

益生菌及后生元对胃部幽门螺杆菌感染的改善作用

梁家瑞¹, 温明赫¹, 陈玮萱¹, 蒲小平², 闫中平², 原田³, 刘志刚^{1,4*}

(1. 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西杨凌 712100) (2. 四川高福记生物科技有限公司, 四川成都 611732) (3. 西北农林科技大学化学与药学院, 陕西杨凌 712100) (4. 西北农林科技大学深圳研究院, 广东深圳 518000)

摘要: 幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, *H. pylori*) 感染是诱发慢性胃炎的主要病因, 基于益生菌的饮食干预可能会抑制 *H. pylori* 的定殖水平。该研究通过灌胃 *H. pylori* 建立小鼠胃部感染模型, 探究植物乳杆菌 543、副干酪乳杆菌 S6 以及植物乳杆菌 LP220 后生元对小鼠胃部 *H. pylori* 感染的抑制作用。结果表明: 模型组胃部 *H. pylori* 活菌数为 9.69 lg CFU/g, 植物乳杆菌 543、副干酪乳杆菌 S6 以及后生元处理后小鼠胃部 *H. pylori* 的活菌数显著降低 ($P<0.01$), 分别为 7.22、7.89 和 7.19 lg CFU/g。三种处理也显著降低了模型组小鼠胃黏膜厚度 ($P<0.05$), 改善了胃组织结构损伤。另外, 副干酪乳杆菌 S6 和后生元组小鼠胃组织中 *H. pylori* 毒力因子和肿瘤坏死因子- α 等炎症因子的 mRNA 水平均受到相应的抑制, 而在植物乳杆菌 543 组未观察到此现象。综上, 植物乳杆菌 543 和副干酪乳杆菌 S6 及后生元对 *H. pylori* 感染均具有抑制作用, 且副干酪乳杆菌 S6 和后生元对胃组织的炎症反应和 *H. pylori* 毒力因子水平的改善效果优于植物乳杆菌 543。该研究结果为益生菌和后生元作为营养干预改善 *H. pylori* 感染引起的慢性胃炎提供了新的依据。

关键词: 益生菌; 后生元; 幽门螺杆菌感染; 胃部炎症

文章编号: 1673-9078(2025)07-101-108

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.7.0686

Efficacy of Probiotics and Postbiotics in Alleviating *Helicobacter pylori* Infection of the Stomach

LIANG Jiarui¹, WEN Minghe¹, CHEN Weixuan¹, PU Xiaoping², LYU Zhongping², YUAN Tian³, LIU Zhigang^{1,4*}

(1.College of Food Science and Engineering, Northwest Agriculture and Forest University, Yangling 712100, China)

(2.Sichuan Gaofuji Biotechnology Co. Ltd., Chengdu 611732, China)

(3.College of Chemistry and Pharmacy, Northwest Agriculture and Forest University, Yangling 712100, China)

(4.Shenzhen Research Institute, Northwest Agriculture and Forest University, Shenzhen 518000, China)

Abstract: *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection is the main cause of chronic gastritis, and dietary interventions with probiotics may inhibit *H. pylori* colonization. A mouse model of gastric *H. pylori* infection via oral gavage to explore the inhibitory efficacy of *Lactobacillus plantarum* 543, *Lactobacillus paracasei* S6, and postbiotics derived from *Lactobacillus*

引文格式:

梁家瑞,温明赫,陈玮萱,等.益生菌及后生元对胃部幽门螺杆菌感染的改善作用[J].现代食品科技,2025,41(7):101-108.

LIANG Jiarui, WEN Minghe, CHEN Weixuan, et al. Efficacy of probiotics and postbiotics in alleviating *Helicobacter pylori* infection of the stomach [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(7): 101-108.

收稿日期: 2024-05-17

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (82103842); 深圳华大生命科学研究院开放基金项目 (BGIRSZ20220009); 深圳市科技计划资助 (JCYJ20220818102810022)

作者简介: 梁家瑞 (1999-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品营养与健康, E-mail: liangjiarui@nwafu.edu.cn

