示了无菌大鼠血压偏高的现象,这一发现触发了对肠道微生物群在血压调节中作用的探讨^[33]。最近研究发现舒张压与乳杆菌的丰度正相关,但与梭菌科(Clostridiaceae)和霍尔德曼氏菌(*Holdemania*)的丰度有负相关性^[34],并发现了副拟杆菌和拟杆菌在稳定血压方面的潜在价值^[30,31]。本项研究在此基础上进一步发掘,发现妊娠大鼠的舒张压和收缩压与副拟杆菌的丰富度显著负相关($P<0.05$,表2)。此外,舒张压还与拟杆菌和假单胞菌(*Pseudomonas*)的丰度存在显著的负相关关系($P<0.05$),而与乳杆菌的丰度呈显著正相关($P=0.015$)。值得一提的是,乳杆菌、拟杆菌和副拟杆菌在大鼠肠道菌群中的丰富度排序分别为第1、第7和第37位。这一发现表明,母乳源植物乳杆菌B发酵水牛奶主要通过影响妊娠大鼠优势肠道

菌群的相对含量，达到维持妊娠大鼠血压的作用。

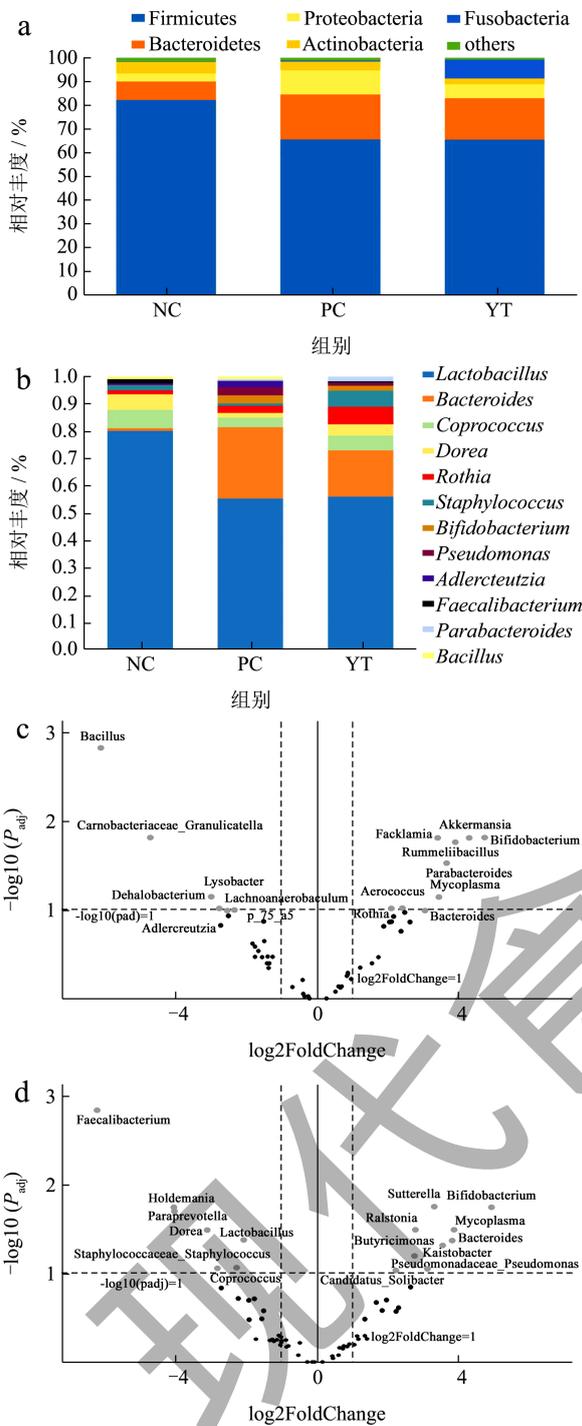


图2 妊娠大鼠不同处理后肠道菌群组成变化

Fig.2 Changes of intestinal flora in pregnant rats after different treatments

注：a 为不同处理组在门水平上的相对分布柱形图；b 为属水平上不同处理组差异菌相对分布柱形图；c 和 d 分别为 YT/NC (C) 和 PC/NC (D) 倍数变化火山图，横虚线以上的点表示有显著差异 ($\log_2\text{FoldChange}$ 绝对值大于 1 且 FDR 校正 $P < 0.1$) 菌属。NC 为模型对照组，PC 为拉贝洛尔组，YT 为发酵乳实验组。

