

益生菌复合制剂对头孢曲松钠作用小鼠的抗氧化指标、细胞因子及肠道菌群的影响

郭子晨, 刘倩, 王韵婷, 王涵, 赵江燕, 赵雅欣, 孙雅煊, 戴雪伶

Effects of Probiotic Compound Preparations on Antioxidant Indexes, Cytokines and Intestinal Flora in Mice Treated with Ceftriaxone Sodium

GUO Zichen, LIU Qian, WANG Yunting, WANG Han, ZHAO Jiangyan, ZHAO Yaxin, SUN Yaxuan, and DAI Xueling

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021110359>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

蔓菁对小鼠肠道菌群的影响

Effects of Turnip on Intestinal Flora of Mice

食品工业科技. 2018, 39(14): 287-291

富硒长双歧杆菌DD98菌株对伊立替康所致小鼠腹泻及肠道菌群的影响

Effect of Selenium-enriched *Bifidobacterium longum* DD98 on Diarrhea and Intestinal Microflora in Diarrhea Mice Induced by Irinotecan

食品工业科技. 2020, 41(6): 292-298

壳寡糖复合固体饮料对Ⅱ型糖尿病小鼠肠道菌群结构的影响

Effect of Chitooligosaccharide Compound Solid Beverage on Intestinal Flora of Type II Diabetic Mice

食品工业科技. 2020, 41(8): 301-306

野山杏果肉不溶性膳食纤维对小鼠肠道功能及肠道菌群的影响

Effects of Insoluble Dietary Fiber from Wild Apricot Flesh on Intestinal Function and Intestinal Flora of Mice

食品工业科技. 2020, 41(8): 307-310

副干酪乳杆菌K56调节肠道菌群及润肠通便功能研究

Improvement in Intestinal Flora Regulation and Laxative Function to *Lactobacillus paracasei* K56

食品工业科技. 2020, 41(20): 279-284

百合多糖的纯化及其对肠道菌群失调小鼠的调节作用

Purification of Lily Polysaccharide and Its Regulatory Effect on Intestinal Flora Dysregulation Mice

食品工业科技. 2020, 41(8): 295-300,306



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

郭子晨, 刘倩, 王韵婷, 等. 益生菌复合制剂对头孢曲松钠作用小鼠的抗氧化指标、细胞因子及肠道菌群的影响 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(15): 383–391. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021110359

GUO Zichen, LIU Qian, WANG Yunting, et al. Effects of Probiotic Compound Preparations on Antioxidant Indexes, Cytokines and Intestinal Flora in Mice Treated with Ceftriaxone Sodium[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(15): 383–391. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021110359

· 营养与保健 ·

益生菌复合制剂对头孢曲松钠作用小鼠的抗氧化指标、细胞因子及肠道菌群的影响

郭子晨¹, 刘倩¹, 王韵婷¹, 王涵¹, 赵江燕², 赵雅欣², 孙雅煊¹, 戴雪伶^{1,*}

(1. 北京联合大学生物化学工程学院, 北京 101500;

2. 北京联合大学应用文理学院保健食品检测中心, 北京 100191)

摘要:目的: 探究长双歧杆菌 BB536 和乳双歧杆菌 HN019 组成的益生菌复合制剂对头孢曲松钠引起的肠道菌群失调的改善效果。方法: 头孢曲松钠 (2 mg/g) 连续灌胃小鼠 5 d, 构建肠道菌群失调模型小鼠, 然后随机分为模型组, 益生菌复合制剂低剂量组 (2×10^5 CFU/g)、中剂量组 (4×10^5 CFU/g)、高剂量组 (1.2×10^6 CFU/g), 另设正常鼠为对照组, 第 6 d 起各剂量组灌胃相应剂量的益生菌复合制剂, 对照组和模型组灌胃等体积的生理盐水, 连续灌胃 30 d。灌胃结束后无菌收集小鼠粪便对肠道菌群计数, 并进行 16S rDNA 高通量测序分析菌群的多样性以及结构, 测定血清中白细胞介素 2 (Interleukin-2, IL-2)、白细胞介素 6 (Interleukin-6, IL-6)、白细胞介素 1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β) 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α) 水平, 测定空肠和肝脏中丙二醛 (Malondialdehyde, MDA)、总超氧化物歧化酶 (Total Superoxide Dismutase, T-SOD)、谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathione peroxidase, GSH-PX) 水平。结果: 给药头孢曲松钠后, 血清中 IL-2、IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平有上升趋势, 空肠中 MDA 水平显著上升 ($P < 0.05$) 且 T-SOD 水平显著下降 ($P < 0.05$), 在高剂量的益生菌复合制剂的干预下, IL-6 和 IL-1 β 水平显著降低 ($P < 0.05$), IL-2 和 TNF- α 水平极显著降低 ($P < 0.01$), 此外空肠和肝脏中的 MDA 水平均明显下降、T-SOD 水平显著提高 ($P < 0.05$), GSH-PX 水平极显著提高 ($P < 0.01$), 空肠中 GSH 水平极显著提高 ($P < 0.01$)。在肠道微生物方面, 抗生素造模后再灌胃益生菌复合制剂, 与灌胃益生菌复合制剂前相比小鼠粪便中肠球菌和肠杆菌数量降低, 乳杆菌和双歧杆菌数量提高, 微生物多样性分析结果表明各剂量组与模型组相比微生物丰富度有所恢复, 且中、高剂量组预测的肠道功能与对照组相比更为接近。结论: 益生菌复合制剂可以促进抗氧化物质产生, 降低细胞因子水平, 促进有益菌的繁殖, 提高肠道菌群的丰富度, 改善了由头孢曲松钠引起的肠道菌群失调状态。

关键词: 头孢曲松钠, 长双歧杆菌 BB536, 乳双歧杆菌 HN019, 益生菌复合制剂, 肠道菌群

中图分类号: TS201.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)15-0383-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021110359



本文网刊:

Effects of Probiotic Compound Preparations on Antioxidant Indexes, Cytokines and Intestinal Flora in Mice Treated with Ceftriaxone Sodium

GUO Zichen¹, LIU Qian¹, WANG Yunting¹, WANG Han¹, ZHAO Jiangyan²,
ZHAO Yaxin², SUN Yaxuan¹, DAI Xueling^{1,*}

(1. College of Biochemical Engineering of Beijing Union University, Beijing 101500, China;

2. Testing Center of Health Food Function Determination, College of Applied Arts and Science of Beijing Union University, Beijing 100191, China)

收稿日期: 2021-11-30

基金项目: 北京联合大学研究生科研创新资助项目 (YZ2020K001); 北京联合大学开放课题 (SWHX202103); 北京联合大学科研项目资助 (XP202007)。

作者简介: 郭子晨 (1996-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 生物活性物质功效研究, E-mail: 2907098010@qq.com。

* 通信作者: 戴雪伶 (1982-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 生物活性物质功效研究, E-mail: xueling@buu.edu.cn。