通讯作者: 刘志刚 (1988-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品营养与人类健康, E-mail: zhigangliu@nwafu.edu.cn

plantarum LP220 on gastric infection by *H. pylori* in mice was established. The gastric viable *H. pylori* count in the model group was 9.69 log CFU/g. Treatments with *Lactobacillus plantarum* 543, *Lactobacillus paracasei* S6, and postbiotics significantly reduced the respective viable *H. pylori* counts in mouse stomachs to 7.22, 7.89, and 7.19 log CFU/g ($P<0.01$). These three treatments also significantly reduced gastric mucosal thickness ($P<0.05$) in the model group and alleviated structural damage in gastric tissues. Additionally, the mRNA levels of *H. pylori* virulence factors and inflammatory factors including tumor necrosis factor- α (TNF- α) in gastric tissues were notably suppressed after treatments with *Lactobacillus paracasei* S6 and postbiotics, while this was not observed with *Lactobacillus plantarum* 543 exposure. In conclusion, *Lactobacillus plantarum* 543, *Lactobacillus paracasei* S6, and postbiotics all inhibit *H. pylori* infection, with *Lactobacillus paracasei* S6 and postbiotics demonstrating superior efficacy in mitigating gastric inflammation and reducing *H. pylori* virulence factor expression, compared to *Lactobacillus plantarum* 543. These findings provide new evidence supporting the use of probiotics and postbiotics as nutritional interventions to ameliorate chronic gastritis induced by *H. pylori* infection.

Key words: probiotics; postbiotics; *Helicobacter pylori* infection; gastric inflammation

幽门螺旋杆菌 (*Helicobacter pylori*, *H. pylori*) 是全球范围内最普遍的细菌感染之一, *H. pylori* 感染会引起慢性胃炎, 并增加溃疡病、胃腺癌和黏膜相关淋巴瘤的风险^[1]。研究表明约 85% 的 *H. pylori* 感染者只有轻微胃炎或无症状, 但仍有 15% 的感染者可能发展为慢性胃炎或其他胃肠道疾病, 并且中国居民 *H. pylori* 的感染率已经超过 80%^[2,3]。*H. pylori* 是一种微好氧、螺旋形的革兰氏阴性病原体, 其成功定殖人体后难以自发清除, 因此临床上通常采用多联抗生素根除治疗^[4]。而随着抗生素耐药性的增加以及恶心、腹泻等副作用的产生^[5], 目前亟待寻找到新的干预策略。益生菌能够通过调节肠道微生态平衡、竞争性抑制 *H. pylori* 定殖和增强宿主免疫功能等机制发挥作用^[6]。因此在 *H. pylori* 感染率不断增加的情况下, 补充益生菌干预值得进一步探索。

益生菌被定义为活性微生物, 适量摄入可对宿主健康产生有益影响。益生菌具有调节免疫和抗炎作用, 已被用于治疗一系列胃肠道疾病如炎症性肠病、乳糜泻、肠易激综合征等, 并对 *H. pylori* 感染具有潜在的抑制作用^[7]。一些益生菌如乳酸菌属可以定殖于人类胃部, 并直接或间接抑制 *H. pylori* 的定殖^[2]。乳酸菌在自然界中分布广泛, 可进一步分为植物乳杆菌、副干酪乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、保加利亚乳杆菌等。植物乳杆菌通过抑制病原菌的繁殖, 调节肠道微生物的组成从而发挥保护作用^[8]。植物乳杆菌 543 是一株从四川成都农家酸豇头中筛选分离得到的, 具有广泛的碳源利用能力且耐受胃酸、胆盐的益生菌。前期研究发现, 植物乳杆菌 543 显著降低血清炎症因子水平, 缓解高脂饮食引

起的小鼠肠道屏障渗漏, 具有调节免疫、抑制炎症反应的健康功效^[9]。副干酪乳杆菌 S6 从四川宜宾农家发酵芽菜中筛选分离得到, 前期研究发现其具有非常好的胃酸、胆盐耐受性, 适于口服。但植物乳杆菌 543 和副干酪乳杆菌 S6 对 *H. pylori* 感染的抑制作用尚不清楚。

而目前益生菌在加工和使用过程中仍然存在一定问题, 例如在向免疫力下降的老年人和急性期患者等高危人群施用益生菌时, 应考虑使用活菌株相关的风险例如细菌易位^[10]。并且益生菌在制备运输储存过程中存活率低, 难以保证作用的正常发挥。而补充后生元可能是此类问题的解决方案。后生元是由灭活的菌体细胞、细菌裂解物及其代谢产物组成, 具有改善炎症、抑制氧化应激以及抗病原增殖等有益作用^[11]。前期通过体外试验研究发现, 由灭活的植物乳杆菌 LP220 制成的后生元对金黄色葡萄球菌等革兰氏阳性致病菌及大肠杆菌、幽门螺旋杆菌等革兰氏阴性致病菌均有良好的抑制作用^[12]。基于此通过小鼠体内试验研究植物乳杆菌 543、副干酪乳杆菌 S6 以及植物乳杆菌 LP220 后生元对 *H. pylori* 感染的改善作用。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

