DOI:10.12441/spyswjs.20250601001 [文章编号] 1673-1689(2025)08-0049-12

# 青春双歧杆菌FHNFQ5M4对小鼠肠道菌群的调控及缓解小鼠结肠炎研究

王 一[1,2] 黄立铭[3] 喻喜华[1,2] 李刘若兰[1,2] 陆文伟[3] 王鸿超[3] 张志坚[4,5*]

(1. 国药控股星鲨制药(厦门)有限公司,福建 厦门 361026; 2. 厦门市母婴健康营养产品重点实验室,福建 厦门 361026; 3. 江南大学食品学院,江苏 无锡 214122; 4. 南京医科大学附属无锡人民医院,江苏 无锡 214023; 5. 南京医科大学无锡医学中心,江苏 无锡 214023)

**摘要:【目的】**验证并筛选具备维生素A(VA)代谢能力的青春双歧杆菌,并探究其对结肠炎小鼠症状及肠道菌群的影响。**【方法】**通过体外发酵验证一批青春双歧杆菌的VA代谢能力,并选择其中VA代谢能力最强的菌株,将其通过灌胃方式对葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的结肠炎小鼠进行干预,干预期为6 d。试验结束后,评估结肠组织的病理学改变,检测小鼠血清中肠道损伤相关标志物和结肠组织中的细胞因子、抗氧化酶、视黄酸(RA)水平,并采用宏基因组测序技术分析肠道菌群结构变化。**【结果】**具有最强VA代谢能力的青春双歧杆菌FHNFQ5M4可显著缓解DSS诱导的结肠炎小鼠的肠道损伤,调节结肠组织中细胞因子、RA的水平,并改善小鼠结肠部位的氧化应激。同时,青春双歧杆菌FHNFQ5M4显著改变了结肠炎小鼠的肠道菌群结构,使肠道菌群中富集丁酸单胞菌,而葡萄球菌属的相对丰度降低。**【结论】**青春双歧杆菌FHNFQ5M4能够有效调节小鼠肠道菌群,缓解DSS诱导的结肠炎症状,显示出其作为益生菌治疗溃疡性结肠炎(UC)的潜力。

**关键词:**青春双歧杆菌;溃疡性结肠炎;维生素A;视黄酸;肠道菌群

# *Bifidobacterium adolescentis* FHNFQ5M4 Modulates Gut Microbiota and Alleviates Colitis in Mice

*WANG Yi*[1,2] *HUANG Liming*[3] *YU Xihua*[1,2] *LI Liuruolan*[1,2] *LU Wenwei*[3]
*WANG Hongchao*[3] *ZHANG Zhijian*[4,5*]

(1. Sinopharm Xingsha Pharmaceutical (Xiamen) Co., Ltd., Xiamen 361026, China; 2. Xiamen Key Laboratory of Maternal and Infant Health and Nutrition Products, Xiamen 361026, China; 3. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 4. The Affiliated Wuxi People's Hospital of Nanjing Medical University, Wuxi 214023, China; 5. Wuxi Medical Center of Nanjing Medical University, Wuxi 214023, China)

**Abstract:** [**Objective**] This study aims to verify and screen the *Bifidobacterium adolescentis* strains with vitamin A (VA) metabolic capacity, and investigate their effects on colitis symptoms and gut microbiota in mice. [**Method**] The VA metabolic capacity of a panel of *Bifidobacterium adolescentis* strains was evaluated through *in vitro* fermentation, and the strain with the highest VA metabolic capacity was ultimately selected. This strain was administered orally to mice with dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis for 6 consecutive days. After the intervention, histopathological changes in the colonic tissue were assessed, and the levels of intestinal injury markers in the serum and cytokines, antioxidant enzymes, and retinoic acid (RA) in the colonic tissue were measured. Additionally, gut microbiota composition was analyzed by metagenomic sequencing. [**Result**] *Bifidobacterium*

**基金项目:**国家"十四五"重点研发计划项目(2022YFF1100403);无锡市卫生健康委中青年拔尖人才项目(BJ2023009)。
**通信作者:**张志坚(1981—),男,博士,主任医师,主要从事肾脏病预防与治疗研究。E-mail: zhangzhijian@njmu.edu.cn
**收稿日期:**2025-06-01 **修回日期:**2025-08-04

*adolescentis* FHNFQ5M4 which possessed the highest VA metabolic capacity significantly alleviated the damage induced by DSS, modulated the cytokine and RA levels, and mitigated the oxidative stress in mouse colonic tissue. Moreover, *Bifidobacterium adolescentis* FHNFQ5M4 markedly altered the gut microbiota composition in colitis mice, leading to enrichment of *Butyricimonas* and reduced relative abundance of *Staphylococcus*. [**Conclusion**] *Bifidobacterium adolescentis* FHNFQ5M4 can effectively modulate the gut microbiota and alleviate DSS-induced colitis symptoms in mice, demonstrating the potential as a probiotic candidate for the treatment of ulcerative colitis (UC).

**Keywords:** *Bifidobacterium adolescentis*; ulcerative colitis; vitamin A; retinoic acid; gut microbiota

炎症性肠病（IBD）是一种以胃肠道慢性炎症为特征的疾病[1]。UC是IBD中常见的一种类型，主要发生在结肠和直肠，由于肠黏膜屏障受损导致结肠上皮功能障碍。IBD的全球患病率持续上升，给公共卫生和人类健康带来了重大挑战[2-5]。目前，治疗UC通常以皮质类固醇、免疫抑制剂和生物制剂等药物为主，但这些药物存在依赖性，长期服用此类药物会导致耐药性等副作用[6-8]。因此，找到健康有效的UC控制方案至关重要。

近期很多研究发现调节肠道菌群在缓解或治疗UC中的重要性[9-13]。肠道菌群可在不依赖宿主的条件下独立代谢VA，并产生视黄醛、RA等活性代谢产物[14]。其中，VA是一种对上皮完整性、免疫功能和宿主发育至关重要的脂溶性微量营养素[15]，其生物活性代谢产物RA在调节黏膜免疫、促进上皮屏障修复和维持肠道菌群稳态中起关键作用[16]。研究表明，补充VA可以提高肠道微生物多样性并改善UC[17]。肠道微生物代谢VA产生的活性代谢物可以与机体相互作用，调节结肠上皮细胞免疫反应，并与上皮细胞中RAR受体结合来驱动Th17细胞分化[18]。特定微生物（如具备VA代谢能力的肠乳杆菌）可通过调节肠道菌群使VA代谢生成RA，激活RA敏感基因，缓解DSS诱导的结肠炎[18-19]。

益生菌是调节肠道微生物群的有效方法之一[9,12]。青春双歧杆菌是公认的可食用益生菌，具有调节肠道菌群和缓解结肠炎的功能[20-21]。目前多项研究表明益生菌具备调节肠道菌群、缓解UC的功能[10,13,22]，但不同菌种或菌株的治疗效果差异较大，其作用机制也不尽相同，这给筛选有效益生菌带来了挑战[20]。利用具备VA代谢能力的益生菌调节肠道菌群可能为缓解结肠炎提供新策略。

作者通过体外试验验证了一批青春双歧杆菌的VA代谢能力，将其用于DSS诱导的结肠炎小鼠模型，探索益生菌缓解UC症状的潜力及其对体内RA水平以及肠道菌群的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株及实验动物

青春双歧杆菌菌株：江南大学食品微生物菌种保藏中心（CCFM）；6周龄雄性C57BL/6J小鼠：嘉兴维通利华实验动物技术有限公司，饲养于无特定病原体（SPF）环境中。