Abstract: Objective: To explore the effect of a probiotic compound preparation composed of *Bifidobacterium longum* BB536 and *Bifidobacterium lactis* HN019 on dysbiosis of murine gut microbiota induced by ceftriaxone sodium. Methods: Ceftriaxone sodium (2 mg/g) was given to mice for 5 days to construct intestinal flora dysbiosis model mice and then they were randomly divided into model group, low-dose (2×10^5 CFU/g), medium-dose (4×10^5 CFU/g) and high-dose (1.2×10^6 CFU/g) groups of probiotic compound preparations. In addition, normal mice were set as the control group. From the 6th day, each dose group was administered with the corresponding dose of probiotic compound preparation, the control group and model group were administered with equal volume of normal saline for 30 days. After the gavage, the mice feces were collected to count the intestinal flora and 16S rDNA high-throughput sequencing was performed to analyze the diversity and structure of the flora. The levels of IL-2, IL-6, IL-1 β and TNF- α in serum were measured. The contents of MDA, T-SOD, GSH and GSH-PX in the jejunum and liver were measured. Results: After administration of ceftriaxone sodium, the levels of IL-2, IL-6, IL-1 β and TNF- α in serum showed an upward trend, the level of MDA in the jejunum increased significantly ($P < 0.05$) and the level of T-SOD decreased significantly ($P < 0.05$). After the intervention of high-dose probiotic compound preparation, the levels of IL-6 and IL-1 β were significantly decreased ($P < 0.05$), the levels of IL-2 and TNF- α were significantly decreased ($P < 0.01$). In addition, the levels of MDA in the jejunum and liver were significantly decreased, the level of T-SOD was significantly increased ($P < 0.05$), the level of GSH-PX was significantly increased ($P < 0.01$) and the level of GSH in the jejunum was significantly increased ($P < 0.01$). In terms of intestinal microbes, the number of *Enterococci* and *Enterobacteria* in the feces decreased, while the number of *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* increased when the probiotic compound preparation was administered after antibiotic injury compared with that before the probiotic compound preparation was administered. The results of microbial diversity analysis showed that the microbial richness of each dose group was restored compared with the model group, and the predicted intestinal function of the middle-dose and high-dose groups was closer to that of the control group. Conclusion: The probiotic compound preparation can promote the production of antioxidants, reduce the level of cytokines, promote the reproduction of beneficial bacteria, increase the abundance of intestinal flora and improve the intestinal flora imbalance caused by ceftriaxone sodium.

Key words: ceftriaxone sodium; *Bifidobacterium longum* BB536; *Bifidobacterium lactis* HN019; probiotic compound preparation; intestinal flora

肠道是人体吸收营养、排出代谢废物的器官,对人体营养、代谢、免疫起着重要作用^[1]。在人类肠道中生活着约 500 种细菌,数量多达 100 亿。这些细菌构成了一个庞大复杂的微生态系统,与宿主共同维持着肠道微生态的稳定,保护着人体健康^[2-3]。正常情况下肠道菌群处于平衡状态,然而在服用抗生素等不利条件影响下,肠道微生态平衡被打破,有害菌大量繁殖,引发炎症性肠病^[4-6]。

益生菌是一类主要寄生于肠道中的有益活性微生物,通过改善宿主肠道微生态平衡来发挥作用,如调节肠道 pH、促进有益菌繁殖、促进肠道营养物质吸收等作用^[7]。长双歧杆菌 BB536(*Bifidobacterium longum* subsp. *longum* BB536)属于革兰氏阳性菌,由日本科学家从健康婴儿的肠道中分离得到,可以通过调节肠道菌群、改善肠道微环境、提高机体免疫,来促进人体健康^[8-10]。乳双歧杆菌 HN019(*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* HN019)是一种从酸奶中分离得到的革兰氏阳性菌,具有促进肠道蠕动、排便、调节免疫等功效,已被广泛应用于婴幼儿食品中^[11-14]。不同菌株效果各异,目前市场上的益生菌保健食品主要以多种益生菌组成的益生菌复合制剂为主^[15-16]。

抗生素主要用于治疗各种感染类疾病,若长期服用则会导致肠道菌群失调,导致功能紊乱,甚至还会对肝脏等器官造成损害。在医学领域,通过使用益

生菌来减轻抗生素带来的副作用已受到广泛关注,临床上常用的益生菌主要以各类双歧杆菌和乳杆菌为主,但如何根据不同症状选择合适的益生菌以及剂量问题还有待进一步研究^[17-18]。头孢曲松钠属于第三代头孢类抗生素,对革兰氏阳性菌以及革兰氏阴性菌均有一定的抑制作用。长双歧杆菌 BB536 与乳双歧杆菌 HN019 是两种对机体有益的菌株,适用于改善肠道健康,目前已被广泛使用,但关于该菌株在改善由抗生素造成的损害方面尚未报道,因此本研究通过灌胃小鼠头孢曲松钠建立肠道菌群失调模型小鼠,探究由长双歧杆菌 BB536 和乳双歧杆菌 HN019 组成的益生菌复合制剂对其的改善效果,以期益生菌复合制剂在保健食品中的开发应用提供更多数据支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

头孢曲松钠 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 益生菌混合粉(主要原料为长双歧杆菌 BB536 2.5×10^9 CFU/g、乳双歧杆菌 HN019 2.5×10^9 CFU/g)

汤臣倍健有限公司; EMB 琼脂培养基、肠球菌琼脂培养基、LBS 琼脂培养基、BBL 琼脂培养基 北京陆桥技术股份有限公司; IL-2、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 试剂盒 武汉华美生物工程有限公司; MDA、T-SOD、GSH、GSH-PX 试剂盒 南京建成生物科技有限公司; Qiagen Gel Extraction Kit 试剂盒 德国 Qiagen 公司; Gene JETTM Gel Extraction Kit 试剂盒 赛默

飞世尔科技有限公司; TruSeq® DNA PCR-Free 试剂盒 美国 Illumina 公司; 60 只 4 周龄 SPF 级 BALB/c 小鼠, 体重(20±2)g 购自北京华阜康生物科技股份有限公司, 许可证号: SCXK(京)2019-0008, 小鼠饲养环境温度(22±2)℃, 湿度 50%~60%, 每日光照和黑暗各 12 h。

GI54DW 高压灭菌锅 美国 Zealway 公司; 5425R 台式离心机 德国艾本德公司; DHG-9003 鼓风干燥箱 上海一恒科技有限公司; Large Direct-Pure EDI 纯水系统 上海乐枫生物科技股份有限公司; NU-9483E 超低温冰箱 美国 Nuaire 公司; MS3 漩涡混合器 德国 IKA 公司; V-1600 可见分光光度计 上海美普达仪器有限公司; HHW21.420D 恒温水箱 天津泰斯特仪器有限公司; Infinite M200 Pro 多功能酶标仪 上海安景科技有限公司; ZDP-9082 恒温培养箱 上海喆图科学仪器有限公司; Qubit@2.0 荧光仪 赛默飞世尔科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组与给药 60 只雄性 BALB/c 小鼠, 适应性饲养 7 d 后, 随机选取 48 只小鼠, 构造肠道菌群失调模型小鼠, 参照李贞贞等^[19]、蒋丰岭等^[20]和于海宁等^[21]的实验方法并加以改进: 连续灌胃 5 d 头孢曲松钠(2 mg/g), 之后随机分为模型组、低剂量组、中剂量组和高剂量组, 每组 12 只。益生菌复合制剂灌胃剂量依据临床人体用量进行计算, 成人益生菌粉的推荐剂量为 1 g/d, 参考《保健食品功能评价方法》, 以人体推荐剂量的 5、10、30 倍作为本实验的低、中、高剂量, 根据益生菌混合粉的活菌数计算出灌胃小鼠的低、中、高剂量分别为 2×10^5 CFU/g、 4×10^5 CFU/g、 1.2×10^6 CFU/g, 各剂量组中的 BB536 和 HN019 活菌数比值为 1:1。另设正常鼠为对照组, 对照组和模型组灌胃生理盐水, 各剂量组灌胃对应剂量的益生菌复合制剂 30 d, 每只 0.2 mL/d。每天测量小鼠体重和摄食情况并记录, 实验结束后所有小鼠摘眼球取血后脱颈处死, 解剖并取出心、肝、脾、肺、肾、胸腺, 计算脏器系数并保留空肠和肝脏。本实验方案由北京联合大学应用文理学院保健食品功能检测中心实验动物伦理委员会批准(伦理委员会意见书编号: 2021-04)。