植物乳杆菌 543 菌粉、副干酪乳杆菌 S6 菌粉、灭活植物乳杆菌 LP220 菌粉 (简称为后生元), 四川高福记生物科技有限公司; *H. pylori* ATCC26695, 杭州宝赛生物科技有限公司; 脑心浸液 (Brain Heart

Infusion, BHI) 液体培养基, 青岛海博生物技术有限公司; 哥伦比亚血琼脂培养基, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 小鼠幽门螺旋杆菌 IgG 抗体 ELISA 试剂盒, 上海联迈生物工程有限公司; mRNA 提取试剂盒、SYBR Mix, 北京康为世纪生物有限公司。

1.1.2 仪器与设备

YXQ-LS-50A 立式压力蒸汽灭菌器, 上海博迅实业有限公司; BBS-SDC 超净工作台, 济南鑫贝西生物技术有限公司; DNP-9082 恒温培养箱, 上海精宏实验设备有限公司; IX71 倒置荧光显微镜, 日本 Olympus 公司; KZ-III-F 高速低温组织研磨仪, 武汉赛维尔生物科技有限公司; Model680 多功能酶标仪; QuantStudio®5 实时荧光定量 PCR 仪, 新加坡 ABI 公司; 核酸定量仪, 美国 Thermo Scientific 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 *H. pylori* 的培养

参考 Yu 等^[13]的研究方法, 将 *H. pylori* ATCC26695 株接种在哥伦比亚血琼脂培养基上, 然后在微需氧条件下孵育 48 h。随后用 BHI 液体培养基洗脱, 以获得 *H. pylori* ATCC26695 菌悬液。将该悬液接种到 5% 的 BHI 液体培养基中, 并在微需氧环境下过夜摇床培养。通过平板计数确定细菌含量, 并调节菌液浓度到 10^9 CFU/mL。

1.2.2 后生元的制备

取出冻存于 -80 °C 的植物乳杆菌 LP220 进行活化, 将活化得到的培养基菌种转接至发酵培养基中静置发酵, 直至发酵液 $OD_{600} \geq 8$ 时停止发酵并在 $100 \sim 120$ °C 下热灭活 5~10 min。随后将灭活后的发酵液经膜分子量 200~300 Da 的纳滤膜脱色、初级浓缩, 然后将初级浓缩液转入双效浓缩器进行双效真空浓缩, 将得到的浓缩液喷雾干燥后过筛得到后生元。

1.2.3 动物试验设计

试验选用 8 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠, 单笼饲养, 不限制饮食饮水。环境温度为 (22 ± 2) °C 湿度为 $50\% \pm 5\%$, 光照和黑暗时长均为 12 h。将小鼠分为 5 组, 每组 10 只, 分别为对照组、模型组、模型 + 植物乳杆菌 543 (*Lactobacillus plantarum* 543, L.PL 543) 组、模型 + 副干酪乳杆菌 S6 (*Lactobacillus paracasei* S6, L.PA S6) 组、模型 + 灭活植物乳杆菌 LP220 菌粉 (后生元) 组。适应性喂养一周后,

隔天灌胃幽门螺旋杆菌 (每只每天 10^9 CFU), 共计灌胃 5 次, 分别用 L.PL 543 (每只每天 6×10^8 CFU)、L.PA S6 (每只每天 6×10^8 CFU)、后生元 [$19.4 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$] 连续灌胃干预 14 d。对照组和模型组小鼠灌胃等体积生理盐水。干预结束后牺牲小鼠, 收集组织检测各项指标。根据《西北农林科技大学实验动物管理办法》, 本试验动物规程获得西北农林科技大学动物伦理委员会批准, 实验动物实验使用许可证编号 SYXK (陕) 2022-03。

1.2.4 *H. pylori* 定殖的测量

通过菌落形成法定量小鼠胃组织中的幽门螺杆菌感染水平^[14]。将胃组织收集到含有 400 μL 缓冲蛋白胨水的无酶管中, 称重后进行均质。将样品按梯度稀释后, 并将对应的未稀释溶液涂布在幽门螺杆菌固体培养基上。在 37 °C 的微需氧环境下培养 15 d 后计数菌落, 并计算小鼠每克胃组织的菌落形成单位数。