### 1.2 药品与试剂

VA：纯度95%，北京百灵威科技有限公司；RA：纯度≥99%，上海源叶生物科技有限公司；DSS：相对分子质量为36 000~50 000，美国MP生物医学公司；便隐血（OB）试剂盒：珠海贝索细胞科学技术有限公司；白细胞介素-1β（IL-1β）、白细胞介素-6（IL-6）、白细胞介素-10（IL-10）、肿瘤坏死因子-α（TNF-α）、脂多糖结合蛋白（LBP）、肠型脂肪酸结合蛋白（I-FABP）、二胺氧化酶（DAO）、过氧化氢酶（CAT）、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）的酶联免疫吸附分析（ELISA）试剂盒：上海酶联生物科技有限公司；超氧化物歧化酶（SOD）的ELISA试剂盒：南京建成生物工程研究所有限公司；RA的ELISA试剂盒：天津科维诺生物科技有限公司；BCA蛋白质浓度测定试剂盒：上海碧云天生物技术有限公司；通用型组织固定液（中性）：武汉赛维尔生物科技有限公司；其他化学试剂：分析纯，国药集团化学试剂有限公司。

### 1.3 仪器与设备

磁力搅拌器：C-MAG HS7型，德国IKA公司；酶标仪：3020型，美国赛默飞世尔科技公司；电子天平：EL3002型，梅特勒-托利多仪器（上海）有限

公司；高速冷冻离心机：5415型和5804R型，德国艾本德有限公司；PCR扩增仪：T 100型，伯乐生命医学产品（美国）有限公司；凝胶成像仪：Gel Doc™ EZ imager型，伯乐生命医学产品（美国）有限公司；核酸快速提取仪：FastPrep-24型，美国MP生物医学公司；基因测序仪：DNBSEQ-T7型，深圳华大基因股份有限公司；数字切片扫描仪：PANNORMIC MIDI型，匈牙利3DHISTECH公司。

### 1.4　方法

#### 1.4.1　青春双歧杆菌VA代谢能力的测定

为测定青春双歧杆菌菌株代谢VA的能力，选取了一批菌株进行体外试验，参照文献[14，18]的方法并稍加修改。菌株经2次传代后接种于MRS培养基中，并在厌氧工作站中于37 ℃培养13 h。随后，在菌液中补加VA，使其终浓度达到100 μmol/L。将100 mg VA溶解于4 mL DMSO中，为使5 mL菌液中的VA终浓度达到100 μmol/L，应加入5.729 μL VA-DMSO溶液，但实际添加了6 μL VA-DMSO溶液，最终VA浓度为104.729 μmol/L。在添加VA 3.0 h后，将菌液转移至新的棕色离心管中，于4 ℃、4 000 r/min离心10 min，收集上清液，用ELISA试剂盒测定上清液中RA的质量浓度。

#### 1.4.2　灌胃菌株的制备

将青春双歧杆菌菌株在MRS培养基中连续传代培养3次后，于4 ℃、8 000 r/min离心15 min，收集细菌，重悬于体积分数30%甘油中，并于−80 ℃保存，最终用于灌胃的细菌悬液浓度为1×10⁹ CFU/mL。

#### 1.4.3　灌胃制剂的制备

将VA或RA溶解于植物油中，充分涡旋振荡至完全溶解，使其质量浓度达到2.5 mg/mL。所有溶液均现用现配，且配制过程避光操作。

#### 1.4.4　动物试验

动物试验环境维持在20~26 ℃、相对湿度40%~70%，采用光照/黑暗循环12 h/12 h。所有小鼠自由进食饮水。试验方案经江南大学实验动物伦理委员会批准（JN.No20220915b1281110[318]）。

经过1周适应期后，将30只小鼠随机分为5组（每组6只）：空白组、模型组、维生素A组、视黄酸组和青春双歧杆菌FHNFQ5M4干预组。UC模型参照文献[23]的方法建立。试验共20 d，分为适应期7 d、造模期7 d以及干预期6 d。在造模期，除空白组外，各组的饮水中添加30 mg/mL的DSS。干预期中所有组别以每只小鼠0.2 mL/d的量进行灌胃，各组别简称及具体灌胃物质见表1。

**表1　动物试验方案**

Table 1　Animal experiment design

| 组别 | 简称 | 灌胃物质 |
|---|---|---|
| 空白组 | CON组 | 生理盐水 |
| 模型组 | MOD组 | 生理盐水 |
| 维生素A组 | VA组 | VA制剂 |
| 视黄酸组 | RA组 | RA制剂 |
| 青春双歧杆菌FHNFQ5M4干预组 | FHNFQ5M4组 | 1×10⁹ CFU/mL青春双歧杆菌FHNFQ5M4 |

#### 1.4.5　小鼠体质量监测与结肠炎评估

每日灌胃前测量小鼠体质量。体质量变化率按式（1）计算。

$$R=\frac{m_1}{m_2}\times 100\% \quad (1)$$

式中：

$R$——体质量变化率，%；

$m_1$——小鼠测量当日的体质量，g；

$m_2$——小鼠试验第8天的体质量，g。

疾病活动指数（DAI）的评估参照文献[23]的方法，基于体质量变化、便血情况和粪便性状进行综合评分。采用OB试剂盒对小鼠的便血情况进行检测。DAI评分按式（2）计算。

$$I_{DA}=W+S+B \quad (2)$$

式中：

$I_{DA}$——DAI；

$W$——体质量下降评分；

$S$——粪便形状评分；

$B$——便血评分。

表2为DAI评分标准。

表2 DAI评分标准

Table 2 Scoring criteria for DAI

| 评分 | 体质量下降率/% | 粪便性状 | 便血检测情况 |
|---|---|---|---|
| 0 | 1~<5 | 正常 | 试剂加入后无变化 |
| 1 | 5~<10 | 松软但成形 | 1~2 min内出现紫红色 |
| 2 | 10~<15 | 松软但不成形 | 1 min内出现紫红色 |
| 3 | 15~<20 | 轻度腹泻 | 10 s内出现紫红色 |
| 4 | 20~25 | 水样腹泻 | 试剂加入后立即出现紫红色 |

1.4.6 结肠病理学分析

结肠组织经分离后，置于40 mg/mL聚甲醛溶液中固定至少24 h，随后进行石蜡包埋。将组织切片后用中性树胶封片，进行苏木精-伊红（HE）染色，最后使用数字切片扫描仪采集图像。

1.4.7 ELISA检测

试验第14天处死小鼠，通过眼眶采血法收集血液样本。将血液收集至无菌离心管中，于4 ℃、3 000 r/min离心15 min。取上层血清分装至无菌PCR管中，剩余样本保存于-80 ℃超低温冰箱备用。采用ELISA试剂盒定量检测血清中I-FABP、LBP及DAO水平。采用ELISA试剂盒定量检测结肠组织中IL-1β、IL-6、IL-10、TNF-α、LBP、I-FABP、DAO、RA、SOD、CAT和GSH-Px水平。

1.4.8 小鼠粪便宏基因组学分析

小鼠粪便样本（$n$=4，5）的宏基因组测序由北京诺禾致源科技股份有限公司完成。简要流程如下：DNBSEQ-T7平台产生的原始数据经软件Trimmomatic（0.39版）过滤测序的低质量序列，保留平均Phred分数≥30且长度>60 bp的序列；使用软件BWA（0.7.17版）、Samtools（1.17版）和BEDTools（2.30.0版）去除宿主基因组序列，清洁序列比对至参考基因组GRCm39；物种组成注释采用软件MetaPhlAn4完成，β多样性分析和线性判别结果（LEfSe）分析在https://www.bioincloud.tech/平台完成。

1.4.9 统计分析

采用软件GraphPad Prism（9.5.0版）和OriginPro 2022进行数据分析和可视化。数据以均值±标准误差表示，组间差异通过单因素方差分析（ANOVA）结合Duncan多重比较检验评估。显著性差异分析使用GraphPad Prism（9.5.0版）完成。

