DOI:10.12441/spyswjs.20221229004 [文章编号] 1673-1689(2024)07-0022-13

动物双歧杆菌乳亚种对便秘的改善研究

杨夕缘 杨 波* 赵建新 张 灏 陈 卫

(江南大学食品学院,江苏 无锡 214122)

摘要:便秘是常见胃肠道疾病,部分动物双歧杆菌乳亚种(*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *B. lactis*)已被证明对便秘有改善作用,但效果存在差异。为研究不同动物双歧杆菌乳亚种菌株对便秘的缓解效果,建立便秘动物模型,通过3株动物双歧杆菌乳亚种菌株的干预试验,测定便秘相关指标、肠道菌群及其代谢产物水平,探究各菌株缓解便秘的作用及机制。结果表明,CCFM1278和BB12干预显著改善便秘小鼠排便质量、排便粒数、粪便含水质量分数、首粒黑便时间和小肠推进率,而FJSSZ6M5的干预效果不显著。CCFM1278干预调节便秘小鼠肠道菌群中*Akkermansia*、*Ruminiclostridium* 6、*Ruminococcus* 1和*Alloprevotella*相对丰度,改善短链脂肪酸和脱氧胆酸水平,促进胃泌素、生长抑素分泌,抑制水通道蛋白3和水通道蛋白8的基因转录水平的表达。综上,动物双歧杆菌乳亚种CCFM1278具有缓解便秘的潜力,可将为便秘患者的治疗提供新方向。

关键词:便秘;动物双歧杆菌乳亚种;肠道菌群;短链脂肪酸;脱氧胆酸;胃肠调节肽;水通道蛋白

Exploration of the Effect of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* on Improving Constipation

YANG Xiyuan YANG Bo ZHAO Jianxin ZHANG Hao CHEN Wei*

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Constipation is a common gastrointestinal disorder. Some *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* has been shown to have an ameliorative effect on constipation, but there is variation in their effectiveness. In order to investigate the effect of different *B. lactis* strains on constipation, an animal model of constipation was established, and the constipation-related indexes, gut microbiota and their metabolite levels were determined through the intervention experiments of three *B. lactis* strains, to investigate the effects of constipation alleviation of the strains and their mechanisms. The results showed that CCFM1278 and BB12 significantly improved the weight of defecation, number of fecal pellets, fecal water content, time to first black stool, and small intestinal propulsion rate in constipated mice, while the effect of FJSSZ6M5 was not significant. *B. lactis* CCFM1278 modulated the relative abundance of *Akkermansia*, *Ruminiclostridium* 6, *Ruminococcus* 1 and *Alloprevotella* in the gut microbiota of constipated mice, improved the abnormal levels of short-chain fatty acids and deoxycholic acid, significantly improved the secretion of gastrin and somatostatin and inhibited the expression of aquaporin 3 and aquaporin 8. In conclusion, *B. lactis* CCFM1278 has the potential to relieve constipation. This study provides a new direction for the treatment of patients with constipation.

Keywords: constipation; *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*; gut microbiota; short-chain fatty acids; deoxycholic acid; gastrointestinal regulatory peptides; aquaporins

---

基金项目:国家自然科学基金创新研究群体项目(32021005)。

通信作者:杨波(1985—),男,博士,研究员,博士研究生导师,主要从事食品微生物研究。E-mail:bo.yang@jiangnan.edu.cn

收稿日期:2022-12-29 **改回日期:**2023-03-02

便秘是常见胃肠道疾病，在临床上参照罗马Ⅳ诊断标准，以排便困难、大便干硬、排便不尽、排便次数少、排便时肛门直肠具有堵塞感、需要手法辅助排便为主要特征[1]。目前世界约36%的老年人患此病，儿童和青少年也有便秘的风险[2]。对于这种发病率高、发生范围广的疾病，其预防和治疗仍需重点关注。近年来，益生菌治疗逐渐成为便秘治疗的重要方式[3-7]。大量研究表明，益生菌改善便秘的效果和作用途径各不相同。动物双歧杆菌乳亚种MN-Gup可以显著缩短便秘小鼠首粒黑便时间，增加粪便湿质量、粪便质量和胃肠道转运率，从而改善便秘[8]。轻度慢性便秘患者在补充动物双歧杆菌乳亚种NCC2818后，粪便质量、便秘症状和生活质量没有明显改善[9]。一项纳入14项随机对照试验的荟萃分析，研究了益生菌对成年便秘患者便秘症状的影响[10]。结果显示，益生菌可改善整体肠道转运时间、排便频率和粪便状态，基于物种亚组分析显示动物双歧杆菌乳亚种有更为明显的改善效果。益生菌主要通过促进肠道运动以及调节粪便含水质量分数改善便秘。肠道环境、免疫系统、神经系统与肠道运动紧密相关[11-12]，通过抑制水通道蛋白（aquaporin，AQP）表达抑制水的重吸收是增加粪便含水质量分数的重要途径[13-15]。

作者探究了3株动物双歧杆菌乳亚种菌株对小鼠功能性便秘的改善作用。研究主要目的：（1）探究不同动物双歧杆菌乳亚种对盐酸洛哌丁胺诱导的便秘模型小鼠改善效果的差异；（2）研究不同动物双歧杆菌乳亚种促进便秘模型小鼠肠道运动的作用途径，包括对胃肠调节肽、肠道菌群及其代谢产物的影响；（3）探究不同动物双歧杆菌乳亚种增加粪便含水质量分数的作用途径，如对AQP等的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 *材料与实验动物* 动物双歧杆菌乳亚种CCFM1278：分离自安徽省芜湖市健康老人粪便，保存于江南大学食品生物技术中心菌种库；动物双歧杆菌乳亚种FJSSZ6M5：分离自江苏省昆山市婴儿粪便，保存于江南大学食品生物技术中心菌种库；BB12：丹麦Chr. Hansen公司；6周龄雄性BALB/c小鼠：北京维通利华实验动物技术有限公司。动物饲养于江南大学实验动物中心，许可证编号：SYXK（苏）2021-0056。每笼4只小鼠，初始体质量18~22 g，饲养温度（25±2）℃，相对湿度（50±5）%，12 h光暗循环，自由饮食。所有方案已受江南大学实验动物管理与动物福利伦理委员会批准，伦理编号：JN.No20210915b1201210[322]。

1.1.2 *主要试剂* 盐酸洛哌丁胺胶囊：西安杨森公司；胃动素、胃泌素、生长抑素、血管活性肠肽酶联免疫吸附试验试剂盒：森贝伽生物技术有限公司；逆转录试剂盒、Trizol试剂：诺唯赞生物技术有限公司；活性炭、阿拉伯树胶：国药集团化学试剂有限公司。

1.2 动物双歧杆菌乳亚种培养方法

MRS液/固体培养基、活性炭溶液的制备参照文献[16]。菌株培养方法参照文献[17]。

1.3 动物饲养及分组

动物饲养主要由适应期、干预期和造模期组成，共28 d。适应期为1周，随后将小鼠随机分为空白组、模型组、BB12组、CCFM1278组和FJSSZ6M5组，每组8只。其中，BB12已证实具有改善便秘的效果[18]，作为阳性对照菌株。

第8~21天为干预期，空白组和模型组小鼠灌胃无菌生理盐水，各菌株干预组小鼠灌胃菌悬液10^9 CFU/mL，每天上午灌胃1次。保存的菌液取出后以6 000 *g*离心5 min，用无菌生理盐水洗涤2次，重悬后灌胃。单次灌胃体积均为0.2 mL。

第22~28天为造模期。在22~27 d，给空白组小鼠灌胃无菌生理盐水，模型组和各菌株干预组小鼠灌胃20 mg/kg盐酸洛哌丁胺溶液。灌胃1 h后空白组和模型组小鼠灌胃无菌生理盐水，各菌株干预组小鼠灌胃菌悬液。第28天，空白组小鼠灌胃无菌生理盐水，另外4组小鼠灌胃20 mg/kg盐酸洛哌丁胺溶液。于1 h后，灌胃含有对应内容物的活性炭溶液。