表 2 优势肠道菌属 (相对丰度 $> 0.1\%$) 与血压的 spearman 相关系数

Table 2 Spearman correlation coefficient between intestinal bacteria (relative abundance $> 0.1\%$) and blood pressure

菌属	收缩压	舒张压
<i>Bacteroides</i>	-0.51	-0.70**
<i>Parabacteroides</i>	-0.59*	-0.82***
<i>Lactobacillus</i>	0.33	0.61*
<i>Pseudomonas</i>	-0.51	-0.56*

注: * $0.01 < P < 0.05$, ** $0.001 < P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

2.3 益生菌发酵乳对妊娠大鼠肠道菌功能的影响

肠道菌群能够通过调控自主神经系统内神经递质的合成、抑制宿主的炎症反应和促进肠道内短链脂肪酸的合成等多种机制参与宿主血压的调节^[35-37]。而益生菌发酵乳可通过调控肠道微生物群落结构及代谢水平，减少妊娠期糖尿病^[9]和自发性高血压大鼠的血压升高风险^[8]。本研究使用 PICRUST 进行肠道菌功能预测，获得了不同处理组肠道菌相关代谢途径，排名前 20 的代谢通路如图 3a 所示。叶酸 (Folate) 是人类生长发育所必需的一种营养物质，对人类的健康起着举足轻重的作用，有关研究发现，患有妊娠高血压疾病的孕妇普遍存在叶酸水平低的情况^[38]，黄婷婷等通过探究孕期微量元素及叶酸补充指导在预防妊高症及对妊娠结局的影响时发现，补充叶酸有利于对妊娠高血压疾病的预防，改善妊娠结局^[39]。鞘糖脂 (Glycosphingolipid) 属于糖脂类化合物，在真核细胞中是不可缺少的部分，有研究显示，鞘糖脂有利于对体内炎症的控制，从而维持体内平衡^[40]。本研究进行 Dunn test 差异分析发现，LPB 发酵乳可显著促进叶酸和鞘糖脂的生物合成途径 ($P < 0.05$, 图 3b、3c)，与 NC 组相比，YT 组的叶酸和鞘糖脂生物合成途径相对丰度分别由 0.43% 和 0.08% 增加到 0.51% 和 0.20%，提示 LPB 发酵乳能够通过调节肠道菌群的相对丰度而促进糖鞘脂和叶酸的生物合成，促进妊娠大鼠体内的平衡以及维持血压的稳定。

2.4 益生菌发酵乳对妊娠大鼠肠道 SCFAs 的影响

2.4.1 代谢轮廓分析

图 4a、4b 是三组妊娠大鼠肠道 SCFAs 代谢 PCA 分析和 OPLS-DA 分析得分图，可以看出 YT

组与NC组有明显的分离趋势,说明YT组与NC组的SCFAs代谢差异较大,且OPLS-DA法的 $R^2Y=0.86$, $Q^2=0.728$, R^2Y 和 Q^2 是用来衡量模型的区分效果,两者越接近1,说明区分效果越好。为了进一步验证模型的可靠性,实验室对模型进行置换检验(图4c),发现 $P<0.01$,证明模型没有过度拟合,得出的结论可靠。