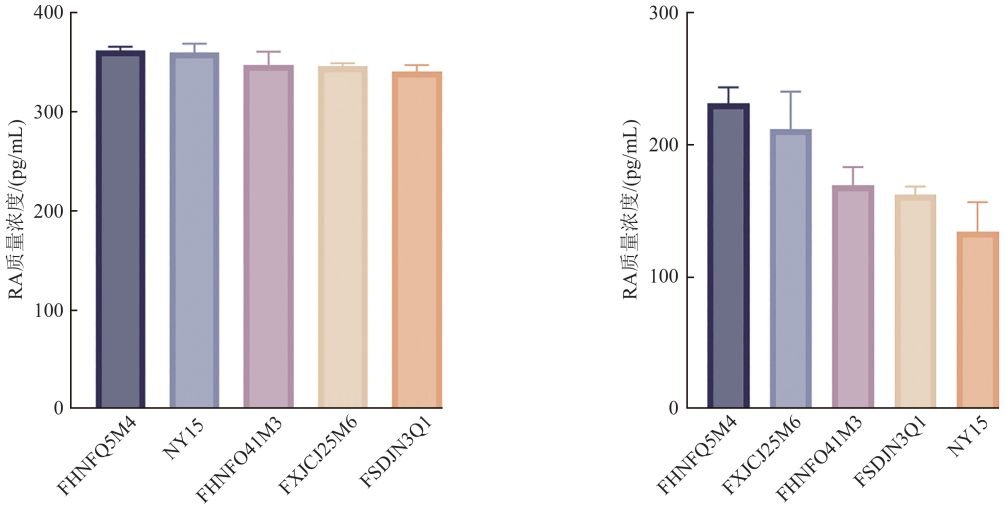
## 2 结果与讨论

### 2.1 青春双歧杆菌的VA代谢能力

如图1（a）所示，所选取的青春双歧杆菌菌株均能在体外代谢VA，并且在添加VA 3 h后，各菌株均能将VA代谢为RA，而培养基中加入VA不会产生RA。由于各菌株之间无显著差异，作者检测了发酵1.5 h后的上清液，结果见图1（b）。青春双歧杆菌FHNFQ5M4代谢VA产生RA速率较快。因此，选取了具备相对较强VA代谢能力的青春双歧杆菌FHNFQ5M4进行后续试验。

### 2.2 青春双歧杆菌FHNFQ5M4对结肠炎小鼠表观指标及结肠病理的影响

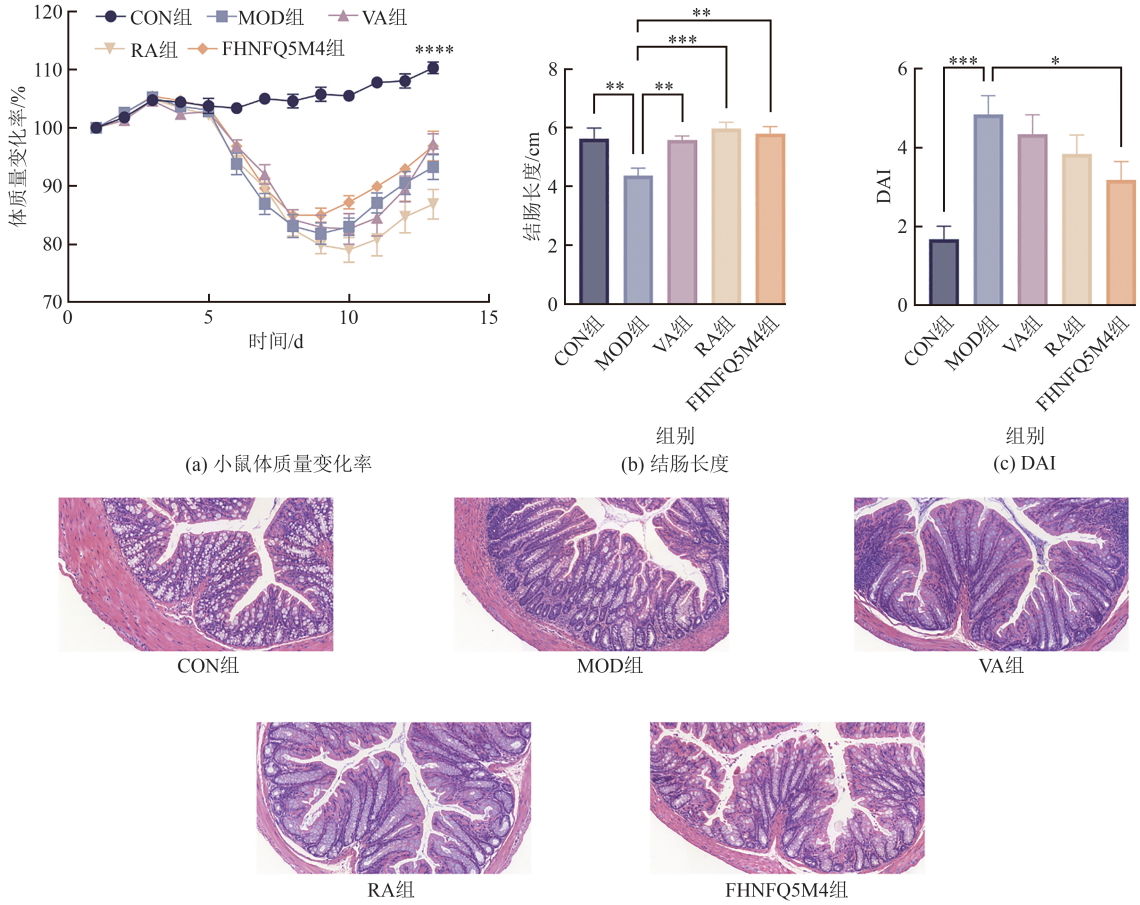
所有经过DSS干预的小鼠体质量均比CON组有所下降；经青春双歧杆菌FHNFQ5M4干预后，结肠炎小鼠的体质量有所改善，但与MOD组相比体质量变化率无显著差异，仅增加了3.86%，见图2（a）。如图2（b）所示，MOD组的小鼠结肠长度与其他组相比均显著缩短，经RA以及青春双歧杆菌FHNFQ5M4干预后，结肠炎小鼠的结肠长度恢复至正常水平，结肠长度较MOD组小鼠分别增加36.64%（$P$<0.001）、32.82%（$P$<0.01）。如图2（c）所示，与CON组相比，MOD组小鼠的DAI显著升高（$P$<0.001）；补充青春双歧杆菌FHNFQ5M4可显著降低结肠炎小鼠的DAI，较MOD组小鼠降低了34.48%（$P$<0.05）。组织学观察结果如图2（d）所示，MOD组小鼠结肠的隐窝结构出现损伤、上移、畸形等情况，并伴有炎性细胞浸润、基底浆细胞增多及出血现象；VA、RA及青春双歧杆菌FHNFQ5M4均能缓解炎症、减少炎性细胞浸润、恢复隐窝结构、改善隐窝形态并减少结肠部位的出血情况。有研究表明，补充VA和RA均可恢复结肠杯状细胞，修复黏液层，从而减少DSS对结肠造成的损伤[16,24]。青春双歧杆菌可通过产生短链脂肪酸、γ-氨基丁酸等有益代谢物缓解结肠炎症，从而减少结肠部位炎性细胞浸润[25]。以上表明，本研究结果与之前的研究结果是一致的[17,26]。此外，作者认为青春双歧杆菌FHNFQ5M4可能通过代谢膳食中的VA产生RA，从而更有效地缓解结肠炎。




(a) 发酵3.0 h上清液中RA质量浓度　(b) 发酵1.5 h上清液中RA质量浓度

图 1　青春双歧杆菌的VA代谢能力

Fig. 1　Vitamin A metabolic capacity of *Bifidobacterium adolescentis*




(a) 小鼠体质量变化率　(b) 结肠长度　(c) DAI




(d) 结肠病理切片(放大倍数20×)