结束后，小鼠禁食不禁水12 h。空白组小鼠灌胃无菌生理盐水，另外4组小鼠灌胃20 mg/kg盐酸洛哌丁胺溶液。灌胃1 h后，所有组小鼠灌胃活性炭溶液。灌胃30 min后，用体积分数4%的异氟烷麻醉，摘除眼球取血，并辅以颈椎脱位术处死。血液静置30 min后，2 500 *g*离心15 min，取上清液，置于-80 ℃冰箱冻存。小鼠解剖后取完整

肠道拉直并拍照，液氮快速冷冻后于−80 ℃冰箱冻存。

1.4 生理指标测定

适应期结束后每隔 1 d 测定小鼠体质量、饮水质量、摄食质量，观察小鼠健康状况。具体测定方法如下：每只小鼠灌胃前称质量，记录小鼠体质量；称量间隔 2 d 同笼水瓶、饲料总质量，差值表示该笼小鼠 2 d 内总饮水质量、摄食质量。

1.5 粪便含水质量分数测定

第 27 天，将第 2 次灌胃后的小鼠放在铺有吸水纸的笼盒中，收集所有新鲜粪便，记录粪便湿质量。粪便真空冷冻干燥后密封并称质量，记录粪便干质量。粪便含水质量分数计算见式（1）。

$$\omega=\frac{M_1-M_2}{M_1}\times 100\% \quad (1)$$

式中：

ω——粪便含水质量分数，%；

M_1——粪便湿质量，g；

M_2——粪便干质量，g。

1.6 首粒黑便时间测定

第 28 天灌胃含有对应内容物活性炭溶液后，将小鼠单独放在铺有吸水纸的干净笼盒中，记录首粒黑便排便时间。根据《保健食品功能检验与评价方法（2022 年版）（征求意见稿）》中润肠通便检验方法，继续收集 5 h，记录排便粒数并称质量。将第 28 天收集的部分粪便冻干保存，用于后续检测。

1.7 小肠推进率测定

处死小鼠时打开腹腔，测量小肠总长度，从幽门位置到活性炭溶液前端位置的长度记为活性炭溶液推进长度。小肠推进率计算见式（2）。

$$T=\frac{L_1}{L_2}\times 100\% \quad (2)$$

式中：

T——小肠推进率，%；

L_1——活性炭溶液推进长度，cm；

L_2——小肠总长度，cm。

1.8 胃肠调节肽测定

取 50 μL 血清样品，按照小鼠胃动素、胃泌素、生长抑素、血管活性肠肽试剂盒说明操作。

1.9 结肠 *AQP* 基因转录水平测定

利用 TRIZOL 法提取小鼠结肠组织总 RNA，反转录得到 cDNA，以 *GAPDH* 为内参基因，采用实时定量聚合酶链反应测定基因 *AQP3*、*AQP8* 的逆转录水平，具体操作参照文献[17]，所需引物序列见表 1。

表 1 用于定量聚合酶链反应试验的引物序列

Table 1 Sequences of primers used in the quantitative polymerase chain reaction assay

基因	上游序列（5′-3′）	下游序列（5′-3′）
AQP3	GCTTTTGGCTTCGCTGTCAC	TAGATGGGCAGCTTGATCCAG
AQP8	TGTGTAGTATGGACCTACCTGAG	ACCGATAGACATCCGATGAAGAT
GAPDH	AGGTCGGTGTGAACGGATTTG	TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA

1.10 肠道菌群测定

采用第 28 天收集的粪便进行菌群测定，具体方法参照文献[19]。

1.11 肠道菌群代谢物的测定

取第 28 天的粪便冻干物 20 mg 移入 1.5 mL 离心管，加入 200 μL 水均质处理，加入甲醇和乙腈各 400 μL 后涡旋 30 s，冰浴超声处理 10 min，−20 ℃放置 1 h 后于 4 ℃、12 000 *g* 条件下离心 15 min，取上清液蒸发至干燥。用 160 μL 乙腈和 40 μL 水复溶，涡旋 30 s 后于 4 ℃、12 000 *g* 条件下离心 15 min。取上清液过 0.22 μm 滤膜，转至进样瓶中利用液相色谱-质谱联用仪对肠道菌群代谢物进行检测。

1.12 短链脂肪酸测定

取第 28 天的粪便冻干物，利用气相色谱-质谱联用技术仪测定小鼠冻干粪便中短链脂肪酸（short-chain fatty acids，SCFAs）的摩尔质量。具体操作参照文献[17]。

1.13 数据处理及统计分析

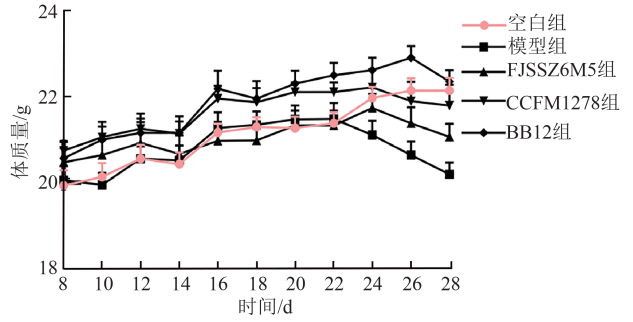
试验数据以平均值±标准差表示，采用 GraphPad Prism 8 和 IBM SPSS Statistics 22.0 对数据进行分析和绘图。采用单因素方差分析和邓肯多重范围检验进行显著性分析，$P<0.05$ 表示差异显著。肠道菌群 α 多样性采用 *t* 检验或 ANOVA 检验分析，β 多样性 PCoA 得分采用 PERMANOVA

分析，粪便中菌群差异代谢物采用OPLS-DA分析。

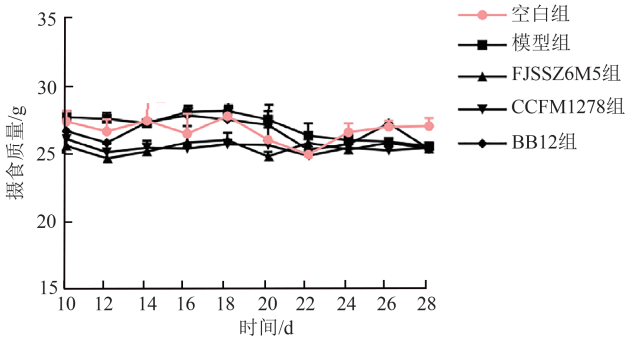
2　结果与分析

2.1　动物双歧杆菌乳亚种对便秘小鼠生理指标的影响

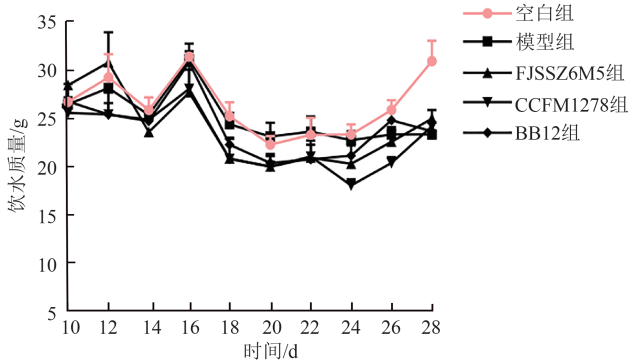
小鼠体质量、摄食质量、饮水质量反映各组小鼠整体生理健康状况。造模期内，模型组小鼠体质量较其他组有明显下降趋势，见图1。与模型组相比，菌株干预各组小鼠体质量有所上升。与空白组相比，各组小鼠摄食质量、饮水质量没有明显差异。这两种结果与文献报道相一致[16]。



(a) 体质量变化



(b) 摄食质量变化



(c) 饮水质量变化

图1　小鼠生理指标的变化

Fig. 1　Changes in physiological indicators in mice

2.2　动物双歧杆菌乳亚种对便秘小鼠排便指标的影响

粪便含水质量分数与粪便软硬度有关，是重要的便秘改善指标。与空白组相比，模型组小鼠粪便含水质量分数显著降低（$P<0.05$），见图2。与模型组相比，CCFM1278和BB12干预显著增加便秘小鼠的粪便含水质量分数（$P<0.05$），其中CCFM1278干预效果最为明显。FJSSZ6M5干预后，粪便含水质量分数仅有增加的趋势，与模型组相比无显著差异。结果表明，CCFM1278和BB12干预可以通过增加粪便含水质量分数改善粪便形态。