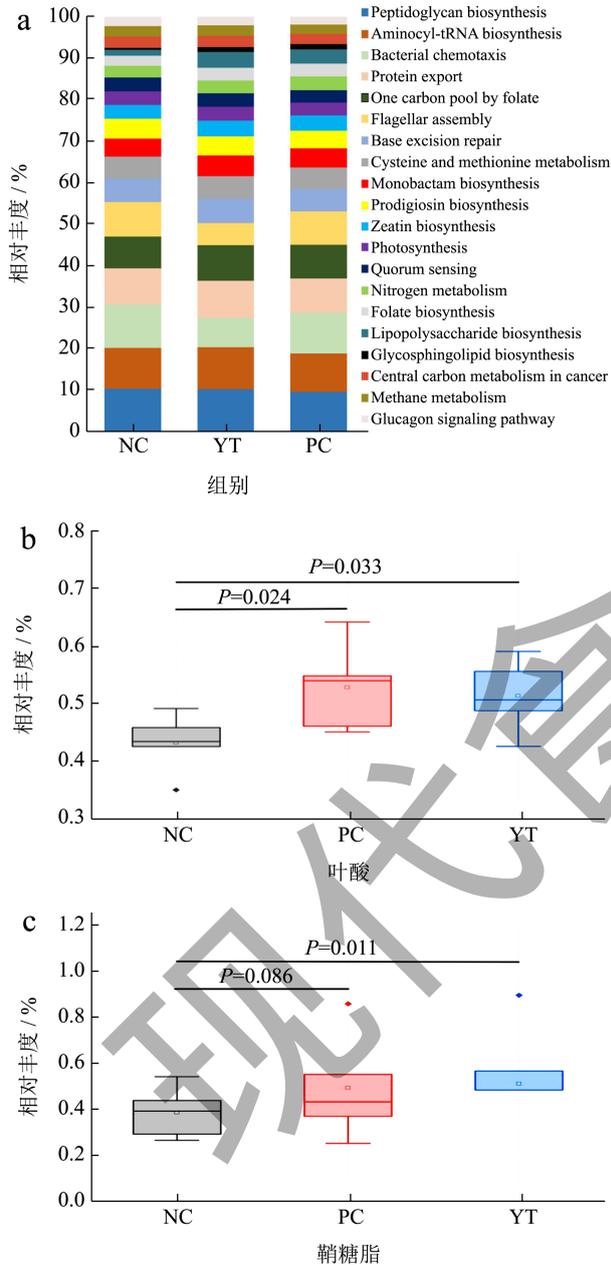


图3 妊娠大鼠不同处理后肠道微生物的功能预测
Fig.3 Functional prediction of gut microbiota in pregnant rats after different treatments

注: a为不同处理组PICRUSt预测的前20肠道菌代谢通路, b和c分别为不同处理组叶酸和鞘糖脂生物合成途径的Dunn test差异分析结果。

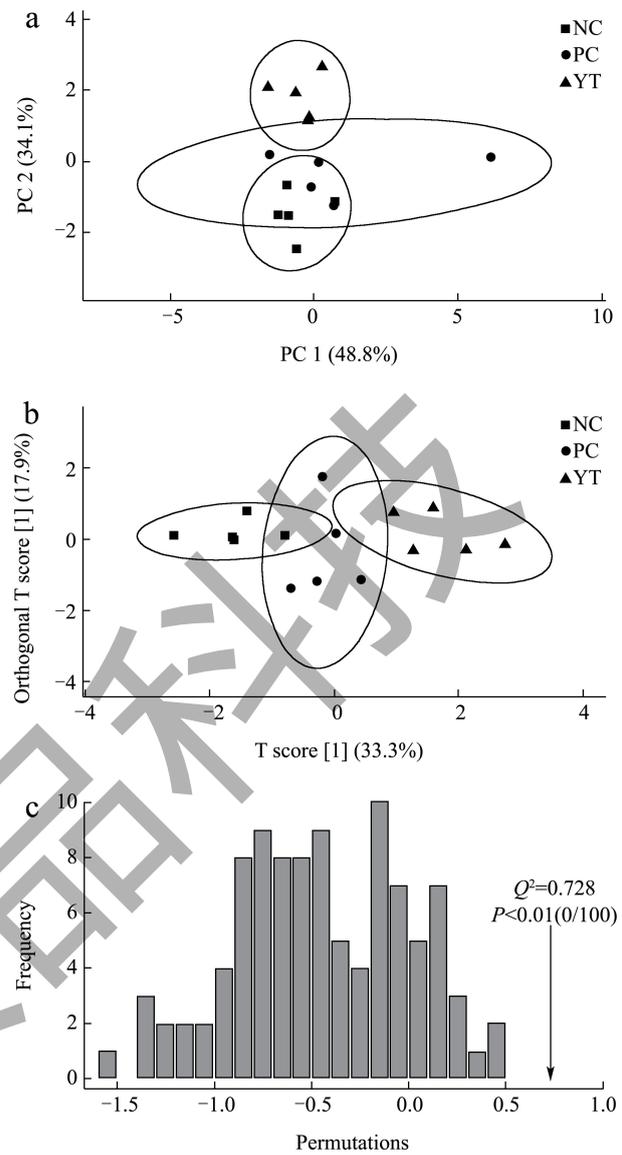


图4 妊娠大鼠不同处理后肠道SCFAs代谢轮廓分析图
Fig.4 Metabolic profile analysis of intestinal SCFAs in pregnant rats after different treatments