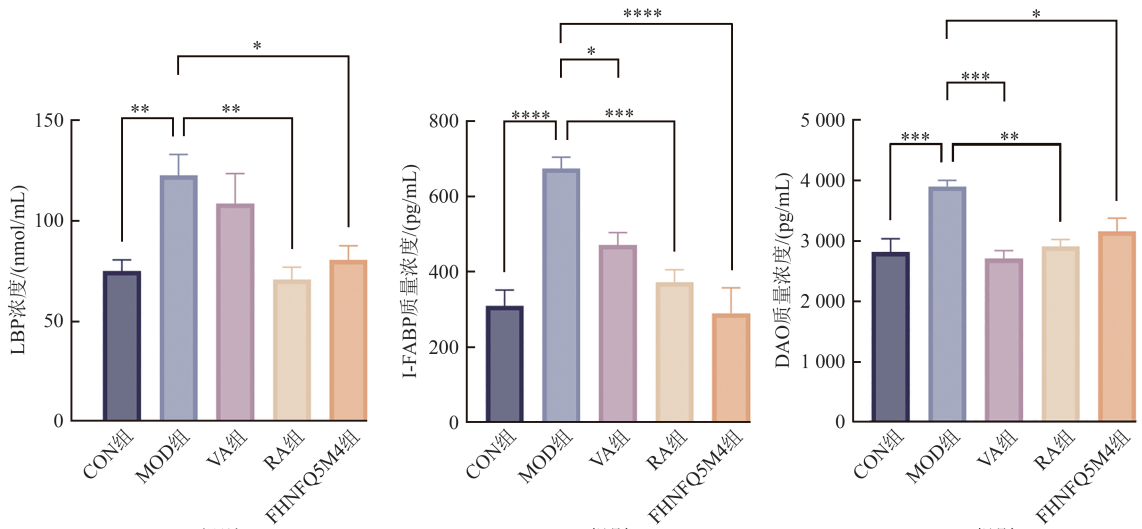
与MOD组相比，*—$P$<0.05，**—$P$<0.01，***—$P$<0.001，****—$P$<0.000 1。

图 2　青春双歧杆菌FHNFQ5M4对结肠炎小鼠表观指标及结肠病理结构的影响

Fig. 2　Effects of *Bifidobacterium adolescentis* FHNFQ5M4 on macroscopic indicators and colonic pathological structure in mice with colitis

### 2.3 青春双歧杆菌 FHNFQ5M4 对结肠炎小鼠血清中肠道屏障损伤标志物的影响

如图 3 所示，与 CON 组相比，MOD 组小鼠的 LBP、I-FABP、DAO 这 3 种标志物在血清中的水平显著升高，分别增加了 62.93%（$P$<0.01）、110.08%（$P$<0.000 1）、38.57%（$P$<0.001）。补充 RA 后，结肠炎小鼠血清中 LBP 浓度、I-FABP 质量浓度和 DAO 质量浓度均显著下降，较 MOD 组小鼠分别降低了 42.26%（$P$<0.01）、52.81%（$P$<0.001）、25.42%（$P$<0.01）。单独使用 VA 干预则显著降低了结肠炎小鼠血清中 I-FABP 和 DAO 的质量浓度，较 MOD 组小鼠分别降低了 37.76%（$P$<0.05）、38.57%（$P$<0.001），LBP 浓度表现出降低的趋势，但不具有统计学意义。青春双歧杆菌 FHNFQ5M4 的干预显著降低了 DSS 诱导的结肠炎小鼠血清中 3 种标志物水平，血清中 LBP 浓度、I-FABP 质量浓度和 DAO 质量浓度较 MOD 组小鼠分别降低了 34.28%（$P$<0.05）、37.31%（$P$<0.000 1）、19.03%（$P$<0.05）。DAO 是一种胞内酶，可作为肠黏膜细胞的标志物，它只存在于肠道中，当肠道屏障受损时会释放到血液中，因此，DAO 在血液中的水平升高表明肠道屏障功能障碍和黏膜损伤[27]。肝细胞在应对细菌及其相关致病因子的刺激下产生 LBP，它是一种急性期蛋白质。当肠黏膜损伤导致通透性增加、细菌及其内毒素进入体内时，LBP 的分泌量会显著增加[28]。I-FABP 可在肠上皮细胞中特异性表达，当肠上皮细胞死亡后被释放进入血液循环，其血浆浓度与肠道损伤有关[29]。因此，血清中 LBP、I-FABP 和 DAO 水平均可反映小鼠结肠的肠道屏障损伤状况。有研究表明，青春双歧杆菌可促进结肠炎小鼠黏蛋白 Muc2、Muc3 的表达，从而改善小鼠肠道黏液层厚度，保护结肠上皮屏障[21]。作者虽未对黏蛋白及其表达进行测定，但研究结果表明青春双歧杆菌 FHNFQ5M4 具有缓解结肠炎小鼠肠道屏障损伤的效果，并可能通过相似的方式改善肠道屏障。



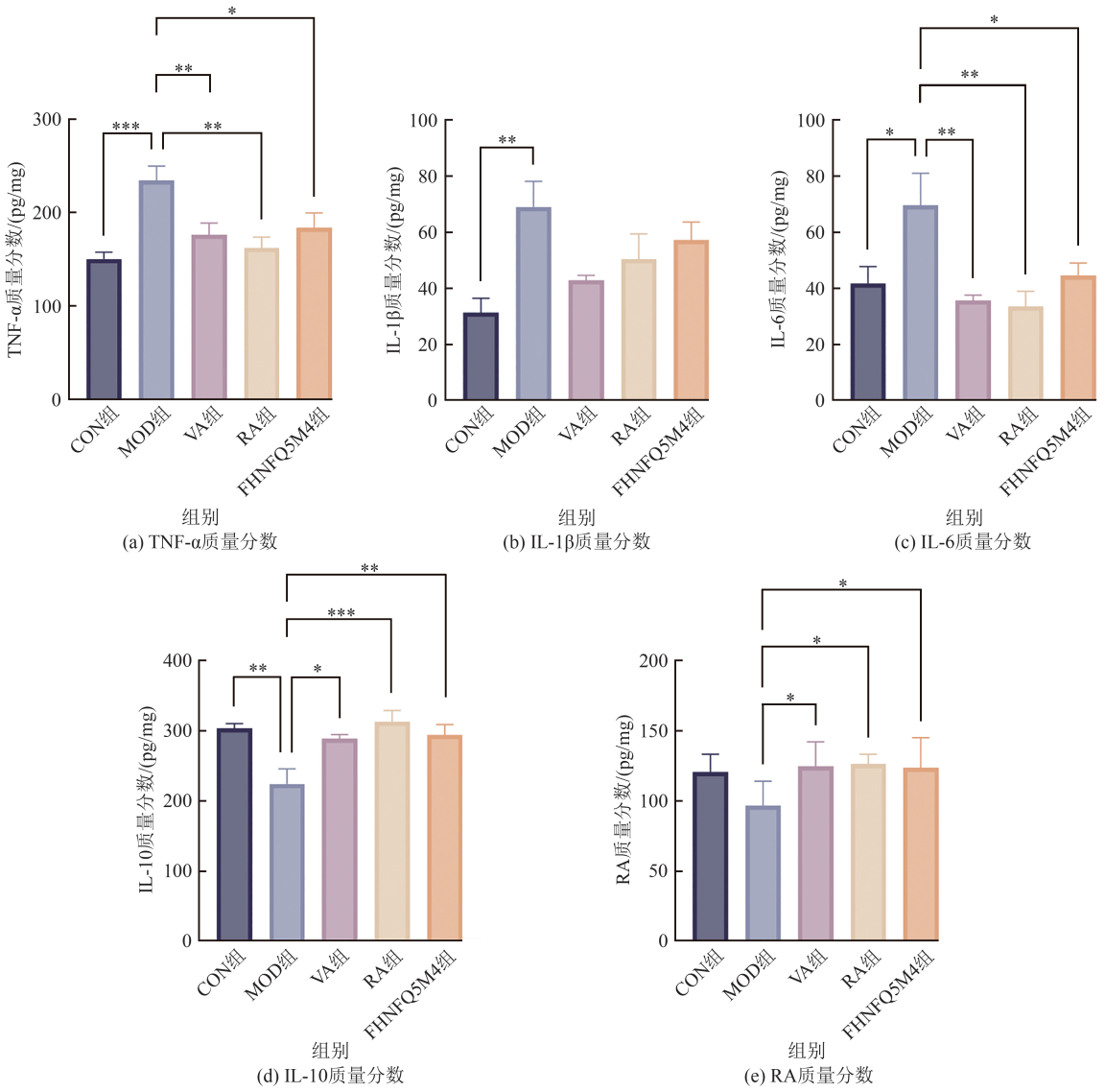

与MOD组相比，*—$P$<0.05，**—$P$<0.01，***—$P$<0.001，****—$P$<0.000 1。

图 3 青春双歧杆菌 FHNFQ5M4 对结肠炎小鼠血清中肠道屏障损伤标志物的影响

Fig. 3 Effects of *Bifidobacterium adolescentis* FHNFQ5M4 on serum markers of intestinal barrier damage in mice with colitis