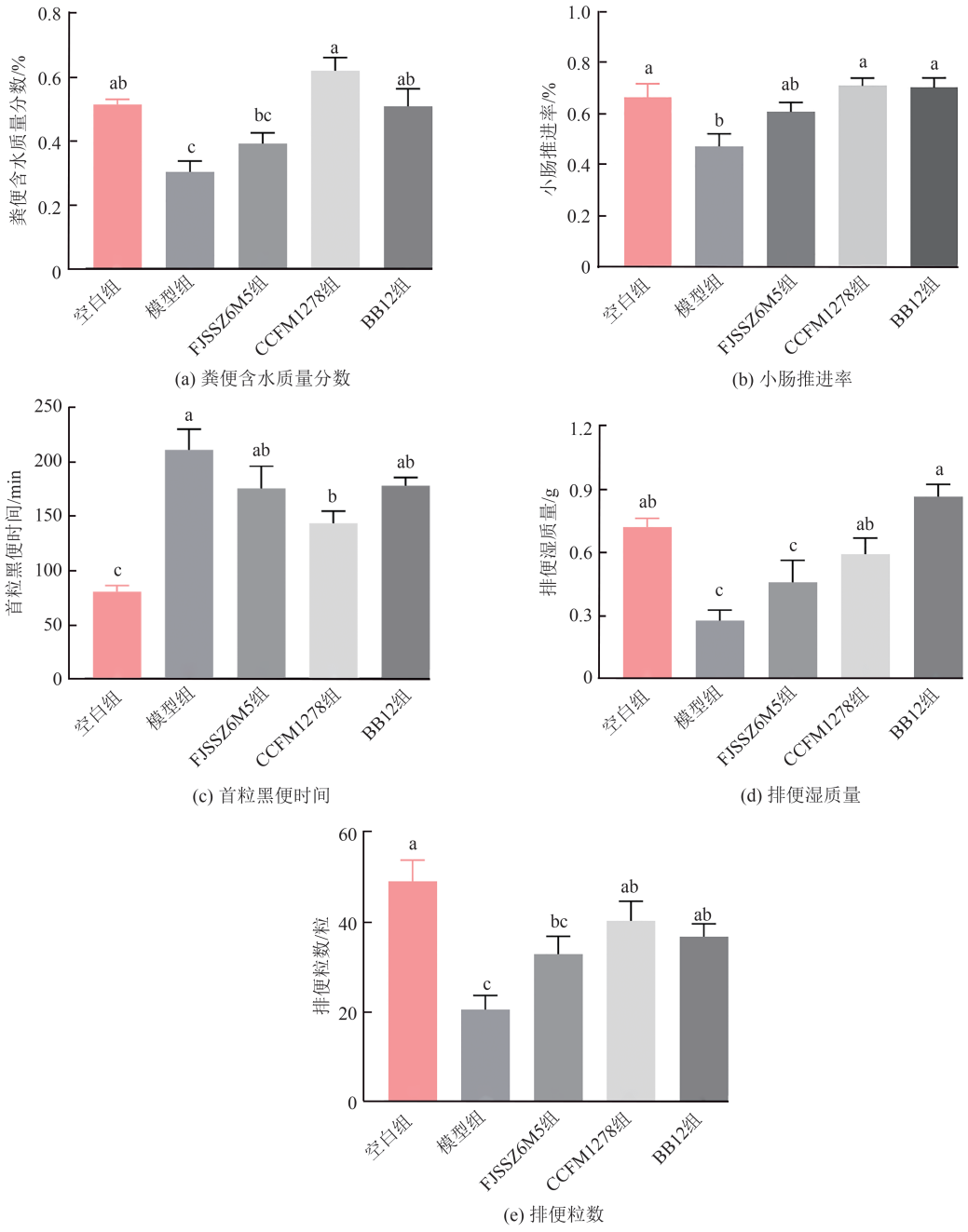
小肠推进率和首粒黑便时间反映了肠道运转速度。CCFM1278和BB12干预提高了便秘小鼠肠动力，缩短排便时间。粪便湿质量和排便粒数两个指标，CCFM1278组、BB12组与模型组差异显著（$P<0.05$）。相较于BB12，CCFM1278干预在改善便秘小鼠粪便含水质量分数和肠道运转方面有一定的优势。

2.3　动物双歧杆菌乳亚种对便秘小鼠胃肠调节肽分泌的干预效果

胃肠激素（如胃动素、胃泌素、生长抑素和血管活性肠肽）在胃肠道运动中起调节作用[20]。兴奋性胃肠调节肽胃泌素和胃动素可以促进胃肠道蠕动，而抑制性胃肠调节肽生长抑素和血管活性肠肽可以抑制小肠平滑肌收缩导致便秘[21-22]。由图3可知，与空白组相比，模型组小鼠血清中胃动素和胃泌素水平显著下降（$P<0.05$）；而生长抑素和血管活性肠肽水平显著提高（$P<0.05$），与Wang等的研究结果一致[23]。与模型组相比，CCFM1278干预显著提高便秘小鼠胃泌素水平，降低生长抑素水平（$P<0.05$），使胃动素和血管活性肠肽水平趋于正常值。BB12组与模型组相比，显著提高了胃动素和胃泌素水平（$P<0.05$）。与模型组相比，FJSSZ6M5组血清胃动素、胃泌素、生长抑素和血管活性肠肽水平无显著差异。

2.4　动物双歧杆菌乳亚种对便秘小鼠结肠*AQP*基因转录水平的影响

便秘患者粪便含水质量分数的减少与其*AQP*基因异常表达有关。与空白组相比，模型组便秘小鼠*AQP3*和*AQP8*基因相对表达量显著增加（$P<0.05$），见图4。这可能导致粪便中水分被