1.2.5 *H. pylori* 抗原检测

根据制造商的说明, 按照酶联免疫吸附 (ELISA) 试剂盒说明书方法测定胃部和粪便 *H. pylori* 抗原含量。所有样品均在 450 nm 吸光度下读取。

1.2.6 组织病理检测

胃组织切片脱蜡后, 进行苏木素染液染色 4 min, 然后经伊红染液染色 5 min, 经过脱水、透明及中性树脂封片, 显微镜下观察小鼠胃黏膜组织形态学变化。

1.2.7 实时定量 PCR

利用 mRNA 提取试剂盒和 mRNA 反转录试剂盒提取小鼠胃组织的总 RNA 并反转录合成 cDNA。采用 QuantStudio®5 仪器完成实时定量 PCR 实验, 以内源性基因 GAPDH 作为对照, 并记录阈值 (Ct), 使用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 方法计算相关基因表达的相对含量, 引物序列见表 1。

1.2.8 数据分析

试验数据以平均数 $\pm$ 标准误 (Mean $\pm$ SEM) 形式表示。采用 GraphPad Prism 9.0 进行组间差异性检验, 方差分析采用 One-way ANOVA, Turkey 检验。与对照组比较 $^{\#}P < 0.05$, $^{##}P < 0.01$, 与模型组比较 $^*P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ 。n.s. 表示 $P > 0.05$, 无显著性差异。组织病理学图片均采用 Image J 软件分析结果。

表 1 RT-qPCR引物序列
Table 1 Primer sequences used for RT-qPCR analysis

基因	上游引物序列 (5'-3')	下游引物序列 (5'-3')
<i>H. pylori</i> 16S rRNA 特异性引物	CTTAACCATAGAACTGCATTTGAAACTAC	GGTCGCCTTCGCAATGAGTA
<i>CagA</i>	ATAATGCTAAATTAGACAAC	TTAGAATAATCAACAAACATC
<i>VacA</i>	ATGCCGCCTTTTTCACAACC	TTAGCCCCCAGCCAAGAAG
<i>IL-10</i>	GCTCCAAGACCAAGGTGTCTACAA	CCGTTAGCTAAGATCCCTGGATCA
<i>IL-1β</i>	TGACGGACCCCAAAAGATGA	TCTCCACAGCCACAATGAGT
<i>TNF-α</i>	CTGGGTATCCTGTTAGCTGTG	GTACTGAGTGTGGGAATCTGG
<i>TLR4</i>	AGCAGGTGGAATTGTATCGC	TCAG GTCCAAGTTGCCGTTT
<i>GAPDH</i>	AGGTCGGTGTGAACGGATTTG	GGGGTCGTTGATGGCAACA