### 2.4 青春双歧杆菌 FHNFQ5M4 对结肠炎小鼠结肠中细胞因子及 RA 水平的影响

如图 4 所示，与 CON 组相比，MOD 组小鼠结肠组织中 IL-10 质量分数降低了 26.05%（$P$<0.01），RA 质量分数降低了 20.06%，TNF-α 质量分数增加了 55.79%（$P$<0.001），IL-1β 质量分数增加了 119.68%（$P$<0.01），IL-6 质量分数增加了 66.90%（$P$<0.05）。与 MOD 组相比，VA 以及 RA 的补充均显著降低了 DSS 诱导结肠炎小鼠结肠组织中 TNF-α 的质量分数，分别降低了 24.72%（$P$<0.01）、30.87%（$P$<0.01），IL-6 质量分数分别降低了 48.73%（$P$<0.01）、51.86%（$P$<0.01），IL-10 质量分数分别增加了 28.69%（$P$<0.05）、39.28%（$P$<0.001），RA 质量分数分别增加了 29.19%（$P$<0.05）、31.15%（$P$<0.05）。




与MOD组相比，*—$P$<0.05，**—$P$<0.01，***—$P$<0.001。

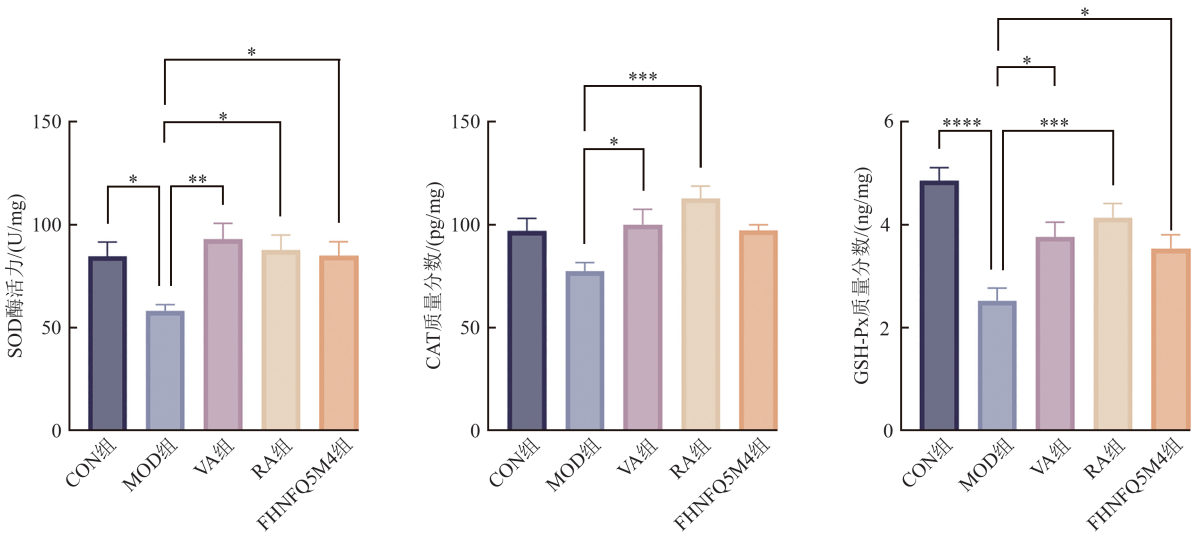
图4　青春双歧杆菌FHNFQ5M4对结肠炎小鼠结肠中细胞因子及RA水平的影响

Fig. 4　Effects of *Bifidobacterium adolescentis* FHNFQ5M4 on cytokine and RA levels in the colonic tissue of colitis mice

相较于MOD组，补充青春双歧杆菌FHNFQ5M4使小鼠结肠中的IL-10质量分数增加了31.19%（$P$<0.01）、RA质量分数增加了28.13%（$P$<0.05），TNF-α质量分数降低了21.56%（$P$<0.05），IL-6质量分数降低了35.90%（$P$<0.05）。TNF-α水平的升高会加剧UC患者的肠道炎症反应[30]。而IL-6作为一种常见的促炎因子，可与TGF-β协同作用，诱导Th17细胞分化，进而产生一系列促炎信号。与此同时，Th17细胞本身也可分泌IL-6和TNF-α，进一步加剧炎症反应。已有研究表明，RA可抑制与结肠炎相关的Th17细胞反应，并促进调节性T细胞（Treg）的分化，后者可分泌IL-10等抗炎因子，从而调控免疫炎症反应。此外，适量的RA以及较低质量分数的IL-6有利于诱导性调节性T细胞（iTreg）的生成[31]。因此，本研究结果与此前的研究结果一致：微生物产生的RA可提高宿主结肠的RA水平，进而调节肠道免疫状态——抑制Th17细胞活性，促进Treg细胞应答，降低TNF-α和IL-6的分泌，并提升IL-10的表达[19]。

### 2.5　青春双歧杆菌FHNFQ5M4对结肠炎小鼠结肠中抗氧化酶的影响

如图5所示，MOD组小鼠结肠组织中的GSH-Px质量分数及SOD酶活力显著低于CON组小鼠，分别降低了48.73%（$P$<0.000 1）、31.25%（$P$<0.05）。与MOD组相比，经VA以及RA处理后，小




与MOD组相比，*—$P$<0.05，**—$P$<0.01，***—$P$<0.001，****—$P$<0.000 1。

图 5　青春双歧杆菌 FHNFQ5M4 对结肠炎小鼠结肠中抗氧化酶的影响

Fig. 5　Effects of *Bifidobacterium adolescentis* FHNFQ5M4 on antioxidant enzymes in the colonic tissue of colitis mice

鼠结肠组织中的 SOD 酶活力分别增加了 59.35%（$P$<0.01）、50.62%（$P$<0.05），同时，结肠组织中抗氧化酶 CAT 质量分数分别增加了 29.06%（$P$<0.05）、45.35%（$P$<0.001），GSH-Px 质量分数分别增加了 49.46%（$P$<0.05）、64.32%（$P$<0.001）。补充青春双歧杆菌 FHNFQ5M4 后，结肠炎小鼠较 MOD 组小鼠结肠组织的 SOD 酶活力增加了 45.88%（$P$<0.05），GSH-Px 质量分数增加了 40.57%（$P$<0.05），CAT 质量分数表现出上升趋势，增加了 25.32%，但不具有统计学意义。GSH-Px、SOD、CAT 是体内的抗氧化酶，具有清除体内氧自由基的能力，是氧化应激反应程度的基本指标[32-33]。GSH-Px、SOD、CAT 的水平或酶活力降低意味着抗氧化能力的减弱，导致体内氧自由基积累，最终引发组织和细胞损伤并诱导炎症发生[34]。VA、RA 具有与过氧自由基结合的能力，是有效的过氧自由基清除剂[35-36]。VA 以及 RA 的补充有效缓解了结肠炎小鼠的氧化应激。侯千暠等[20]研究表明，青春双歧杆菌具备抗氧化能力，与本研究结果一致：青春双歧杆菌 FHNFQ5M4 可在一定程度上缓解结肠炎导致的结肠部位的氧化应激。