(a) 粪便含水质量分数　(b) 小肠推进率

(c) 首粒黑便时间　(d) 排便湿质量

(e) 排便粒数

不同小写字母表示各水平间存在显著性差异（P<0.05）。

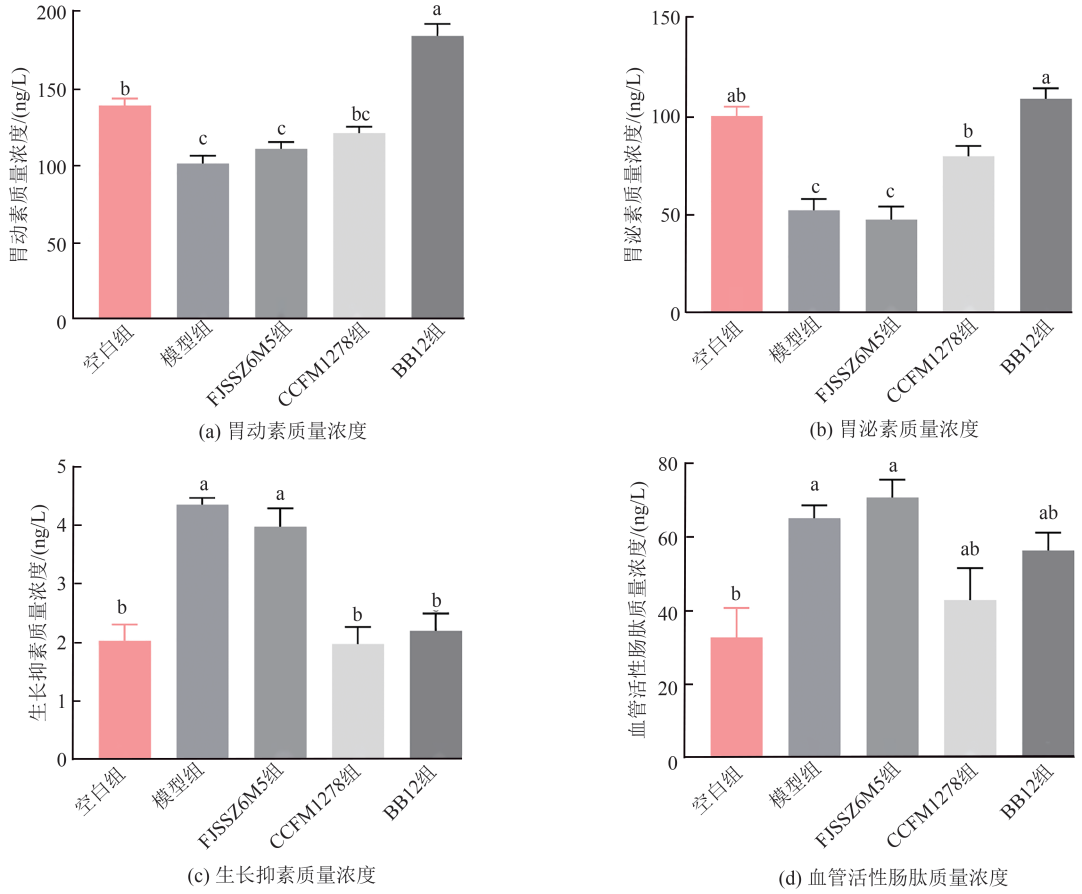
图 2　动物双歧杆菌乳亚种对便秘小鼠排便指标的影响

Fig. 2　Effect of *B. lactis* on defecation indicators in constipated mice

过度吸收，粪便干硬。与模型组相比，CCFM1278组小鼠的*AQP3*和*AQP8*相对表达量显著下降（P<0.05）。与模型组相比，BB12组*AQP3*基因的相对表达量显著降低（P<0.05），但对*AQP8*无显著影响。上述结果表明，CCFM1278可以通过降低便秘小鼠结肠中*AQP3*和*AQP8*基因转录水平，避免粪便中水分的过度吸收，从而提高粪便含水质量分数。

2.5　动物双歧杆菌乳亚种对便秘小鼠肠道菌群的影响

采用Chao1、Shannon、Simpson指数表征便秘小鼠肠道菌群的α多样性，见图5。与空白组相比，模型组Chao1、Shannon、Simpson指数显著降低。与模型组相比，CCFM1278干预显著提高了便秘小鼠肠道菌群的α多样性；BB12干预仅显著提高Chao1指数。表征β多样性的PCoA得分表



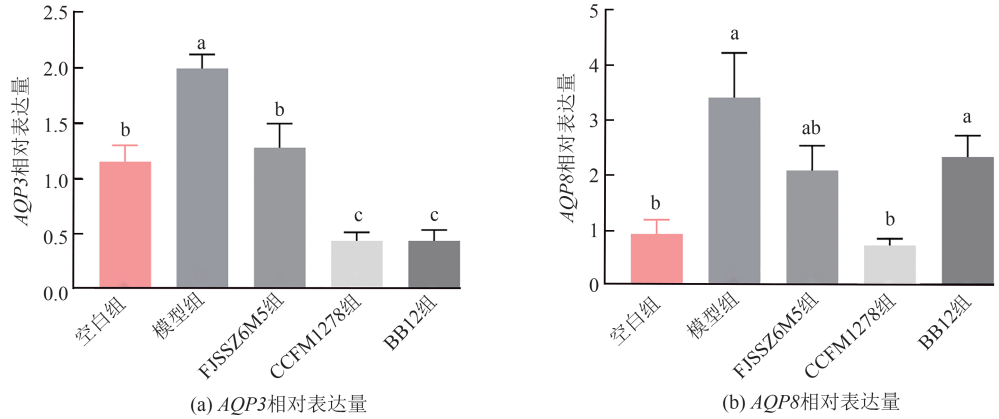
(a) 胃动素质量浓度　(b) 胃泌素质量浓度

(c) 生长抑素质量浓度　(d) 血管活性肠肽质量浓度

不同小写字母表示各水平间存在显著性差异（$P<0.05$）。

图 3　动物双歧杆菌乳亚种菌株对便秘小鼠血清胃肠调节肽水平的影响

Fig. 3　Effect of *B. lactis* strains on serum gastrointestinal regulatory peptide levels in constipated mice



(a) *AQP3*相对表达量　(b) *AQP8*相对表达量

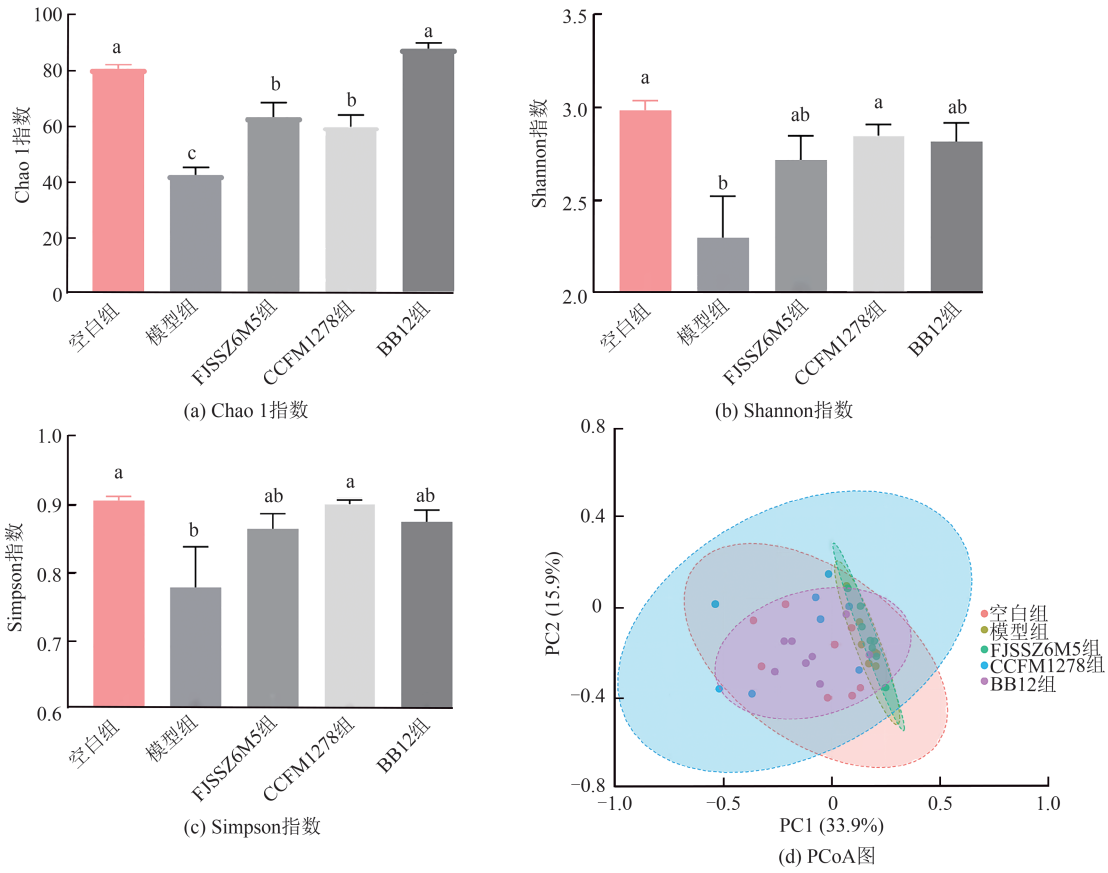
不同小写字母表示各水平间存在显著性差异（$P<0.05$）。

图 4　动物双歧杆菌乳亚种对便秘小鼠结肠 *AQP3* 和 *AQP8* 基因表达的影响

Fig. 4　Effect of *B. lactis* on the expression of colonic *AQP3* and *AQP8* in constipated mice

明了各组小鼠肠道菌群具有差异。

为了更好地了解不同动物双歧杆菌乳亚种干预对便秘小鼠肠道菌群结构和组成影响的差异，在属水平上进行深入分析，见图 6。结果显示，各组存在不同的优势菌属。与空白组相比，模型组中 *Akkermansia* 相对丰度显著降低（$P<0.05$）。*Akkermansia* 与肠道黏膜流动性相关，易在黏液层较厚的肠壁上定植[24-25]。模型组 *Akkermansia* 相对