$$\text{脏器系数}(\text{mg/g}) = \frac{\text{脏器重量}}{\text{小鼠体重}}$$

1.2.2 益生菌复合制剂对小鼠细胞因子的影响 小鼠血液置于 1.5 mL 离心管中, 4000 r/min 离心 10 min, 保留血清待测。血清中白介素 2(IL-2)、白介素 6(IL-6)、白介素 1β (IL- 1β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)均采用 ELISA 进行测定, 详细步骤严格按照 ELISA 试剂盒说明书进行。

1.2.3 益生菌复合制剂对小鼠抗氧化活性物质的影响 用匀浆器 12000 r/min 上下研磨制成组织匀浆,

肝脏和空肠中的超氧化物歧化酶(T-SOD)测定采用 1% 浓度进行测定, 丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)采用 10% 浓度进行测定, 后续步骤严格按照试剂盒说明书进行。

1.2.4 肠道菌群计数 在灌胃 5 d 头孢曲松钠后以及灌胃 30 d 益生菌复合制剂后, 无菌收集所有小鼠粪便数粒后, 加入稀释液充分振荡混匀, 依 10 倍系列稀释至 10^{-8} , 肠杆菌选择 EMB 琼脂培养基, 37℃ 培养 24 h; 肠球菌和乳杆菌分别选择肠球菌琼脂培养基和 LBS 琼脂培养基, 37℃ 培养 48 h; 双歧杆菌选择 BBL 琼脂培养基, 37℃ 厌氧培养 48 h, 培养结束后计算出每克湿便中的菌落数(Ig CFU/g)。

1.2.5 肠道菌群结构测序 灌胃 30 d 后, 每组选取 6 只, 无菌收集小鼠粪便进行 DNA 提取, 通过 PCR 技术对 16S rDNA V3-V4 区域扩增, 区域引物为: 5'-3'CCTAYGGGRBGCASCAG, 3'-5'GGACTACNNGGGTATCTAAT, 构建文库, 通过 Illumina NovaSeq 测序平台对该文库进行双末端测序, 对所得数据进行拼接、过滤后进行 OTUs 聚类 and 物种分类分析。

1.3 数据处理

试验数据通过 Excel 预处理后, 应用 SPSS 19.0 统计软件进行显著性分析, 摄食和体重采用单因素 ANOVA 分析, 肠道菌群计数采用独立样本 *t* 检验分析, 所有数据用均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, $P < 0.05$ 表示有显著差异, $P < 0.01$ 表示有极显著差异, $P > 0.05$ 表示无显著差异。

2 结果与分析

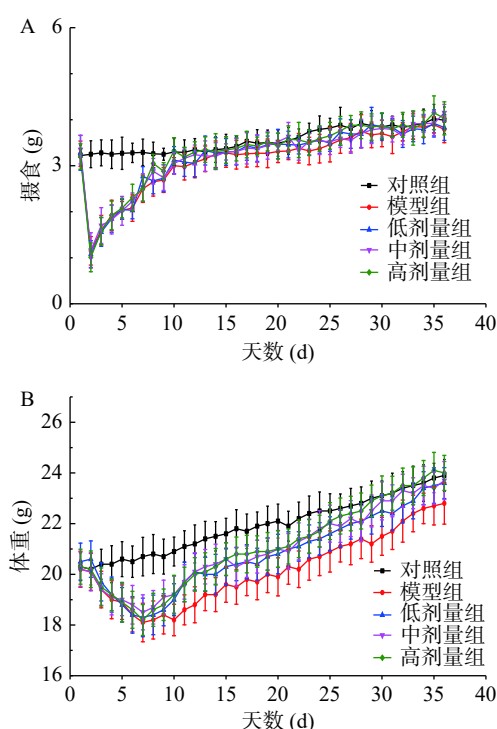


图1 益生菌制剂对小鼠摄食(A)和体重(B)的影响

Fig.1 Effect of probiotic preparation on food intake (A) and body weight (B) of mice

2.1 益生菌复合制剂对小鼠体重和摄食的影响

由图 1 可知,灌胃头孢曲松钠后,小鼠体重和摄食量呈下降趋势,表明头孢曲松钠对小鼠的体重和摄食有较大影响。模型组与其余四组相比,在整个实验过程中摄食和体重都处于较低水平,在灌胃不同剂量益生菌复合制剂后小鼠摄食和体重情况均有一定改善,并逐渐恢复至正常水平,其中高剂量组恢复效果较为明显,说明益生菌复合制剂改善了小鼠肠道紊乱状态,促进肠道健康。

2.2 益生菌复合制剂对小鼠脏器系数的影响

由表 1 可以,模型组以及各剂量组与对照组相比,全部脏器系数均无显著差异($P>0.05$),表明灌胃头孢曲松钠以及益生菌复合制剂对各脏器无影响。

表 1 小鼠各器官脏器系数(mg/g, $\bar{x}\pm s$, $n=12$)

Table 1 Coefficients of various organs in mice (mg/g, $\bar{x}\pm s$, $n=12$)

脏器系数	对照组	模型组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
心	5.74±0.77	6.07±0.67	5.93±0.93	6.25±0.95	5.53±0.63
肝	44.94±2.79	45.71±2.85	43.08±1.72	43.6±2.07	44.94±4.09
脾	3.21±0.44	3.32±0.53	3.53±0.98	3.24±0.30	3.3±0.30
肺	5.91±0.44	6.09±0.71	5.94±1.13	5.79±0.23	5.78±0.57
肾	15.08±1.22	15.55±0.92	14.42±1.12	15.08±0.72	14.90±0.92
胸腺	1.35±0.52	1.36±0.49	1.20±0.47	1.73±0.53	1.50±0.64

2.3 益生菌复合制剂对小鼠血清中细胞因子的影响

大量研究表明,部分益生菌除了可以调节肠道菌群平衡,促进肠道健康外,还有一定的抗炎能力^[22-23]。IL-2、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 是与肠道疾病关系密切的促炎细胞因子,是机体炎症反应中的重要炎症介质^[24-25]。由表 2 可知,模型组与对照组相比 IL-2 水平极显著提高($P<0.01$),IL-6 和 TNF- α 水平显著提高($P<0.05$)。灌胃益生菌复合制剂后,低剂量组与模型组相比,IL-2 水平显著降低($P<0.05$);中剂量组与模型组相比,IL-2、TNF- α 、IL-6 水平显著降低($P<0.05$);高剂量组与模型组相比,IL-6 和 IL-1 β 水平显著降低($P<0.05$),IL-2 水平和 TNF- α 水平极显著降低($P<0.01$)。上述结果表明,灌胃头孢曲松钠使 IL-2、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平提高,但在益生菌复合制剂的帮助下有所改善,说明益生菌复合制剂减轻了由抗生素引起的炎症,对缓解炎症有着重要帮助。