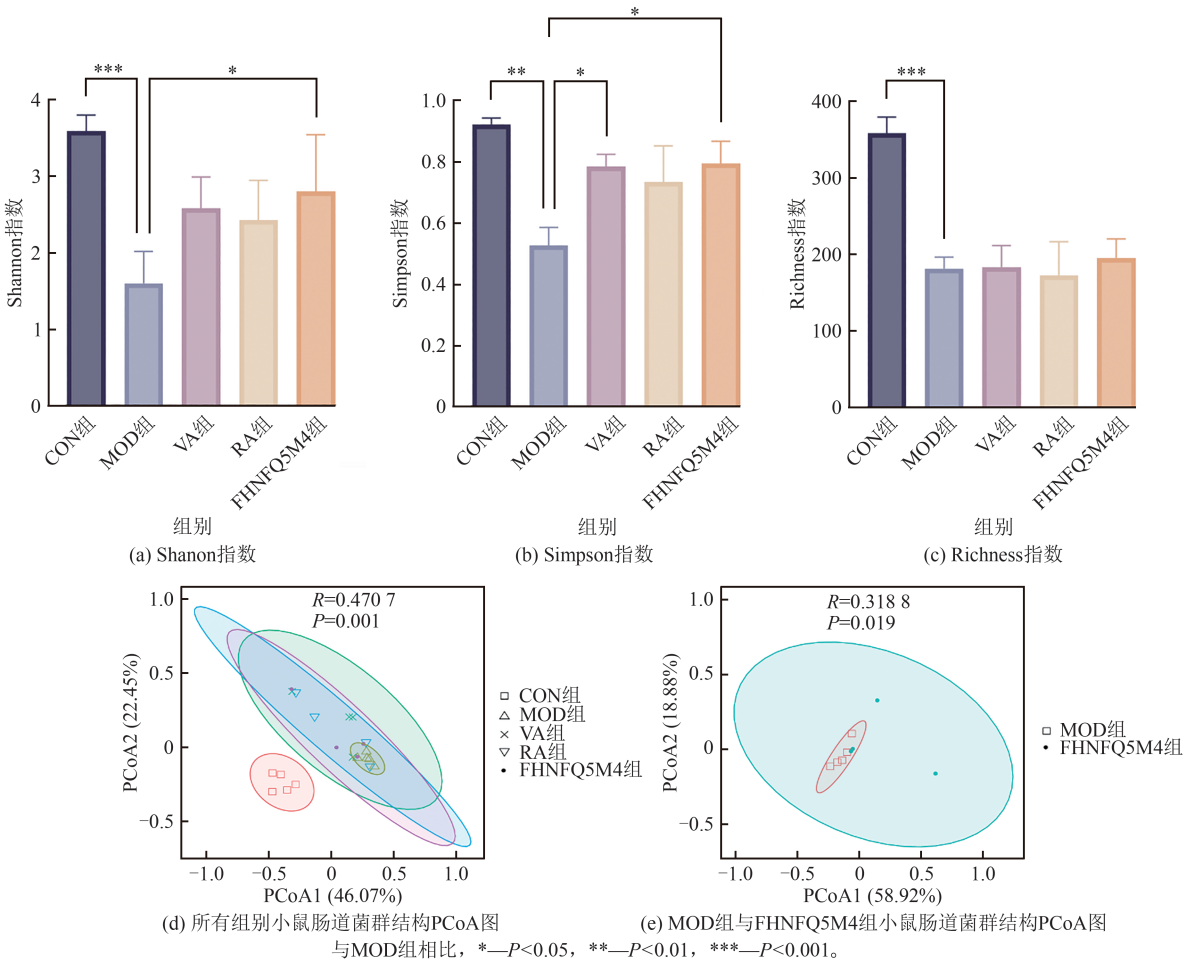
### 2.6　青春双歧杆菌 FHNFQ5M4 对结肠炎小鼠肠道菌群的影响

#### 2.6.1　青春双歧杆菌 FHNFQ5M4 对结肠炎小鼠肠道菌群多样性的影响

如图 6（a）~（c）所示，与 CON 组相比，MOD 组中 Shannon 指数、Simpson 指数以及 Richness 指数显著降低，$P$ 值分别为：$P$<0.001、$P$<0.01、$P$<0.001。与 MOD 组相比，FHNFQ5M4 组的 Shannon 指数、Simpson 指数显著增加（$P$<0.05）。Shannon 指数、Simpson 指数分别反映了样本的物种丰富度和均匀度，它们的增加表明肠道菌群中物种多样性的增加[37]。Fan 等[21]发现青春双歧杆菌的干预有效缓解了 DSS 诱导后肠道菌群多样性的减少，与本研究结果一致。基于 Bray-Curtis 距离的主坐标分析（PCoA）结果见图 6（d）~（e），MOD 组与 CON 组在 β 多样性上存在显著差异（$P$<0.05）。因此，研究结果表明青春双歧杆菌 FHNFQ5M4 干预后，结肠炎小鼠的肠道菌群结构发生显著变化（$R$=0.318 8，$P$=0.019）。

#### 2.6.2　青春双歧杆菌 FHNFQ5M4 对结肠炎小鼠肠道菌群组成的影响

如图 7（a）所示，小鼠肠道菌群主要由厚壁菌门（Firmicutes）、拟杆菌门（Bacteroidota）、变形菌门（Proteobacteria）、疣微菌门（Verrucomicrobia）组成。与 CON 组小鼠相比，DSS 诱导的结肠炎小鼠肠道菌群中 Firmicutes 相对丰度显著增加，Bacteroidota 相对丰度显著降低（$P$<0.05）。补充 VA 显著降低了结肠炎小鼠的 Firmicutes 相对丰度，并增加了 Bacteroidota 的相对丰度（$P$<0.05）。相较于 MOD 组，RA 以及青春双歧杆菌 FHNFQ5M4