注: a为不同处理组肠道SCFAs代谢PCA图, b为不同处理组肠道SCFAs代谢OPLS-DA图(代谢模型参数: $R^2Y=0.86$, $Q^2=0.728$), c为不同处理组肠道SCFAs代谢OPLS-DA模型验证图。

2.4.2 差异SCFAs筛选与分析

以VIP值 >1 且 $P<0.05$ 为标准,筛选差异显著的SCFAs,结果为表3,共筛选出四种SCFAs,与NC组相比,YT组的乙酸($P=0.006$)和异戊酸($P=0.03$)均显著上调,丙酸($P=0.02$)和己酸($P=0.003$)均显著下调;而PC组则均表现为显著下调($P<0.05$)。乙酸作为人体结肠中含量最高的SCFAs,可由双歧杆菌和乳杆菌等肠道菌属产生,

参与胆固醇和脂肪酸的合成,并且可以对肠道pH值进行调节^[41]。也有研究显示乙酸有助于维持血压平衡,Marques等^[42]经过动物实验后发现,乙酸对大鼠血压的稳定起重要作用,并且可以减少心血管疾病和肾脏疾病的发生;而异戊酸作为一种不常见的SCFAs,在有关报道中已被认为是双歧杆菌定植的标志物^[41]。通过本实验的结果,推测LPB发酵乳摄入可能通过显著增加双歧杆菌的相对丰度,显著改善妊娠大鼠肠道中的SCFAs含量,从而有助于调节机体的血压水平^[37]。

表3 妊娠大鼠不同处理后肠道差异SCFAs及变化趋势

代谢物名称	英文名称	VIP值	P值	含量变化	
				YT vs NC	PC vs NC
乙酸	Acetic acid	1.25	0.006	上调	下调
丙酸	Propionic acid	1.29	0.02	下调	下调
己酸	Hexanoic acid	1.41	0.003	下调	下调
异戊酸	Isovaleric acid	1.03	0.03	上调	下调

3 结论

本实验发现LPB发酵乳可以显著降低由L-NAME诱导的妊娠大鼠高血压,对稳定妊娠期大鼠的血压具有积极作用,显著增加肠道菌群的多样性和双歧杆菌、拟杆菌、副拟杆菌等有益菌的丰度,促进叶酸和鞘糖脂的生物合成,并可以显著上调乙酸和异戊酸的含量,从而揭示LPB发酵乳可能通过恢复HDP大鼠的肠道菌群多样性和菌群结构,发挥稳定妊娠大鼠血压的作用。本文从饮食角度为管理妊娠健康提供新的思路,同时也为深入研究LPB发酵乳对妊娠高血压的降压作用和机制提供了一定基础研究数据。

参考文献

- [1] CUI M J, QI C, YANG L P, et al. A pregnancy complication-dependent change in SIgA-targeted microbiota during third trimester [J]. Food & Function, 2020, 11(2): 1513-1524.
- [2] DENG K, LIANG J, MU Y, et al. Preterm births in China between 2012 and 2018: an observational study of more than 9 million women [J]. The Lancet. Global Health, 2021, 9(9): e1226-e1241.
- [3] DORÉ J, SIMRÉN M, BUTTLE L, et al. Hot topics in gut