不同小写字母表示各水平间存在显著性差异（$P<0.05$）。

图 5　动物双歧杆菌乳亚种对便秘小鼠肠道菌群多样性的影响

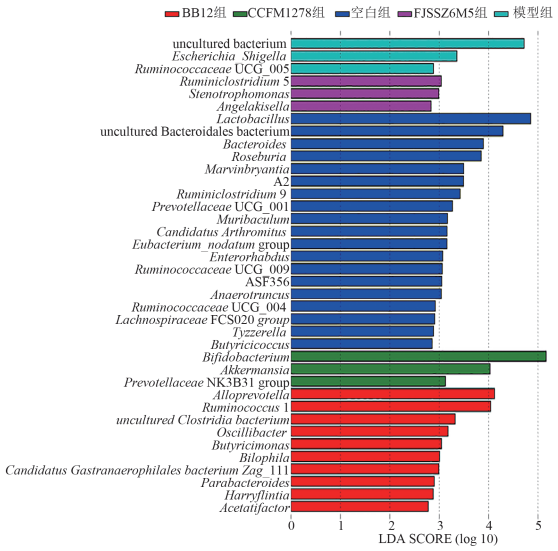
Fig. 5　Effects of *B. lactis* on the diversity of the gut microbiota in constipated mice

丰度低可能是由于洛哌丁胺造成黏液蛋白分泌减少。CCFM1278 或 FJSSZ6M5 的干预可能导致黏液分泌增多，*Akkermansia* 的相对丰度提高。与空白组相比，模型组小鼠肠道菌群中 *Lactobacillus* 相对丰度显著下降，而菌株干预没有恢复便秘小鼠 *Lactobacillus* 相对丰度，但显著降低了 *Ruminiclostridium* 6 的相对丰度。*Ruminiclostridium* 是一种严格厌氧菌，其作用与 *Ruminococcus* 1 相似，可以分解代谢纤维素，通过分解纤维素降低肠道运动能力[26]。模型组与空白组相比，*Ruminiclostridium* 6 和 *Ruminococcus* 1 的相对丰度明显提高，可能预示着便秘小鼠肠道蠕动能力的降低。各菌株干预组中 *Ruminococcus* 1 的相对丰度与模型组相比没有显著差异，但 CCFM1278 组 *Ruminococcus* 1 相对丰度存在下降趋势。与空白组相比，模型组 *Alloprevotella* 相对丰度显著增加，而 CCFM1278 的干预则显著降低了 *Alloprevotella* 相对丰度。目前对 *Alloprevotella* 的研究主要与口腔疾病有关，但有研究表明其生长受到胆汁酸抑制[27]，这可能间接预示模型组小鼠胆汁酸水平降低，CCFM1278 组的胆汁酸水平提高，而胆汁酸很可能对改善便秘有作用。

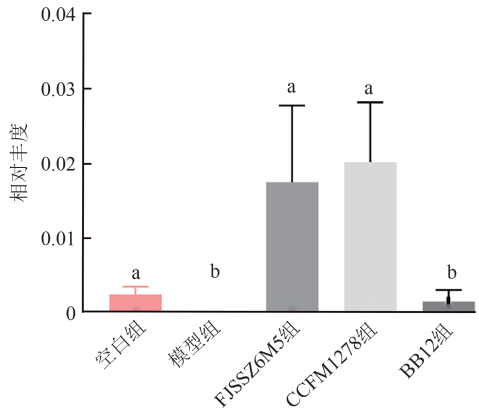
2.6　动物双歧杆菌乳亚种对便秘小鼠粪便中菌群代谢物的影响

为探究菌群代谢物对便秘小鼠的影响，对各组小鼠粪便中菌群代谢物进行了测定，见图 7。结果表明，模型组与空白组之间 OPLS-DA 评分结果不同，呈两极分布，且都处于 95% 置信区间内，表明便秘小鼠和正常小鼠粪便中菌群代谢物存在明显差异。模型组和 CCFM1278 组、FJSSZ6M5 组和 CCFM1278 组的 OPLS-DA 组评分与空白组和模型组的趋势一致，表明 CCFM1278 组小鼠粪便中菌群代谢物与模型组和 FJSSZ6M5 组存在明显差异。

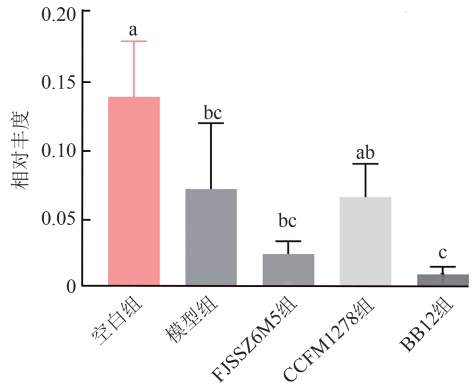
选择变量投影重要性（variable importance in projection，VIP）值≥1 的代谢物作为具有显著影响的代谢物[28]。其中，乙酸盐、脱氧胆酸、石胆酸在各