与MOD组相比，*—$P$<0.05，**—$P$<0.01，***—$P$<0.001。

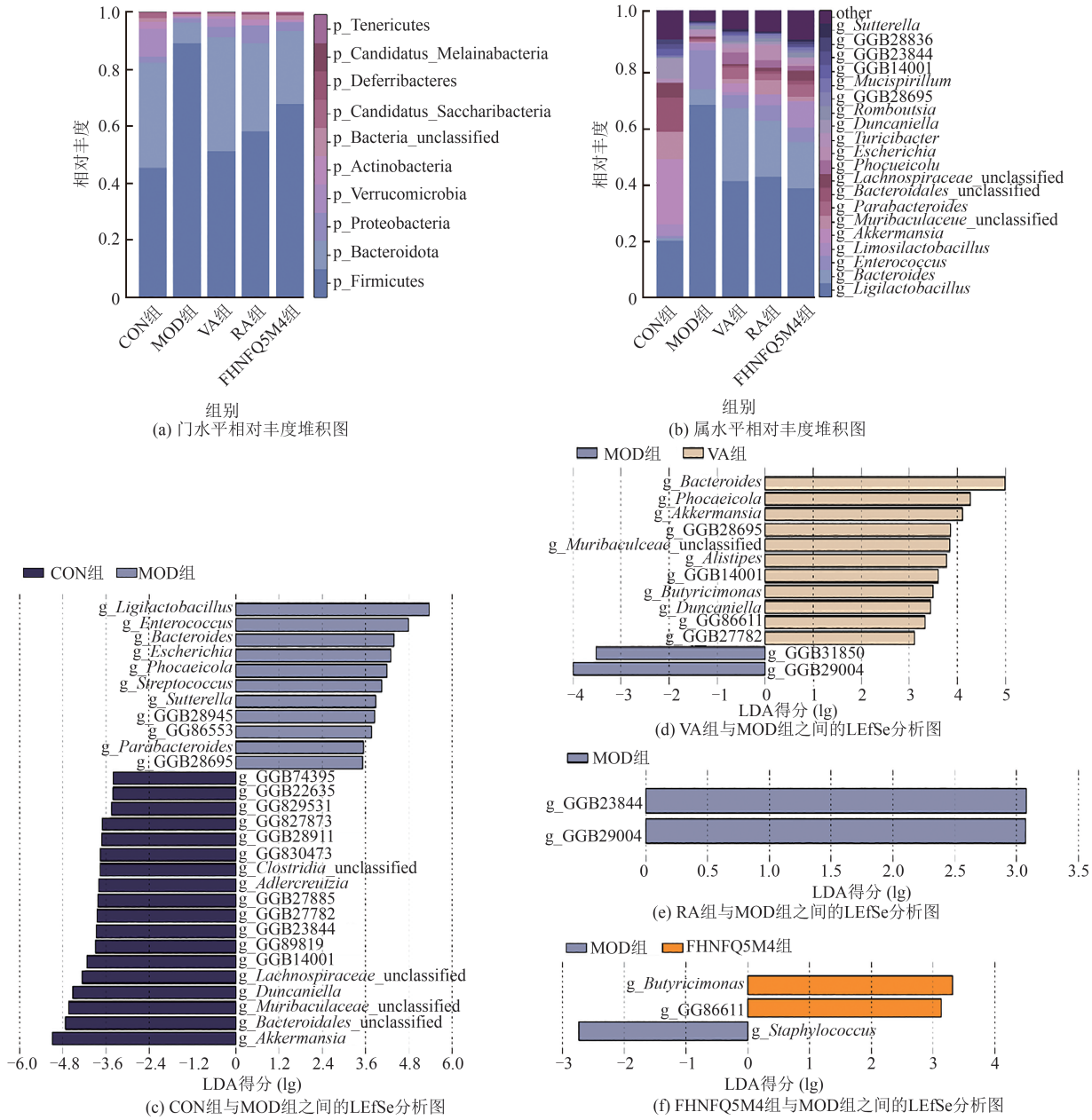
图6　青春双歧杆菌FHNFQ5M4对结肠炎小鼠肠道菌群多样性的影响

Fig. 6　Effects of *Bifidobacterium adolescentis* FHNFQ5M4 on gut microbiota diversity in colitis mice

的干预使得结肠炎小鼠肠道菌群中Firmicutes相对丰度减少，Bacteroidota相对丰度增加，但不具有统计学意义。如图7(b)所示，在属水平上，相较CON组，联合乳杆菌属(*Ligilactobacillus*)相对丰度在DSS诱导的结肠炎小鼠中显著增加($P$<0.01)。在结肠炎小鼠接受VA、RA或青春双歧杆菌FHNFQ5M4的干预后，*Ligilactobacillus*相对丰度减少，而拟杆菌属(*Bacteroides*)相对丰度增加。

LEfSe分析见图7(c)~(f)，相较于CON组，*Ligilactobacillus*、肠球菌属(*Enterococcus*)、*Bacteroides*、埃希氏菌属(*Escherichia*)等在MOD组中表现出更高的相对丰度，而阿克曼氏菌属(*Akkermansia*)、邓肯氏菌属(*Duncaniella*)在CON组中相对丰度更高。VA组中*Akkermansia*和*Duncaniella*相对丰度较高，且具有较高相对丰度的丁酸单胞菌属(*Butyricimonas*)。补充青春双歧杆菌FHNFQ5M4使得结肠炎小鼠中*Butyricimonas*的相对丰度上升，且葡萄球菌属(*Staphylococcus*)的相对丰度降低。

青春双歧杆菌FHNFQ5M4的干预与补充VA的效果类似，使结肠炎小鼠富集了*Butyricimonas*，这与先前的研究结果一致。Zhang等[38]在研究中发现，将健康小鼠的粪便移植给结肠炎小鼠可有效缓解其症状，并使其肠道内富集更多的*Butyricimonas*，而该菌是短链脂肪酸的主要生产者。Pang等[17]研究表明，VA补充剂以肠道微生物群依赖性方式改善UC，短链脂肪酸(除戊酸外)在VA干预的结肠炎小鼠肠道中富集。*Staphylococcus*的相对丰度与肠道炎症正相关，当结肠炎缓解时，其相对丰度通常降低[39]。Xu等[40]在研究中发现，丁酸梭菌通过丁酸盐调节结肠视黄醇代谢，并提高结肠组织中RA水平，缓解结肠炎。因此，青春双歧杆菌FHNFQ5M4可能通过增强VA的生理活性来缓解结肠炎。




(a) 门水平相对丰度堆积图　(b) 属水平相对丰度堆积图

(d) VA组与MOD组之间的LEfSe分析图

(c) CON组与MOD组之间的LEfSe分析图

(e) RA组与MOD组之间的LEfSe分析图

(f) FHNFQ5M4组与MOD组之间的LEfSe分析图

图 7　青春双歧杆菌 FHNFQ5M4 对结肠炎小鼠肠道菌群组成的影响

Fig. 7　Effects of *Bifidobacterium adolescentis* FHNFQ5M4 on gut microbiota composition in colitis mice

## 3　结论

作者通过体外发酵试验验证了青春双歧杆菌代谢 VA 产生 RA 的能力，并筛选了一株青春双歧杆菌 FHNFQ5M4，将其灌胃于 DSS 诱导的 UC 小鼠。通过试剂盒检测以及宏基因组测序等方法，研究了青春双歧杆菌 FHNFQ5M4 对结肠炎小鼠血清中肠道损伤标志物，结肠组织中 RA、抗氧化酶、细胞因子，粪便中肠道菌群的影响。青春双歧杆菌 FHNFQ5M4 的干预有效缓解了结肠炎小鼠的结肠缩短、结肠损伤，降低了血清中 LBP 浓度、I-FABP 质量浓度、DAO 质量浓度，表明青春双歧杆菌 FHNFQ5M4 具有缓解肠道损伤、修复肠道屏障的能力。青春双歧杆菌 FHNFQ5M4 的干预降低了结肠组织中 TNF-α、IL-6 等促炎细胞因子质量分数，提高了抗炎因子 IL-10 质量分数，表明其在一定程度上具有调节肠道免疫、缓解肠道炎症的能力。青春双歧杆菌 FHNFQ5M4 的干预调节了结肠抗氧化能力，提高了 SOD 酶活力和 GSH-Px 质量分数，表明青春双歧杆菌 FHNFQ5M4 能够增强肠道抗氧化能力、缓解肠道氧化应激。其效果与 VA 类

似，青春双歧杆菌FHNFQ5M4可以调节肠道菌群，增加丁酸单胞菌等有益菌属的相对丰度，同时提高结肠中RA的水平，最终缓解结肠炎小鼠的肠道菌群紊乱。综上，青春双歧杆菌FHNFQ5M4对DSS诱导的小鼠结肠炎具有良好的缓解作用，可能是通过调节肠道菌群，借助微生物产生的RA影响宿主体内RA水平，从而调节肠道细胞因子水平以及氧化应激状态，但青春双歧杆菌FHNFQ5M4究竟如何影响VA相关基因表达及其作用通路，仍需进一步深入研究。

## 参考文献


[1] VAN DER LELIE D，OKA A，TAGHAVI S，et al. Rationally designed bacterial consortia to treat chronic immune-mediated colitis and restore intestinal homeostasis[J]. Nature Communications，2021，12：3105.

[2] HONG L W，CHEN G X，CAI Z W，et al. Balancing microthrombosis and inflammation *via* injectable protein hydrogel for inflammatory bowel disease[J]. Advanced Science，2022，9(20)：2200281.

[3] BARBALHO S M，GOULART R D A，BATISTA G L D S A. Vitamin A and inflammatory bowel diseases：from cellular studies and animal models to human disease[J]. Expert Review of Gastroenterology & Hepatology，2019，13(1)：25-35.

[4] XU L，HE B J，SUN Y X，et al. Incidence of inflammatory bowel disease in urban China：a nationwide population-based study[J]. Clinical Gastroenterology and Hepatology，2023，21(13)：3379-3386.

[5] LE BERRE C，HONAP S，PEYRIN-BIROULET L. Ulcerative colitis[J]. The Lancet，2023，402(10401)：571-584.

[6] LI S Y，JIN Y S，FU W Y，et al. Intermittent antibiotic treatment accelerated the development of colitis in IL-10 knockout mice[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy，2022，146：112486.

[7] OZKUL C，RUIZ V E，BATTAGLIA T，et al. A single early-in-life antibiotic course increases susceptibility to DSS-induced colitis[J]. Genome Medicine，2020，12(1)：65.

[8] DUAN X Y，WU R，LI J B，et al. Studies on the alleviating effect of *Bifidobacterium lactis* V9 on dextran sodium sulfate-induced colitis in mice[J]. Frontiers in Medicine，2025，12：1496023.