- microbiota [J]. United European Gastroenterology Journal, 2013, 1(5): 311-318.
- [4] 陈夏.肠道菌群失调介导的细菌移位在于痢前期发生中的作用及机制研究[D].广州:南方医科大学,2020.
- [5] 莫蕾,钟萍.孕早中期孕妇肠道菌群差异与子痫前期发病关系的研究[J].中国全科医学,2022,25(20):2489-2492.
- [6] RACHEL N C, GEORG K G, JESUS M L, et al. Diet dominates host genotype in shaping the murine gut microbiota [J]. Cell Host Microbe, 2015, 17(1): 72-84.
- [7] BASPINAR B, GÜLDAŞ M. Traditional plain yogurt: a therapeutic food for metabolic syndrome? [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 61(18): 1-15.
- [8] YUAN L, LI Y, CHEN M T, et al. Antihypertensive activity of milk fermented by lactiplantibacillus plantarum SR37-3 and SR61-2 in L-NAME-Induced hypertensive rats [J]. Foods, 2022, 11(15): 2332-2332.
- [9] HE A, CHIN J, LOMIGUEN C M. Benefits of probiotic yogurt consumption on maternal health and pregnancy outcomes: A systematic review [J]. Cureus, 2020, 12(7): e9408.
- [10] FEDERICO L, MÓNICA O, SALETA S, et al. Beneficial effects of probiotic bacteria isolated from breast milk [J]. British Journal of Nutrition, 2007, 98(S1): S96-S100.
- [11] URBANIAK C, MCMILLAN A, ANGELINI M, et al. Effect of chemotherapy on the microbiota and metabolome of human milk, a case report [J]. Microbiome, 2014, 2(1): 24.
- [12] MULRENIN I R, GARCIA J E, FASHE M M, et al. The impact of pregnancy on antihypertensive drug metabolism and pharmacokinetics: current status and future directions [J]. Expert Opinion on Drug Metabolism Toxicology, 2021, 17(11): 1261-1279.
- [13] 贺小龙,姜铁民,陈历俊,等.含母乳植物乳植杆菌水牛乳酸奶的ACE抑制肽分布研究[J].中国食品添加剂,2023, 34(2):35-42.
- [14] LIANG Y, JIANG T M, CHEN L J, et al. A buffalo yogurt fermented with commercial starter and Lactobacillus plantarum originated from breast milk and its lowering blood pressure to Pregnant hypertensive rats [J]. Journal of Dairy Science, 2023, 107(1): 62-73.
- [15] 陆敏,朱丹婴.盐酸拉贝洛尔片治疗子痫前期的疗效研究[J].中国药物滥用防治杂志,2022,28(10):1473-1477.
- [16] 赵阳阳,单莉莉,宋平平,等.环孢素A对子痫前期大鼠的保护作用及对NLRP3炎症小体的影响[J].解剖科学进展, 2020,26(5):509-513.
- [17] CAPORASO J G, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, et al. Qiime allows analysis of high-throughput community sequencing data [J]. Nature Methods, 2010, 7(5): 335-336.
- [18] HUANG C, WEI K C, LEE P M Y, et al. Maternal