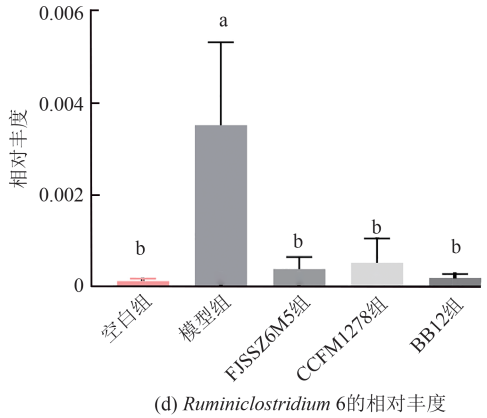
(a) 小鼠肠道菌群LEfSe分析柱状图



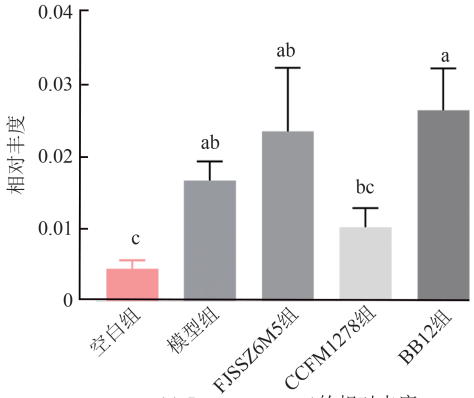
(b) *Akkermansia*的相对丰度



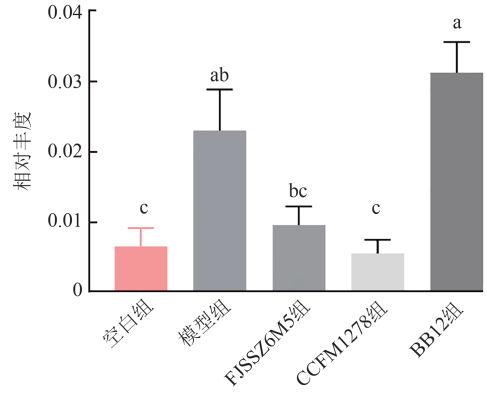
(c) *Lactobacillus*的相对丰度



(d) *Ruminiclostridium* 6的相对丰度



(e) *Ruminococcus* 1的相对丰度



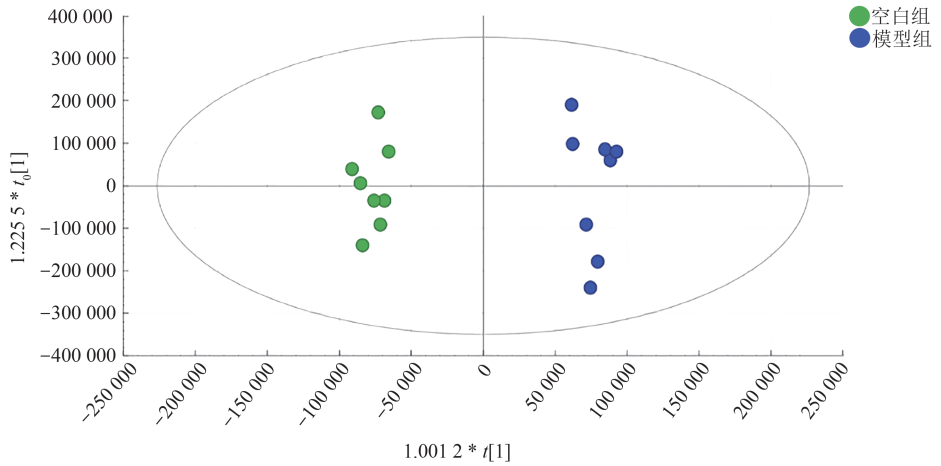
(f) *Alloprevotella*的相对丰度

不同小写字母表示各水平间存在显著性差异（$P<0.05$）。

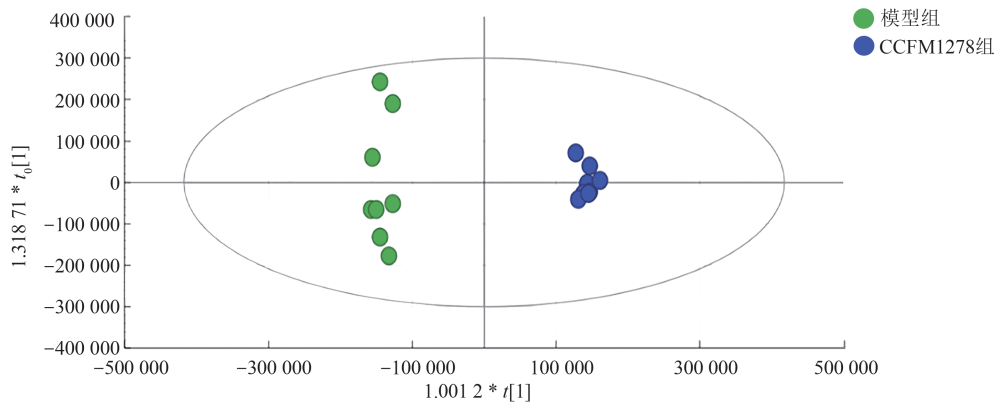
图 6 动物双歧杆菌乳亚种对便秘小鼠肠道菌群结构的影响

Fig. 6 Effect of *B. lactis* on the structure of the gut microbiota in constipated mice

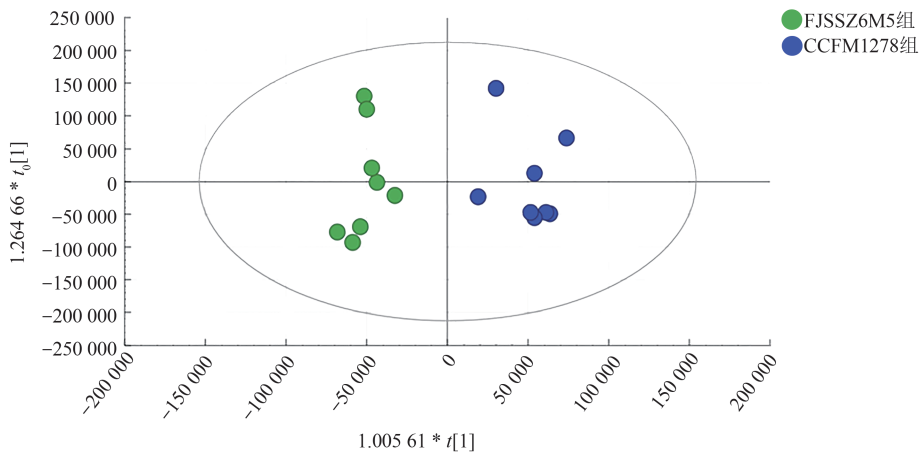
组比较之间存在显著差异，见图8。与空白组相比，模型组小鼠粪便中乙酸盐、脱氧胆酸水平显著降低（$P<0.05$），石胆酸水平显著提高（$P<0.05$）。CCFM1278和BB12干预使3项指标趋于空白组正常值，而FJSSZ6M5干预效果不显著。据报道，乙酸可以加快肠道蠕动，促进排便，同时SCFAs可以刺激肠上皮细胞的增殖，是细胞代谢重要能量来源[29-30]。胆汁酸会引起结肠功能改变，特别是其中



(a) 空白组和模型组小鼠粪便中菌群代谢物的OPLS-DA评分图



(b) 模型组和CCFM1278组小鼠粪便中菌群代谢物的OPLS-DA评分图

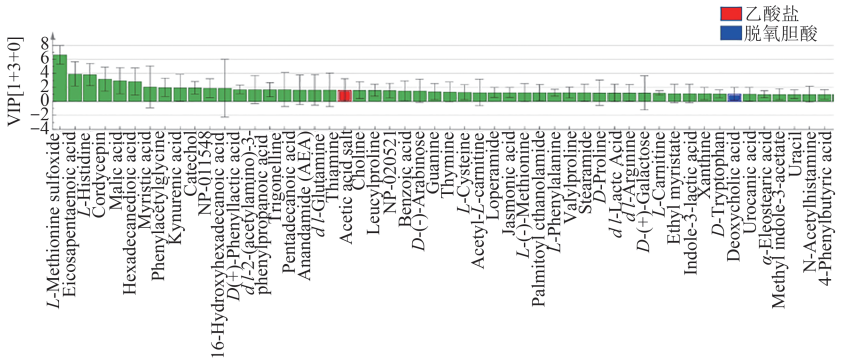


(c) FJSSZ6M5组和CCFM1278组小鼠粪便中菌群代谢物的OPLS-DA评分图

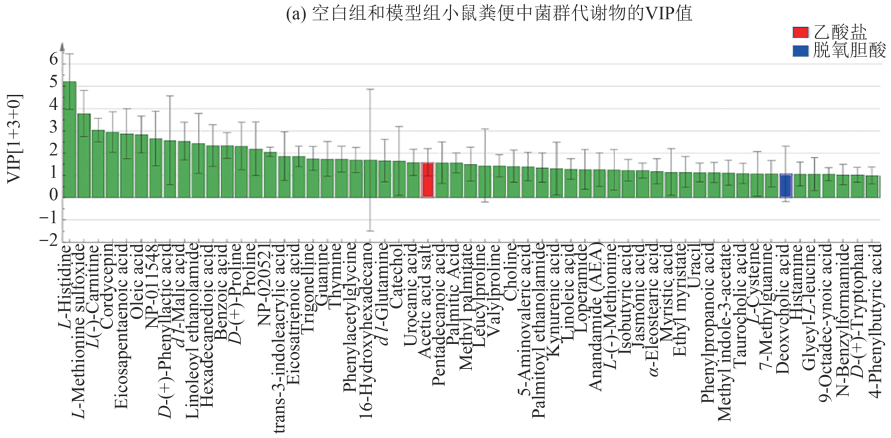
图 7　各组小鼠粪便中代谢物的 OPLS-DA 评分图

Fig. 7　OPLS-DA scores plot of metabolites in the faeces of different groups of mice

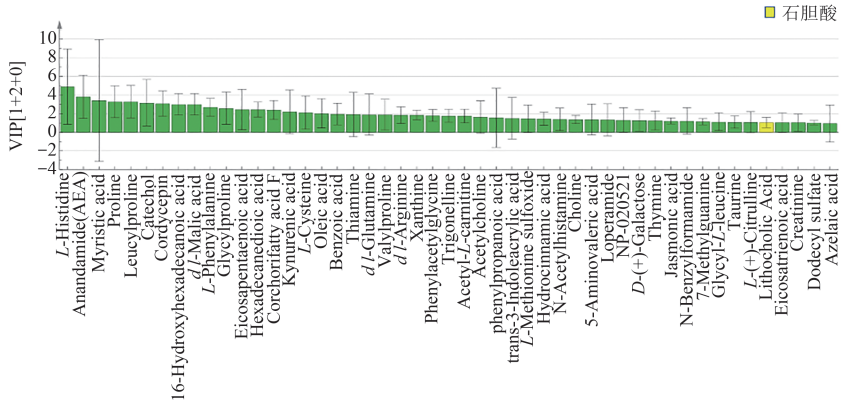
的脱氧胆酸、石胆酸等，可能通过激活结肠分泌或者结肠神经肌肉活动改变结肠运动[31]。Shin 等研究表明，结肠转运与粪便胆汁酸总量以及粪便鹅脱氧胆酸水平之间存在正相关性，与粪便石胆酸水平之间存在负相关性[32]。强效促结肠分泌型胆汁酸鹅脱氧胆酸和脱氧胆酸在便秘患者粪便中减少，而非分泌型石胆酸增加。这一结论与研究结果相吻合。