表 2 小鼠血清中各细胞因子的含量($\bar{x}\pm s$, $n=12$)

Table 2 The content of each cytokine in mouse serum ($\bar{x}\pm s$, $n=12$)

组别	IL-2(pg/mL)	IL-6(pg/mL)	IL-1 β (pg/mL)	TNF- α (pg/mL)
对照组	40.14±8.43	10.28±1.30	46.05±1.23	28.54±3.50
模型组	62.03±6.60 ^{##}	12.50±0.60 [#]	48.38±1.10	34.08±4.30 [#]
低剂量组	53.53±5.84 [*]	11.88±0.65	45.69±0.97	29.94±3.37
中剂量组	44.97±7.83 [*]	10.25±0.86 [*]	45.15±0.14	24.02±3.23 [*]
高剂量组	27.45±2.34 ^{**}	10.10±0.56 [*]	42.84±0.12 [*]	16.91±1.56 ^{**}

注:*,与模型组相比 $P<0.05$;**,与模型组相比 $P<0.01$;#,与对照组相比 $P<0.05$;##,与对照组相比 $P<0.01$;表 3 同。

2.4 益生菌复合制剂对小鼠肝脏抗氧化活性物质的影响

肠道和肝脏作为机体重要的代谢器官,除了参与各类化合物的分解和代谢外,在维持机体氧化还原平衡中起到重要作用^[26-27]。正常情况下,机体的氧化与还原能力处于稳态,当机体在受到外界刺激后,引发氧化应激,导致氧化损伤。空肠是机体消化物质和吸收营养的重要部位,其代谢水平与健康密切相关。MDA 是膜脂过氧化所形成的产物,具有一定的细胞毒性,会改变细胞膜的通透性。SOD 是一种广泛存在于生物体中的活性物质,在清除机体内的氧自由基方面具有重要作用。GSH 是一种由谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸组成的三肽化合物,是机体中最重要的抗氧化剂^[28]。GSH-Px 是机体抗氧化能力的指标之一,可以减轻过氧化物对机体的损伤,维持细胞膜的正常功能。

结果由表 3 可知,在空肠中,模型组与对照组相比,MDA 水平显著提高($P<0.05$),T-SOD 水平显著降低($P<0.05$);低剂量组与模型组相比,MDA 水平极显著降低($P<0.01$),GSH-Px 水平显著提高($P<0.05$);中剂量组和高剂量组与模型组相比,MDA 水平极显著降低($P<0.01$),GSH 水平显著提高($P<0.05$),GSH-Px 水平极显著提高($P<0.01$),并且高剂量组 T-SOD 水平与模型组相比也显著提高($P<0.05$)。在肝脏中,中剂量组和高剂量组与模型组相比,T-SOD 水平显著提高($P<0.05$),GSH-Px 水平显著提高($P<0.05$),并且高剂量组 MDA 水平与模型组相比还显著降低($P<0.05$)。此次实验表明,在头孢曲松钠的作用下,激发了机体氧化应激,使空肠和肝脏的抗氧化功能受到损害,在灌胃益生菌复合制剂后可以显著促进抗氧化物质的产生,并且呈现出一定的剂

表 3 小鼠空肠和肝脏中抗氧化指标

Table 3 Antioxidant indexes in the jejunum and liver of mice

指标	组别	空肠($n=6$)	肝脏($n=12$)
MDA(nmol/mg·prot)	对照组	0.89±0.20	1.80±0.41
	模型组	1.20±0.33 [#]	2.07±0.53
	低剂量组	0.80±0.31 ^{**}	1.53±0.15
	中剂量组	0.65±0.20 ^{**}	1.47±0.34
	高剂量组	0.64±0.069 ^{**}	1.38±0.16 [*]
T-SOD(U/mg·prot)	对照组	96.79±23.05	97.54±6.05
	模型组	67.80±26.81 [#]	96.31±4.04
	低剂量组	82.21±21.64	103.40±6.33
	中剂量组	91.24±21.17	105.04±3.26 [*]
GSH(mgGSH/mg·prot)	高剂量组	101.03±23.40 [*]	106.22±2.62 [*]
	对照组	22.81±6.07	2.99±0.86
	模型组	22.80±8.04	2.80±1.04
	低剂量组	32.10±12.46	2.41±0.86
GSH-Px(U/mg·prot)	中剂量组	36.94±4.54 [*]	2.67±0.90
	高剂量组	44.70±8.80 ^{**}	3.53±0.98
	对照组	29.61±8.75	18.85±7.16
	模型组	26.53±12.20	17.96±4.22
GSH-Px(U/mg·prot)	低剂量组	57.78±12.31 [*]	18.99±6.88
	中剂量组	62.28±3.94 ^{**}	21.85±8.23 [*]
	高剂量组	69.89±0.28 ^{**}	28.95±7.20 ^{**}

量依赖效应。此外,肝脏具有解毒作用,机体产生的毒素都是通过肝脏来进行清除,各剂量组与模型组相比,肝脏中的 MDA 水平呈下降趋势,说明益生菌复合制剂对肝脏具有一定的保护作用。

2.5 益生菌复合制剂对肠道菌群影响

肠道菌群计数结果显示(表 4),第 0 d(头孢曲松钠造模后,益生菌复合制剂灌胃前),模型组以及各剂量组与对照组相比,肠杆菌、肠球菌、乳杆菌和双歧杆菌数量均极显著降低($P<0.01$),表明通过灌胃头孢曲松钠成功构造小鼠肠道菌群失调模型。模型组第 30 d 与第 0 d 数据相比,肠杆菌和肠球菌数量极显著提高($P<0.01$),且高于同时期的对照组,乳杆菌和双歧杆菌数量极显著提高($P<0.01$),但仍低于同时期的对照组,说明小鼠自身具有一定的恢复能力,但在缺少益生菌复合制剂的帮助下无法恢复至正常水平。灌胃 30 d 益生菌复合制剂后,低剂量组与模型组相比,肠杆菌数量极显著降低($P<0.01$),肠球菌数量显著降低($P<0.05$);中剂量组与模型组相比,肠杆菌数量显著降低($P<0.05$);高剂量组与模型组相比,肠杆菌数量显著降低($P<0.05$),乳杆菌数量极显著提高($P<0.01$),双歧杆菌数量显著提高($P<0.05$)。此外,在各剂量组中,与灌胃前益生菌复合制剂自身相比,灌胃益生菌复合制剂后肠杆菌、肠球菌、乳杆菌和双歧杆菌数量均极显著提高($P<0.01$)。

表 4 第 0 d 和 30 d 粪便肠道菌群计数(lg CFU/g)

Table 4 Count of fecal intestinal flora at 0 d and 30 d (lg CFU/g)