- hypertensive disorder of pregnancy and mortality in offspring from birth to young adulthood: national population based cohort study [J]. *BMJ*, 2022, 379: e072157.
- [19] 中华医学会妇产科学分会妊娠期高血压疾病学组. 妊娠期高血压疾病诊治指南(2020)[J]. *中华妇产科杂志*, 2020, 55(4):227-238.
- [20] JAWORSKY K, EBERSOLE J L, PLANINIC P, et al. Associations of diet with cardiometabolic and inflammatory profiles in pregnant women at risk for metabolic complications [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2021, 18(21): 11105.
- [21] FERNÁNDEZ L, LANGA S, MARTÍN V, et al. The human milk microbiota: Origin and potential roles in health and disease [J]. *Pharmacological Research*, 2013, 69(1): 1-10.
- [22] LAURA A M, ANOUK P, MICHAEL H, et al. Diagnosis, evaluation, and management of the hypertensive disorders of pregnancy [J]. *Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health*, 2014, 4(2): 105-145.
- [23] LOZUPONE C A, STOMBAUGH J I, GORDON J I, et al. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota [J]. *Nature*, 2012, 489(7415): 220-30.
- [24] LIU H, HAN M Z, LI S C, et al. Resilience of human gut microbial communities for the long stay with multiple dietary shifts [J]. *Gut*, 2019, 68(12): 2254-2255.
- [25] WU J J, ZHANG D M, ZHAO M J, et al. Gut microbiota dysbiosis and increased NLRP3 levels in patients with pregnancy-induced hypertension [J]. *Current Microbiology*, 2023, 80(5): 168.
- [26] CHEN X, LI P, LIU M, et al. Gut dysbiosis induces the development of pre-eclampsia through bacterial translocation [J]. *Gut*, 2020, 69(3): 513-522.
- [27] GOMEZ-ARANGO L F, BARRETT H L, MCINTYRE H D, et al. Increased systolic and diastolic blood pressure is associated with altered gut microbiota composition and butyrate production in early pregnancy [J]. *Hypertension*, 2016, 68(4): 974-981.
- [28] CHANG Y L, CHEN Y Y, ZHOU Q, et al. Short-chain fatty acids accompanying changes in the gut microbiome contribute to the development of hypertension in patients with preeclampsia [J]. *Clinical Science*, 2020, 134(2): 289-302.
- [29] KOROPATKIN N M, CAMERON E A, MARTENS E C. How glycan metabolism shapes the human gut microbiota [J]. *Nature Reviews. Microbiology*, 2012, 10(5): 323-335.
- [30] YAN X F, JIN J J, SU X H, et al. Intestinal flora modulates blood pressure by regulating the synthesis of intestinal-derived corticosterone in high salt-induced hypertension [J]. *Circulation Research*, 2020, 126(7): 839-853.
- [31] YAN D, [62](https://scholar.cnki.net/home/search?sw=6&sw-input=Yan%20DongSI W H, ZHOU X Y, et al. Eucommia ulmoides bark extract reduces blood pressure and inflammation by regulating the gut microbiota and enriching the <i>Parabacteroides</i> strain in high-salt diet and N(omega)-nitro-L-arginine methyl ester induced mice [J]. <i>Frontiers in Microbiology</i>, 2022, 13: 967649.</p><p>[32] 何心,支娟. 妊娠高血压综合征的治疗及用药安全性的研究进展[J]. <i>中国当代医药</i>, 2022, 29(26):40-43,47.</p><p>[33] HONOUR J. The possible involvement of intestinal bacteria in steroidal hypertension [J]. <i>Endocrinology</i>, 1982, 110(1): 285-287.</p><p>[34] ADANA S, NELSON J W, AJAMI N J, et al. Alterations in the gut microbiota can elicit hypertension in rats [J]. <i>Physiological Genomics</i>, 2017, 49(2): 96-104.</p><p>[35] EL A S, DINAN T G, CRYAN J F. Immune modulation of the brain-gut-microbe axis [J]. <i>Frontiers in Microbiology</i>, 2014, 5: 146.</p><p>[36] CANI P D, AMAR J, IGLESIAS M A, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance [J]. <i>Diabetes</i>, 2007, 56(7): 1761-1772.</p><p>[37] MELL B, JALA V R, MATHEW A V, et al. Evidence for a link between gut microbiota and hypertension in the Dahl rat [J]. <i>Physiological Genomics</i>, 2015, 47(6): 187-197.</p><p>[38] 程坤,唐刚学,万雪超,等. 检测血清同型半胱氨酸、叶酸及维生素B12在妊娠期高血压疾病的临床意义[J]. <i>中国计划生育学杂志</i>, 2020, 28(8):1242-1246.</p><p>[39] 黄婷婷. 孕期微量元素及叶酸补充指导在预防妊高症及对妊娠结局的影响[J]. <i>心血管病防治知识</i>, 2023, 13(20): 19-21,24.</p><p>[40] FURUKAWA K, OHMI Y, KNODO Y, et al. Regulatory function of glycosphingolipids in the inflammation and degeneration [J]. <i>Archives of Biochemistry and Biophysics</i>, 2015, 57: 158-165.</p><p>[41] ZIETEK M, CELEWICZ Z, SZCZUKO M. Short-chain fatty acids, maternal microbiota and metabolism in pregnancy [J]. <i>Nutrients</i>, 2021, 13(4): 1244.</p><p>[42] MARQUES F Z, NELSON E, CHU P, et al. High-fiber diet and acetate supplementation change the gut microbiota and prevent the development of hypertension and heart failure in hypertensive mice [J]. <i>Circulation</i>, 2017, 135(10): 964-977.</p></div><div data-bbox=)