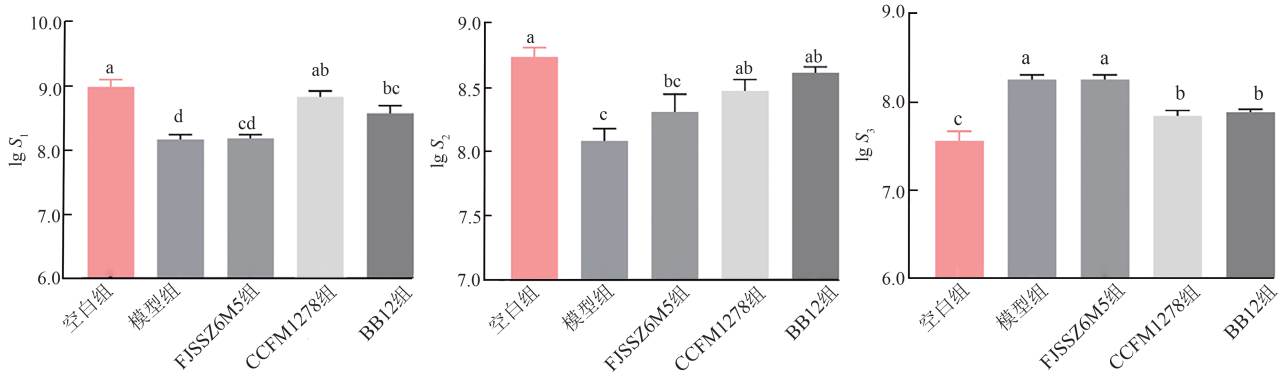
(a) 空白组和模型组小鼠粪便中菌群代谢物的VIP值



(b) 模型组和CCFM1278组小鼠粪便中菌群代谢物的VIP值



(c) FJSSZ6M5组和CCFM1278组小鼠粪便中菌群代谢物的VIP值



(d) 乙酸盐水平 (e) 脱氧胆酸水平 (f) 石胆酸水平

S_1—乙酸盐峰面积；S_2—脱氧胆酸峰面积；S_3—石胆酸峰面积。

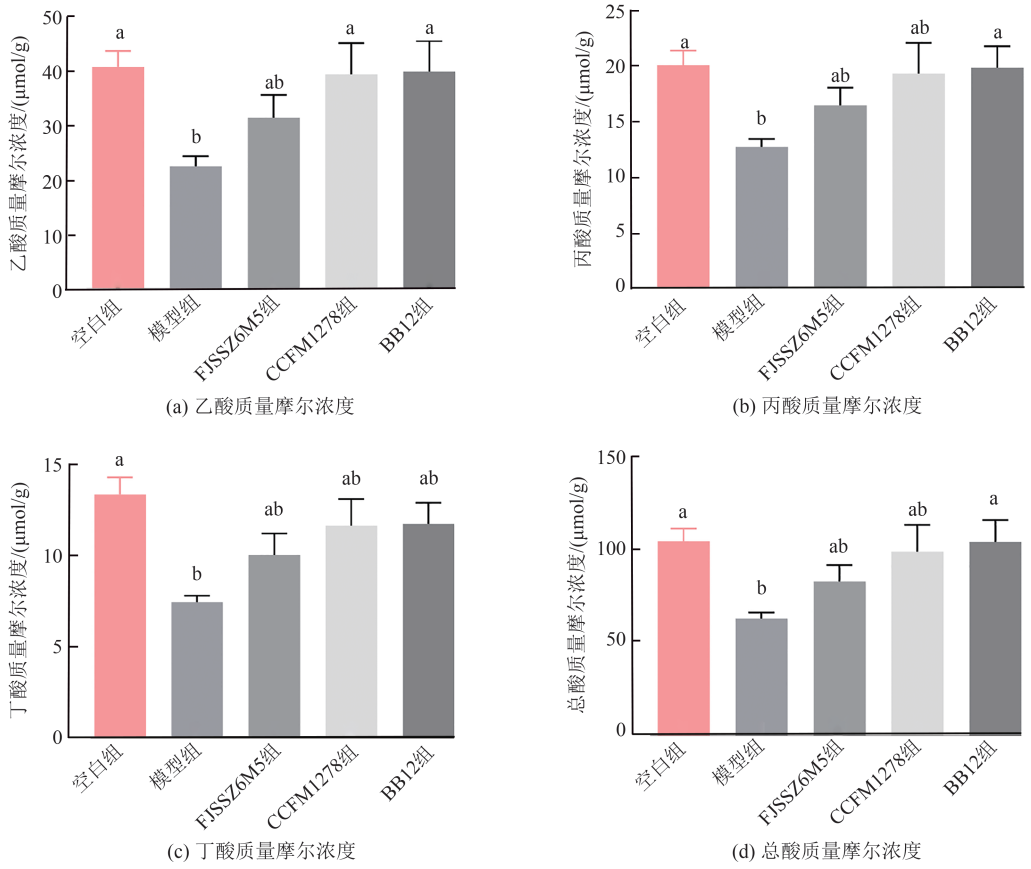
不同小写字母表示各水平间存在显著性差异（$P<0.05$）。

图 8 动物双歧杆菌乳亚种对便秘小鼠粪便中菌群代谢物的影响

Fig. 8 Effects of *B. lactis* on faeces microbial metabolites in the faeces in constipated mice

2.7 动物双歧杆菌乳亚种对便秘小鼠粪便中SCFAs的影响

SCFAs是由肠道菌群发酵多糖产生的重要代谢产物。研究重点测定了肠道菌群代谢产物中含量较高的3种SCFAs，见图9。与空白组相比，模型组小鼠粪便中乙酸、丁酸和丙酸的质量摩尔浓度均显著降低（$P<0.05$）。与模型组相比，CCFM1278和BB12干预可以显著提高小鼠粪便中乙酸质量摩尔浓度（$P<0.05$）。与模型组相比，BB12干预可以显著提高小鼠粪便中总酸质量摩尔浓度（$P<0.05$）。



(a) 乙酸质量摩尔浓度　(b) 丙酸质量摩尔浓度

(c) 丁酸质量摩尔浓度　(d) 总酸质量摩尔浓度

不同小写字母表示各水平间存在显著性差异（$P<0.05$）。

图9 粪便中短链脂肪酸水平

Fig. 9 Short-chain fatty acid levels in feces

3 结论

通过评估3株动物双歧杆菌乳亚种对便秘小鼠的影响，发现菌株CCFM1278通过调节肠道运动、改善粪便含水质量分数等途径改善便秘症状。在胃肠调节肽方面，CCFM1278显著改善胃泌素、生长抑素的分泌，促进肠道运动。在调节肠道菌群方面，CCFM1278干预抑制了便秘小鼠肠道菌群中*Ruminiclostridium* 6、*Ruminococcus* 1、*Alloprevotell*的相对丰度，提高了*Akkermansia*相对丰度。在菌群代谢产物方面，CCFM1278干预显著改善了粪便代谢物水平，如SCFAs和胆汁酸。在*AQP*基因方面，CCFM1278显著抑制了*AQP3*和*AQP8*基因转录水平的表达，可能减少肠道中水分重吸收，改善粪便含水质量分数。研究结果将为益生菌制剂防治便秘的应用提供依据，为原发性便秘患者提供一种有希望的治疗新策略。

参考文献

[1] DROSSMAN D A. Functional gastrointestinal disorders: history, pathophysiology, clinical features and Rome IV[J]. Gastroenterology, 2016, 150(6): 1262-1279.

[2] HANSON B, SIDDIQUE S M, SCARLETT Y, et al. American gastroenterological association institute technical review on the medical management of opioid-induced constipation[J]. Gastroenterology, 2019, 156(1): 229-253.

[3] OHKUSA T, KOIDO S, NISHIKAWA Y, et al. Gut

microbiota and chronic constipation：a review and update[J]. Frontiers in Medicine，2019，6：19.

[4] DIMIDI E，CHRISTODOULIDES S，FRAGKOS K C，et al. PWE-164 A meta-analysis of randomised controlled trials on the effect of probiotics on functional constipation in adults[J]. Gut，2014，63(Suppl. 1)：A196-A197.