组别	时间	肠杆菌	肠球菌	乳杆菌	双歧杆菌
对照组	0 d	5.51±0.64	5.56±0.59	8.33±0.37	8.60±0.43
	30 d	5.93±0.20 [#]	6.59±0.25 ^{##}	8.45±0.20	8.90±0.28
模型组	0 d	2.94±0.37 ^{ΔΔ}	3.18±0.61 ^{ΔΔ}	5.90±0.15 ^{ΔΔ}	5.69±0.13 ^{ΔΔ}
	30 d	7.25±0.35 ^{##}	7.09±0.57 ^{##}	7.90±0.56 ^{##}	8.86±0.45 ^{##}
低剂量组	0 d	3.06±0.93 ^{ΔΔ}	2.98±1.72 ^{ΔΔ}	6.00±0.98 ^{ΔΔ}	5.72±1.13 ^{ΔΔ}
	30 d	6.60±0.49 ^{##}	6.69±0.31 ^{##}	8.21±0.60 ^{##}	9.07±0.21 ^{##}
中剂量组	0 d	2.87±0.50 ^{ΔΔ}	3.15±0.70 ^{ΔΔ}	5.89±0.20 ^{ΔΔ}	5.77±0.16 ^{ΔΔ}
	30 d	6.93±0.38 ^{##}	6.79±0.32 ^{##}	8.30±0.63 ^{##}	8.92±0.27 ^{##}
高剂量组	0 d	3.16±0.45 ^{ΔΔ}	3.12±0.45 ^{ΔΔ}	6.00±0.16 ^{ΔΔ}	5.80±0.23 ^{ΔΔ}
	30 d	6.95±0.26 ^{##}	6.82±0.36 ^{##}	8.64±0.48 ^{##}	9.15±0.14 ^{##}

注:*,与第30 d模型组相比 $P<0.05$;**,与第30 d模型组相比 $P<0.01$;ΔΔ:与第0 d对照组相比 $P<0.01$;#:与第0 d自身相比 $P<0.05$;##:与第0 d自身相比 $P<0.01$ 。

肠道菌群计数结果显示,在灌胃 30 d 益生菌复合制剂后,各剂量组与模型组相比,肠杆菌和肠球菌数量均有不同程度降低,但仍高于对照组,乳杆菌和双歧杆菌数量均呈上升趋势,且与对照组相当,表明益生菌复合制剂对小鼠肠道菌群失调具有显著调节作用。肠球菌和肠杆菌广泛存在于机体肠道中,正常情况下与机体互利共生,不会对机体造成影响,然而当机体免疫力等条件下时,则会引起腹泻、肠炎等疾病^[29-30]。双歧杆菌和乳杆菌是人肠道菌群中重要成员,具有良好的抗炎和抗氧化活性,可以通过抑制有害菌的生长来改善肠道菌群以及调节代谢^[31-33]。上述结果显示,灌胃益生菌复合制剂后,抑制了肠杆菌

和肠球菌的生长,同时促进了乳杆菌和双歧杆菌的繁殖,说明益生菌复合制剂的抗炎和抗氧化功效可能与乳杆菌和双歧杆菌有关。

各组稀释曲线(图 2)结果显示,稀释曲线快速升高后逐渐趋于平坦,说明样本的测序数据量充足,可以准确反映样本的菌群特征。

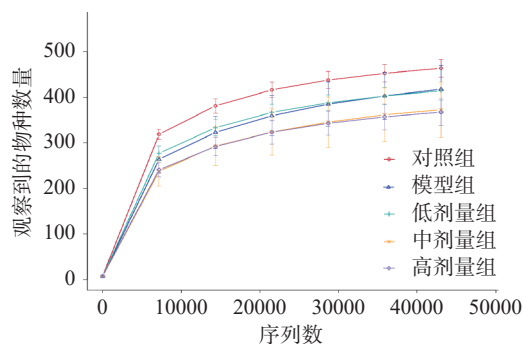


图 2 稀释曲线

Fig.2 Dilution curve

对各组微生物进行了研究,结果表明在门水平(图 3)各实验组主要优势菌包括拟杆菌门(Bacteroidota)和厚壁菌门(Firmicutes),与对照组相比,在抗生素造损的各组中疣微菌门(Verrucomicrobiota)丰度有所上升、unidentified_Bacteria 丰度有所下降。各剂量组与模型组相比疣微菌门(Verrucomicrobiota)丰度有所恢复。

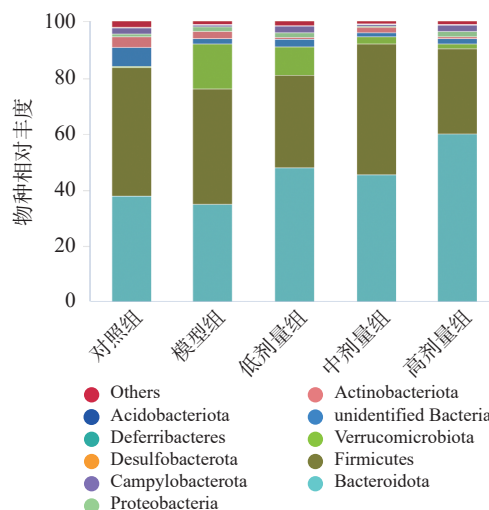


图 3 肠道菌群门水平丰富度

Fig.3 Abundance of intestinal flora at portal level

在属水平(图 4),各实验组主要优势群包括阿克曼菌属(Akkermansia)、葡萄球菌属(Staphylococcus)、乳酸杆菌属(Lactobacillus)、普雷沃氏菌属(Prevotellaceae_UCG_001)、毛螺旋菌(Lachnospiraceae_NK4A136_group)。对组间差异物种(图 5)进行分析,结果表明模型组与对照组相比,Aerococcus、Candidatus_Saccharimonas、理研菌属(Rikenella)显著降低($P<0.05$),阿克曼菌属(Akkermansia)显著升高($P<0.05$),毛螺旋菌(Lachnospiraceae_NK4A136_group)极显著降低($P<0.01$)。低剂量组与模型组相

比,副杆菌属(*Parabacteroides*)极显著提高($P<0.01$)。中剂量组与模型组相比,乳球菌属(*Lactococcus*)极显著提高($P<0.01$),双歧杆菌(*Bifidobacterium*)和鼠尾草菌(*Muribaculum*)显著提高($P<0.05$)。高剂量组与模型组相比,拟普雷沃菌属(*Alloprevotella*)显著提高($P<0.05$),副杆菌属(*Parabacteroides*)、普雷沃氏菌属(*Prevotellaceae_UCG_001*)极显著提高($P<0.01$),单球菌(*Monoglobus*)显著降低($P<0.05$)。

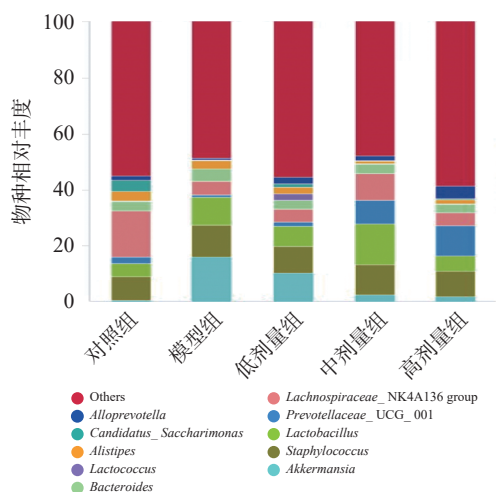


图4 肠道菌群属水平丰富度

Fig.4 Abundance of intestinal flora at genus level

Akkermansia 是对人体健康有益的益生菌,上述细胞因子测定结果已经证明头孢曲松钠引起了小鼠炎症反应,可能是炎症刺激了机体免疫应答,通过促进 *Akkermansia* 的大量繁殖来起到消炎和调节免疫的作用,由于益生菌复合制剂的作用,小鼠的炎症逐渐消失, *Akkermansia* 的数量也随之下降,但这一结论还有待进一步验证。*Parabacteroides* 是寄生在人体肠道的革兰氏阴性厌氧菌,是新型抗代谢综合症益