[9] WU L L，XUE L X，DING X，et al. Integrated microbiome and metabolomics analysis reveals the alleviating effect of *Pediococcus acidilactici* on colitis[J]. Frontiers in Veterinary Science，2025，12：1520678.

[10] HUANG Y L，YANG C，FU B M，et al. Impact of *Ligilactobacillus salivarius* Li01 on benzo[*a*]pyrene-induced colitis，based on host-microbiome interactions in Mongolian gerbils[J]. Frontiers in Nutrition，2025，12：1494525.

[11] VINDIGNI S M，ZISMAN T L，SUSKIND D L，et al. The intestinal microbiome，barrier function，and immune system in inflammatory bowel disease：a tripartite pathophysiological circuit with implications for new therapeutic directions[J]. Therapeutic Advances in Gastroenterology，2016，9(4)：606-625.

[12] 赵丽霞，刘文俊. 母乳中乳酸菌多样性及益生菌开发利用研究进展[J]. 食品与生物技术学报，2024，43(4)：25-34.
ZHAO L X，LIU W J. Research progress on diversity of lactic acid bacteria and probiotics exploitation in breast milk[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2024，43(4)：25-34.(in Chinese)

[13] 兰潇文，赵建新，陈卫，等. 益生菌-维生素D-肌醇对小鼠妊娠期糖尿病的协同改善作用[J]. 食品与生物技术学报，2024，43(10)：65-77.
LAN X W，ZHAO J X，CHEN W，et al. Synergistic effects of probiotic-vitamin D-inositol combination intervention on gestational diabetes mellitus on mice[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2024，43(10)：65-77.(in Chinese)

[14] BONAKDAR M，CZUBA L C，HAN G，et al. Gut commensals expand vitamin A metabolic capacity of the mammalian host[J]. Cell Host & Microbe，2022，30(8)：1084-1092.

[15] TAKAHASHI N，SAITO D，HASEGAWA S，et al. Vitamin A in health care：suppression of growth and induction of differentiation in cancer cells by vitamin A and its derivatives and their mechanisms of action[J]. Pharmacology & Therapeutics，2022，230：107942.

[16] GATTU S，BANG Y J，PENDSE M，et al. Epithelial retinoic acid receptor β regulates serum amyloid A expression and vitamin A-dependent intestinal immunity[J]. PNAS，2019，116(22)：10911-10916.

[17] PANG B，JIN H，LIAO N，et al. Vitamin A supplementation ameliorates ulcerative colitis in gut microbiota-dependent manner[J]. Food Research International，2021，148：110568.

[18] WOO V，ESHLEMAN E M，HASHIMOTO-HILL S，et al. Commensal segmented filamentous bacteria-derived retinoic acid primes host defense to intestinal infection[J]. Cell Host & Microbe，2021，29(12)：1744-1756.

[19] WANG Q W，JIA D J C，HE J M，et al. *Lactobacillus intestinalis* primes epithelial cells to suppress colitis-related Th17 response by host-microbe retinoic acid biosynthesis[J]. Advanced Science，2023，10(36)：

2303457.

[20] 侯千暠，胡静怡，黄钻元，等. 青春双歧杆菌对溃疡性结肠炎小鼠的缓解作用[J]. 微生物学报，2024，64(12)：4833-4849.
HOU Q H，HU J Y，HUANG Z Y，et al. *Bifidobacterium adolescentis* alleviates ulcerative colitis in mice[J]. Acta Microbiologica Sinica，2024，64(12)：4833-4849.(in Chinese)

[21] FAN L N，QI Y D，QU S W，et al. *B. adolescentis* ameliorates chronic colitis by regulating Treg/Th2 response and gut microbiota remodeling[J]. Gut Microbes，2021，13(1)：e1826746.

[22] MA W W，WU Y N，LIN X Y，et al. Amelioration of inflammatory bowel disease by *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* XLTG11 in combination with mesalazine[J]. Frontiers in Microbiology，2024，15：1472776.

[23] MAO B Y，GUO W L，CUI S M，et al. *Blautia producta* displays potential probiotic properties against dextran sulfate sodium-induced colitis in mice[J]. Food Science and Human Wellness，2024，13(2)：709-720.

[24] HONG K，ZHANG Y，GUO Y，et al. All-trans retinoic acid attenuates experimental colitis through inhibition of NF-κB signaling[J]. Immunology Letters，2014，162(1)：34-40.

[25] DURANTI S，RUIZ L，LUGLI G A，et al. *Bifidobacterium adolescentis* as a key member of the human gut microbiota in the production of GABA[J]. Scientific Reports，2020，10：14112.

[26] GHADIMI D，DE VRESE M，EBSEN M，et al. Study on the additive protective effect of PGLYRP3 and *Bifidobacterium adolescentis* Reuter 1963 on severity of DSS-induced colitis in Pglyrp3 knockout (Pglyrp3 −/−) and wild-type (WT) mice[J]. Immunobiology，2021，226(1)：152028.

[27] LI G H，ZHANG Y P，TANG J L，et al. Effects of berberine against radiation-induced intestinal injury in mice [J]. International Journal of Radiation Oncology-Biology-Physics，2010，77(5)：1536-1544.

[28] TURGUNOV Y，OGIZBAYEVA A，SHAKEYEV K，et al. The dynamics of the lipopolysaccharide-binding protein (LBP) level in assessing the risk of adverse outcomes in operated colorectal cancer patients[J]. Asian Journal of Surgery，2024，47(8)：3435-3441.

[29] GUTIERREZ B，GALLARDO I，RUIZ L，et al. Oleanolic acid ameliorates intestinal alterations associated with EAE[J]. Journal of Neuroinflammation，2020，17(1)：363.

[30] NEURATH M F. Current and emerging therapeutic targets for IBD[J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology，2017，14(5)：269-278.

[31] ROSS A C. Vitamin A and retinoic acid in T cell-related immunity[J]. The American Journal of Clinical Nutrition，2012，96(5)：1166S-1172S.

[32] YE Y W，DENG X Y，YANG L L，et al. Structural characteristics of *Phaeodactylum tricornutum* polysaccharides and the effects on DSS-induced colitis *via* improving the intestinal barrier and modulating the gut microbiota[J]. International Journal of Biological Macromolecules，2025，316(2)：144685.

[33] MA J P，WU D Y，XU C，et al. *Lactobacillus salivarius* alleviated dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice by mitigating oxidative stress and inflammatory responses through modulation of the intestinal flora[J]. Microbial Pathogenesis，2025，205：107696.

[34] LIU X Y，ZHANG M J，CHEN S，et al. *Grifola frondosa* polysaccharide's therapeutic potential in oxazolone-induced ulcerative colitis[J]. Carbohydrate Polymers，2024，344：122517.

[35] CHIBUYE B，SINGH I S，RAMASAMY S，et al. Natural antioxidants：a comprehensive elucidation of their sources，mechanisms，and applications in health[J]. Next Research，2024，1(2)：100086.

[36] PALACE V P，KHAPER N，QIN Q N，et al. Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease[J]. Free Radical Biology and Medicine，1999，26(5/6)：746-761.

[37] SUN C C，WANG Y Q，WANG X Y，et al. Synergistic effect of 2'-fucosyllactose or galactooligosaccharide with *Bifidobacterium bifidum* DNG6 improves the intestinal barrier by modulating the SCFAs-TLR4/NF-κB cascade response in DSS-induced colitis in mice [J]. Food Bioscience，2025，64：105814.

[38] ZHANG W Y，ZOU G L，LI B，et al. Fecal microbiota transplantation (FMT) alleviates experimental colitis in mice by gut microbiota regulation [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology，2020，30(8)：1132-1141.

[39] YANG D，LI M M，XU H X，et al. Retrograded starch as colonic delivery carrier of taxifolin for treatment of DSS-induced ulcerative colitis in mice[J]. International Journal of Biological Macromolecules，2025，288：138602.

[40] XU J，XU H M，LI J H，et al. *Clostridium butyricum*-induced balance in colonic retinol metabolism and short-chain fatty acid levels inhibit IgA-related mucosal immunity and relieve colitis developments [J]. Microbiological Research，2025，298：128203.

（责任编辑：周玥）