[5] MILLER L E，OUWEHAND A C. Probiotic supplementation decreases intestinal transit time：meta-analysis of randomized controlled trials[J]. World Journal of Gastroenterology，2013，19(29)：4718-4725.

[6] WU J，YU K，LV C，et al. Efficacy and safety of probiotics on functional constipation：a meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Fresenius Environmental Bulletin，2019，28(3)：1913-1919.

[7] ZHANG C C，JIANG J C，TIAN F W，et al. Meta-analysis of randomized controlled trials of the effects of probiotics on functional constipation in adults[J]. Clinical Nutrition，2020，39(10)：2960-2969.

[8] WANG R，SUN J，LI G，et al. Effect of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* MN-Gup on constipation and the composition of gut microbiota[J]. Beneficial Microbes，2021，12(1)：31-42.

[9] DIMIDI E，ZDANAVICIENE A，CHRISTODOULIDES S，et al. Randomised clinical trial：*Bifidobacterium lactis* NCC2818 probiotic vs placebo，and impact on gut transit time，symptoms，and gut microbiology in chronic constipation[J]. Alimentary Pharmacology & Therapeutics，2019，49(3)：251-264.

[10] DIMIDI E，CHRISTODOULIDES S，FRAGKOS K C，et al. The effect of probiotics on functional constipation in adults：a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. The American Journal of Clinical Nutrition，2014，100(4)：1075-1084.

[11] DIMIDI E，CHRISTODOULIDES S，SCOTT S M，et al. Mechanisms of action of probiotics and the gastrointestinal microbiota on gut motility and constipation[J]. Advances in Nutrition，2017，8(3)：484-494.

[12] DIMIDI E，MARK SCOTT S，WHELAN K. Probiotics and constipation：mechanisms of action，evidence for effectiveness and utilisation by patients and healthcare professionals[J]. Proceedings of the Nutrition Society，2020，79(1)：147-157.

[13] IKARASHI N，KON R，IIZASA T，et al. Inhibition of aquaporin-3 water channel in the colon induces diarrhea [J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin，2012，35(6)：957-962.

[14] 袁维堂，杨会锋，张志永，等. 功能性便秘患者结肠黏膜水通道蛋白3和水通道蛋白9的表达及意义[J]. 中华胃肠外科杂志，2008，11(1)：57-60.
YUAN W T，YANG H F，ZHANG Z Y，et al. Expression and significance of aquaporin 3 and aquaporin 9 in colonic mucosa of patients with functional constipation [J]. Chinese Journal of Gastrointestinal Surgery，2008，11(1)：57-60.(in Chinese)

[15] ZHENG Y F，LIU C F，LAI W F，et al. The laxative effect of emodin is attributable to increased aquaporin 3 expression in the colon of mice and HT-29 cells[J]. Fitoterapia，2014，96：25-32.

[16] 王琳琳. 双歧杆菌对便秘的影响及其作用机理研究[D]. 无锡：江南大学，2017.

[17] 柴茂. 双歧杆菌对便秘的缓解作用及其机制分析[D]. 无锡：江南大学，2021.

[18] ESKESEN D，JESPERSEN L，MICHELSEN B，et al. Effect of the probiotic strain *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*，BB-12®，on defecation frequency in healthy subjects with low defecation frequency and abdominal discomfort：a randomised，double-blind，placebo-controlled，parallel-group trial[J]. British Journal of Nutrition，2015，114(10)：1638-1646.

[19] 应聪萍. 缓解便秘的双歧杆菌筛选及益生特性解析[D]. 无锡：江南大学，2018.

[20] LI G J，QIAN Y，SUN P，et al. Preventive effect of polysaccharide of *Larimichthys crocea* swimming bladder on activated carbon-induced constipation in mice[J]. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry，2014，57(2)：167-172.

[21] EL-SALHY M，NORRGÅRD Ö. Colonic neuroendocrine peptide levels in patients with chronic idiopathic slow transit constipation[J]. Upsala Journal of Medical Sciences，1998，103(3)：223-230.

[22] SJÖLUND K，FASTH S，EKMAN R，et al. Neuropeptides in idiopathic chronic constipation (slow transit constipation)[J]. Neurogastroenterology and Motility，1997，9(3)：143-150.

[23] WANG L L，HU L J，XU Q，et al. Bifidobacteria exert species-specific effects on constipation in BALB/c mice[J]. Food & Function，2017，8(10)：3587-3600.

[24] DERRIEN M，VAUGHAN E E，PLUGGE C M，et al. *Akkermansia muciniphila* gen. nov.，sp. nov.，a human intestinal mucin-degrading bacterium[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology，2004，54：1469-1476.

[25] EVERARD A，BELZER C，GEURTS L，et al. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of

America，2013，110（22）：9066-9071.

[26] LA REAU AJ，SUEN G. The *Ruminococci*：key symbionts of the gut ecosystem[J]. Journal of Microbiology，2018，56（3）：199-208.

[27] DOWNES J，DEWHIRST F E，TANNER A C R，et al. Description of *Alloprevotella rava* gen. nov.，sp. nov.，isolated from the human oral cavity，and reclassification of *Prevotella tannerae* Mooreet al. 1994 as *Alloprevotella tannerae* gen. nov.，comb. nov[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology，2013，63：1214-1218.

[28] 黄海游，胡昊，李淑军，等. 黄曲霉菌的差异挥发性代谢产物及其代谢途径分析[J]. 食品与生物技术学报，2021，40（4）：105-111.
HUANG H Y，HU H，LI S J，et al. Analyses of differential volatile metabolites of *Aspergillus flavus* and their metabolic pathway[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2021，40（4）：105-111.（in Chinese）

[29] GE X L，ZHAO W，DING C，et al. Potential role of fecal microbiota from patients with slow transit constipation in the regulation of gastrointestinal motility[J]. Scientific Reports，2017，7（1）：441.

[30] WANG L L，HU L J，YAN S，et al. Effects of different oligosaccharides at various dosages on the composition of gut microbiota and short-chain fatty acids in mice with constipation[J]. Food & Function，2017，8（5）：1966-1978.

[31] BERNSTEIN H，BERNSTEIN C，PAYNE C M，et al. Bile acids as endogenous etiologic agents in gastrointestinal cancer[J]. World Journal of Gastroenterology，2009，15（27）：3329-3340.

[32] SHIN A，CAMILLERI M，VIJAYVARGIYA P，et al. Bowel functions，fecal unconjugated primary and secondary bile acids，and colonic transit in patients with irritable bowel syndrome[J]. Clinical Gastroenterology and Hepatology，2013，11（10）：1270-1275.

（责任编辑：张馨文）

（上接第 11 页）

glucose and xylose using oleaginous yeast *Lipomyces starkeyi*[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering，2018，125（6）：695-702.

[87] SALUNKE D，MANGLEKAR R，GADRE R，et al. Production of polyunsaturated fatty acids in recombinant *Lipomyces starkeyi* through submerged fermentation[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering，2015，38（7）：1407-1414.

[88] OGURO Y，YAMAZAKI H，SHIDA Y，et al. Multicopy integration and expression of heterologous genes in the oleaginous yeast，*Lipomyces starkeyi*[J]. Bioscience，Biotechnology，and Biochemistry，2015，79（3）：512-515.

[89] NAGANUMA T，UZUKA Y，TANAKA K，et al. Differences in enzyme activities of *Lipomyces starkeyi* between cells accumulating lipid and proliferating cells[J]. Journal of Basic Microbiology，1987，27（1）：35-42.

[90] CHUANG L T，CHEN D C，NICAUD J M，et al. Co-expression of heterologous desaturase genes in *Yarrowia lipolytica*[J]. New Biotechnology，2010，27（4）：277-282.

[91] SUN X M，REN L J，ZHAO Q Y，et al. Enhancement of lipid accumulation in microalgae by metabolic engineering [J]. Biochimica et Biophysica Acta-Molecular and Cell Biology of Lipids，2019，1864（4）：552-566.

[92] MANO J，LIU N，HAMMOND J H，et al. Engineering *Yarrowia lipolytica* for the utilization of acid whey[J]. Metabolic Engineering，2020，57：43-50.

（责任编辑：刘冬梅）