生菌,已有研究表明 *Parabacteroides* 可以通过降低小鼠血清中 IL-6 水平并通过降低结肠中促炎基因 *Il1b*、*Il6*、*Tnfa*、*Cxcl2* 的表达来减轻机体炎症^[34]。FABERSANI 等^[35] 研究发现,在给予小鼠乳球菌后,小鼠血液中葡萄糖、胆固醇、甘油三脂、TNF- α 和 IL-6 水平降低,IL-10 水平提高,说明乳球菌在改善肥胖和抑制炎症方面有一定作用。此外, TIAN 等^[36] 研究发现,在膳食纤维的作用下,人体肠道中 *Parabacteroides* 和 *Alloprevotella* 的数量明显提高,表明 *Alloprevotella* 是一种潜在的益生菌,但其作用机理还有待进一步研究。分析结果显示,与对照组相比,灌胃益生菌复合制剂后,肠道中的 *Parabacteroides*、*Lactococcus* 和 *Alloprevotella* 的数量较多,与已有认知相符,猜测益生菌复合制剂可能是通过促进小鼠肠道中的 *Parabacteroides*、*Lactococcus* 和 *Alloprevotella* 的繁殖来起到减轻炎症的作用。*Bifidobacterium* 是一株具有抗氧化功效的优良菌株,可以增加胸腺和脾脏中 T-SOD 和 GSH-PX 水平以及清除 MDA^[37],从属水平组间差异物种分析可以看出,中剂量组的 *Bifidobacterium* 要高于对照组和模型组,这与肠道菌群计数结果一致,此外 *Bifidobacterium* 还具有清热解毒作用,前文抗氧化实验已经证实益生菌复合制剂可以提高肝脏的 T-SOD、GSH、GSH-PX 水平并清除 MDA,显示出一定的抗氧化能力,结合上述实验结论可知,长期服用益生菌复合制剂可以提高小鼠肠道中 *Bifidobacterium* 的数量,进而起到抗氧化和清除有害物质的作用。

Shannon 和 Simpson 指数是肠道菌群丰富度的重要指标,由图 6 可知,模型组与对照组相比, Shannon 和 Simpson 指数显著降低($P<0.05$),各剂量组与模型组相比, Shannon 和 Simpson 指数升高,但无

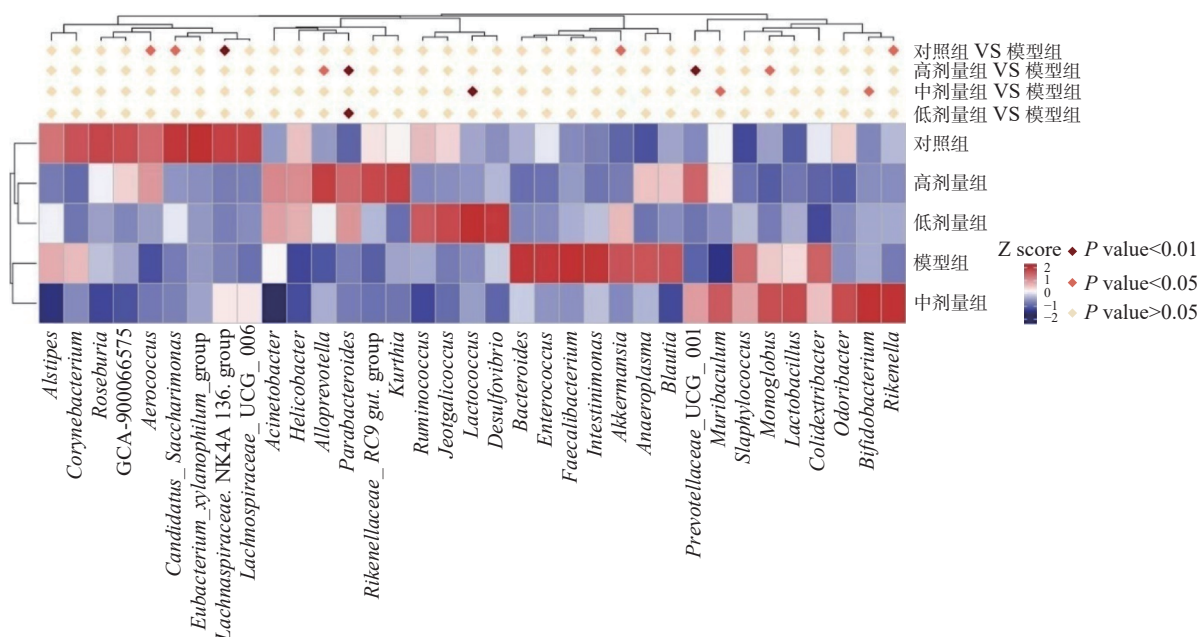


图5 肠道菌群属水平组间样本分析

Fig.5 Analysis of samples between groups of intestinal flora at genus level

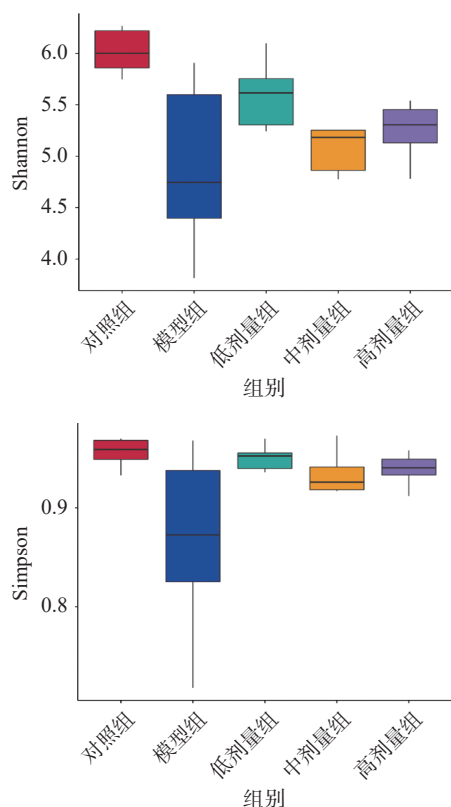


图 6 肠道菌群 Shannon 指数和 Simpson 指数

Fig.6 Shannon index and Simpson index of intestinal flora

显著差异($P>0.05$),说明灌胃头孢曲松钠引起了小鼠肠道菌群紊乱、肠道微生态平衡被打破降低了小鼠肠道菌群的丰富度,而益生菌复合制剂均可在一定程度上提高肠道菌群的丰富度。

在 level2 水平上,如图 7 所示,共获得 35 个功

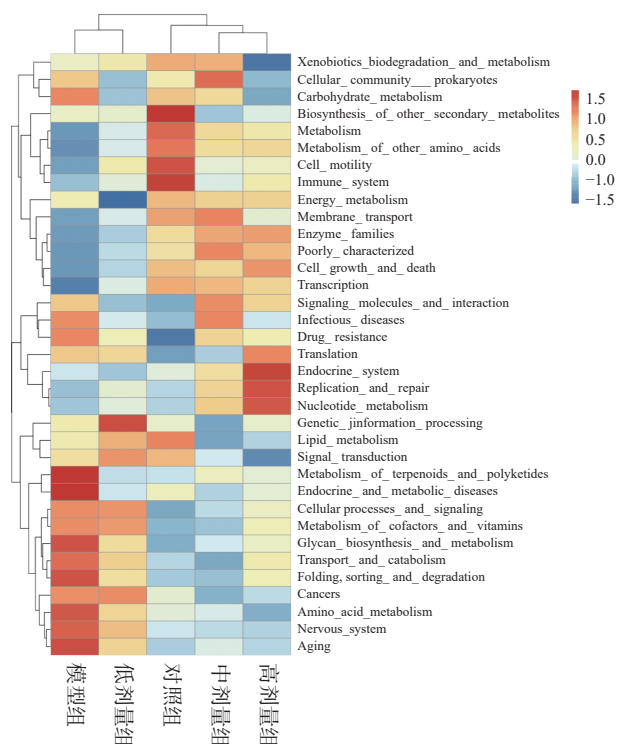


图 7 功能预测分析热图

Fig.7 Heat map of function prediction analysis

能丰度。模型组与低剂量组功能类似,其它次级生代谢物的生物合成(Biosynthesis_of_other_secondary_metabolites)、代谢(Metabolism)、辅助因子和维生素代谢(Metabolism_of_cofactors_and_vitamins)、细胞运动(Cell motility)、免疫系统(Immune_system)、能量代谢(Energy_metabolism)、脂质代谢(Lipid_metabolism)基因丰度较低,癌症(Cancers)、神经系统(Nervous_system)、老化(Aging)基因丰度较高。对照组与中、高剂量组功能类似,主要有:能量代谢(Energy_metabolism)、膜转运(Membrane_transport)、酶(Enzyme_families)、细胞生长和凋亡(Cell_growth_and_death)、转录(Transcription)、细胞分子和相互作用(Signaling_molecules_and_interaction)、内分泌系统(Endocrine_system)、复制和修复(Replication_and_repair)、核苷酸代谢(Nucleotide_metabolism)。益生菌除了可以改善肠道微生态环境,对提高机体免疫和促进内分泌也有一定的帮助。由功能预测结果可知,中高剂量组在免疫、能量代谢和内分泌方面的基因丰度较高,说明益生菌复合制剂对小鼠肠道微生物的功能具有一定调节作用,对机体代谢和免疫具有潜在功效。

3 结论

近年来,随着头孢等药物在临床上的应用越广泛,抗生素滥用问题引起人们担忧,如何减轻抗生素带来的副作用已成为当下需要解决的问题。益生菌是临床上常用的微生态活菌制剂,大量研究证实可以有效缓解由抗生素引发的不良反应。本研究首先利用头孢曲松钠构建了肠道菌群紊乱模型小鼠,在连续给药 5 d 后,小鼠除了肠道中有害菌大量增加导致肠道菌群失调外,IL-2、IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平上升,表明机体出现了炎症,同时抗氧化能力也受到一定损害。然后,将由长双歧杆菌 BB536 和乳双歧杆菌 HN019 组成的益生菌复合制剂对小鼠进行 30 d 的灌胃,IL-2、IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 均呈下降趋势,并呈现出一定的剂量依赖性。在高剂量的益生菌复合制剂的帮助下,抗氧化能力有所恢复,空肠和肝脏中 MDA 水平大幅降低, T-SOD、GSH、GSH-PX 水平均有不同程度提高,其中 GSH-PX 最为明显,显示出一定的护肝作用。肠道微生物方面,灌胃益生菌复合制剂在一定程度上提高了肠道菌群的丰富度,主要体现在对肠杆菌和肠球菌的抑制和促进乳杆菌、双歧杆菌、*Parabacteroides*、*Lactococcus* 以及 *Alloprevotella* 的繁殖,并推测这些有益菌可能与机体抗炎和抗氧化作用有关。关于 BB536 和 HN019 在调节肠道菌群、抗炎和抗氧化方面已经有大量研究,其结果与本次实验结果大致相同,但这两种益生菌在减轻抗生素副作用方面少有报道,通过本实验结果可知,由 BB536 和 HN019 组成的益生菌复合制剂改善了小鼠由于头孢曲松钠引起的肠道菌群失调状态,并在一定程度上恢复了抗炎和抗氧化能力,说明 BB536 和

HN019组成的益生菌复合制剂可以有效缓解抗生素带来的副作用,此外16S rDNA高通量测序的功能预测结果显示,这两种益生菌在提高免疫、促进代谢以及促进细胞生长方面可能会有一定的有益效果,这一发现为后续的实验研究提供了思路。

参考文献

- [1] 朱莹莹,李春保,周光宏.饮食、肠道微生物与健康的关系研究进展[J].食品科学,2015,36(15):234-239. [ZHU Y Y, LI C B, ZHOU G H. Research progress on the relationship between diet, intestinal microflora and health[J]. Food Science, 2015, 36(15): 234-239.]
- [2] SIGAL L, ERAN S. Identifying gut microbes that affect human health[J]. Nature, 2020, 587(7834): 373-374.
- [3] 何兰,宋文婷,段作文,等.微生物代谢产物影响肠道微生态系统的研究进展[J].食品工业科技,2021,41(6):360-365. [HE L, SONG W T, DUAN Z W, et al. Research progress on the effects of microbial metabolism products on intestinal microecosystem[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 41(6): 360-365.]
- [4] IANIRO G, TILG H, GASBARRINI A. Antibiotics as deep modulators of gut microbiota: Between good and evil[J]. Gut, 2016, 65(11): 1906-1915.
- [5] LANGE K, BUERGER M, STALLMACH A, et al. Effects of antibiotics on gut microbiota[J]. Digestive Diseases, 2016, 34(3): 260-268.
- [6] HAO W Z, LI X J, ZHANG P W, et al. A review of antibiotics, depression, and the gut microbiome[J]. Psychiatry Research, 2020, 284: 112691.
- [7] 赵彦位,路江浩,鄢梦洁,等.益生菌对生态系统的改善作用及其应用研究进展[J].食品工业科技,2021,42(4):369-379. [ZHAO Y W, LU J H, YAN M J, et al. Research progress of probiotics on improving microecosystem and its application[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(4): 369-379.]
- [8] WONG C B, ODAMAKI T, XIAO J Z. Beneficial effects of *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* BB536 on human health: Modulation of gut microbiome as the principal action[J]. Journal of Functional Foods, 2019, 54: 506-519.
- [9] LAU A S Y, YANAGISAWA N, HOR Y Y, et al. *Bifidobacterium longum* BB536 alleviated upper respiratory illnesses and modulated gut microbiota profiles in Malaysian pre-school children[J]. Beneficial Microbes, 2018, 9(1): 61-70.
- [10] TOSCANO M, DE G R, STRONATI L, et al. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* HN001 and *Bifidobacterium longum* BB536 on the healthy gut microbiota composition at phyla and species level: A preliminary study[J]. World Journal of Gastroenterology, 2017, 23(15): 2696-2704.
- [11] 堵雅芳,石羽杰,刘彪,等.乳双歧杆菌 HN019 与健康[J].卫生与预防,2019,48(5):850-852. [DU Y F, SHI Y J, LIU B, et al. *Bifidobacterium lactis* HN019 and health[J]. Health and Research, 2019, 48(5): 850-852.]
- [12] BERNINI L J, SIMAO A N C, SOUZA C H B, et al. Effect of *Bifidobacterium lactis* HN019 on inflammatory markers and oxidative stress in subjects with and without the metabolic syndrome[J]. The British Journal Nutrition, 2018, 120(6): 645-652.
- [13] DALEIEL J E, ANDERSSON R C, PETERS J S, et al. Pro-motility action of the probiotic *Bifidobacterium lactis* HN019 extract compared with prucalopride in isolated rat large intestine[J]. Frontiers in Neuroscience, 2017, 11: 20.
- [14] IBARRA A, LATREILLE-BARBIER M, DONAZZOLO Y, et al. Effects of 28-day *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* HN019 supplementation on colonic transit time and gastrointestinal symptoms in adults with functional constipation: A double-blind, randomized, placebo-controlled, and dose-ranging trial[J]. Gut Microbes, 2018, 9(3): 236-251.
- [15] BONFRATE L, DI PALO D M, CELANO G, et al. Effects of *Bifidobacterium longum* BB536 and *Lactobacillus rhamnosus* HN001 in IBS patients[J]. European Journal of Clinical Investigation, 2020, 50(3): e13201.
- [16] 毛永承,崔树茂,潘明罗,等.复合益生菌制剂对人体肠道菌群组成的调节作用[J].现代食品科技,2021,37(11):107-113. [MAO B Y, CUI S M, PAN M L, et al. The regulatory effect of compound probiotic preparations on the composition of human intestinal flora[J]. Modern Food Technology, 2021, 37(11): 107-113.]
- [17] YAO G Q, CAO C X, ZHANG M, et al. *Lactobacillus casei* Zhang exerts probiotic effects to antibiotic-treated rats[J]. Computational and Structural Biotechnology Journal, 2021, 19: 5888-5897.
- [18] ZHONG H, WANG X G, WANG J, et al. Impact of probiotics supplement on the gut microbiota in neonates with antibiotic exposure: An open-label single-center randomized parallel controlled study[J]. World Journal of Pediatrics: WJP, 2021, 17(4): 385-393.
- [19] 李贞贞,刘银辉,高树志,等.长短链菊粉对抗生素诱导肠道菌群紊乱小鼠调节作用的研究[J].中国微生态学杂志,2015,27(12):1365-1369. [LI Z Z, LIU Y H, GAO S Z, et al. Regulatory effects of long-and short-chain inulins on antibiotic-induced intestinal dysbiosis in mice[J]. Chinese Journal of Microecology, 2015, 27(12): 1365-1369.]
- [20] 蒋丰岭,郭佳汶,程如越,等.益生菌益生元复合制剂对头孢曲松引起的肠道菌群及免疫异常改善效果的研究[J].中国抗生素杂志,2021,46(9):884-890. [JIANG F L, GUO J W, CHENG R Y, et al. Alleviating effects of probiotic and prebiotics preparation against abnormal intestinal microbiota and immune abnormality by ceftriaxone[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2021, 46(9): 884-890.]
- [21] 于海宁,李冉,黄海勇,等.头孢曲松钠对小鼠肠道菌群组成及代谢的影响[J].浙江工业大学学报,2018,46(6):687-691. [YU H N, LI R, HUANG H Y, et al. Effects of ceftriaxone sodium on intestinal microbiota communities and metabolism in mice[J]. Journal of Zhejiang University of Technology, 2018, 46(6): 687-691.]
- [22] LEE C S, KIM S H. Anti-inflammatory and anti-osteoporotic potential of *Lactobacillus plantarum* A41 and *L. fermentum* SRK414 as probiotics[J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2020, 12(2): 623-634.
- [23] PUJO J, PETITFILS C, LE F P, et al. Bacteria-derived long chain fatty acid exhibits anti-inflammatory properties in colitis[J]. Gut, 2021, 70(6): 1088-1097.

- [24] CHOI J H, MOON C M, SHIN T, et al. *Lactobacillus paracasei*-derived extracellular vesicles attenuate the intestinal inflammatory response by augmenting the endoplasmic reticulum stress pathway[J]. *Experimental Molecular Medicine*, 2020, 52(3): 423–437.
- [25] HA J, OH H, OH N S, et al. Anti-inflammatory effect of a peptide derived from the synbiotics, fermented *Cudrania tricuspidata* with *Lactobacillus gasseri*, on inflammatory bowel disease[J]. *Mediators of Inflammation*, 2020, 2020: 3572809.
- [26] MATYAS C, HASKO G, LIAUDET L, et al. Interplay of cardiovascular mediators, oxidative stress and inflammation in liver disease and its complications[J]. *Nature Reviews. Cardiology*, 2021, 18(2): 117–135.
- [27] PAONE P, CANI P D. Mucus barrier, mucins and gut microbiota: The expected slimy partners?[J]. *Gut*, 2020, 69(12): 2232–2243.
- [28] LIU T, SUN L, ZHANG Y B, et al. Imbalanced GSH/ROS and sequential cell death[J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2021, 36(1): e22942–e22942.
- [29] DENAMUR E, CLERMONT O, BONACORSI S, et al. The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*[J]. *Nature Reviews. Microbiology*, 2021, 19(1): 37–54.
- [30] GARCIA-SOLACHE M, RICE L B. The *Enterococcus*: A model of adaptability to its environment[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2019, 32(2): e00058.
- [31] HAN S K, KIM J K, JOO M K, et al. *Lactobacillus reuteri* NK33 and *Bifidobacterium adolescentis* NK98 alleviate *Escherichia coli*-induced depression and gut dysbiosis in mice[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2020, 30(8): 1222–1226.
- [32] FONTANA L, PLAZA-DIAZ J, ROBLES-BOLIVAR P, et al. *Bifidobacterium breve* CNCM I-4035, *Lactobacillus paracasei* CNCM I-4034 and *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I-4036 modulate macrophage gene expression and ameliorate damage markers in the liver of Zucker-Lepr fa/fa rats[J]. *Nutrients*, 2021, 13(1): 202.
- [33] OH N S, JOUNG J Y, LEE J Y, et al. Probiotic and anti-inflammatory potential of *Lactobacillus rhamnosus* 4B15 and *Lactobacillus gasseri* 4M13 isolated from infant feces[J]. *PLoS One*, 2018, 13(2): e0192021.
- [34] CUFFARO B, ASSOHOUN A L W, BOUTILLIER D, et al. *In vitro* characterization of gut microbiota-derived commensal strains: Selection of parabacteroides distasonis strains alleviating TNBS-induced colitis in mice[J]. *Cells*, 2020, 9(9): 2104.
- [35] FABERSANI E, MARQUEZ A, RUSSO M, et al. Lactic acid bacteria strains differently modulate gut microbiota and metabolic and immunological parameters in high-fat diet-fed mice[J]. *Front Nutr*, 2021, 8: 718564.
- [36] TIAN T, ZHANG X B, LUO T, et al. Effects of short-term dietary fiber intervention on gut microbiota in young healthy people[J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2021, 14: 3507–3516.
- [37] FU Y R, YI Z J, PEI J L, et al. Effects of *Bifidobacterium bifidum* on adaptive immune senescence in aging mice[J]. *Microbiol Immunol*, 2010, 54(10): 578–583.