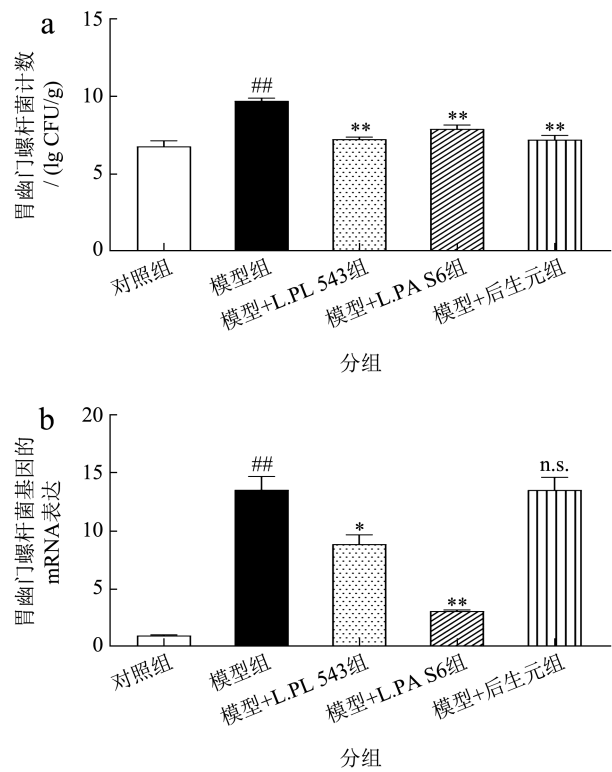
2 结果与讨论

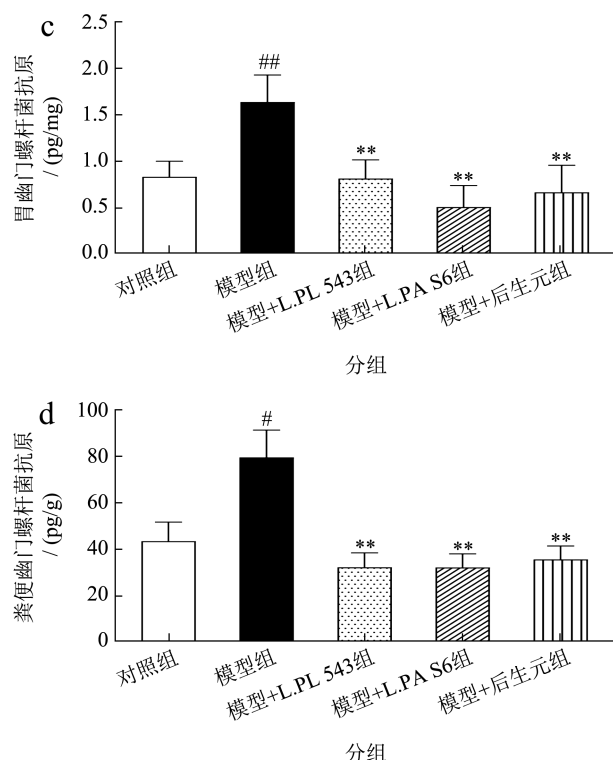
2.1 益生菌及后生元对于*H. pylori*感染小鼠体内细菌定殖的影响

由图 1 可知，模型组小鼠胃组织 *H. pylori* 的活菌数为 9.69 lg CFU/g，显著高于对照组 *H. pylori* 的活菌数 ($P<0.01$) (图 1a)。另外，与对照组相比模型组小鼠胃组织中 *H. pylori* 的 16S rRNA 特异性 mRNA 基因表达水平和抗原含量极显著增加 ($P<0.01$) (图 1b、c)，粪便中 *H. pylori* 抗原含量同样显著增加 ($P<0.05$) (图 1d)，以上结果表明 *H. pylori* 灌胃后 C57BL/6 小鼠成功感染。与模型组小鼠相比，模型 +L.PL 543 组小鼠胃组织中 *H. pylori* 的定殖数量 (25.49%)、抗原含量 (50.30%) 以及粪便中 *H. pylori* 抗原含量 (59.60%) 极显著降低 ($P<0.01$)；模型 +L.PA S6 组小鼠胃组织中 *H. pylori* 的定殖数量 (18.57%)、抗原含量 (69.32%) 以及粪便中 *H. pylori* 抗原含量 (59.74%) 极显著降低 ($P<0.01$)；模型 + 后生元组小鼠胃组织中 *H. pylori* 的定殖数量 (25.79%)、抗原含量 (59.50%) 以及粪便中 *H. pylori* 抗原含量 (55.41%) 极显著降低 ($P<0.01$)。与模型组小鼠相比，模型 +L.PL 543 组和模型 +L.PA S6 组小鼠胃组织中的 *H. pylori* 的 16S rRNA 特异性基因表达水平均显著降低 ($P<0.05$)，而模型 + 后生元组小鼠无显著性差异。以上结果表明补充益生菌 L.PL 543 和 L.PA S6 以及后生元均降低了模型组小鼠胃组织 *H. pylori* 的活菌数和抗原含量，且 L.PL 543 和 L.PA S6 对胃 *H. pylori* 基因表达水平的抑制作用更加明显。

研究表明，乳酸杆菌能够定殖于人体胃组织

中，通过抑制粘附直接与 *H. pylori* 竞争从而阻止 *H. pylori* 的持续定植^[15]。例如，罗伊氏乳杆菌通过竞争性结合硫苷脂受体来抑制 *H. pylori* 的附着。此外益生菌还可以通过产生抗菌物质或者短链脂肪酸来抑制 *H. pylori* 的生长^[16]。与其他研究发现补充嗜酸乳杆菌、植物乳杆菌和鼠李糖乳杆菌用以改善对胃组织 *H. pylori* 感染模型小鼠的结果相似^[17]。因此，补充益生菌 L.PL 543 和 L.PA S6 以及后生元可能通过与 *H. pylori* 竞争相应位点，同时产生短链脂肪酸和乳酸导致胃部环境不适合 *H. pylori* 生存，从而改善模型组小鼠胃组织和粪便 *H. pylori* 的感染程度。



图1 益生菌及后生元对 *H. pylori* 在小鼠体内定殖数量的影响Fig.1 Effect of probiotics and postbiotics on the number of *H. pylori* colonization in mice

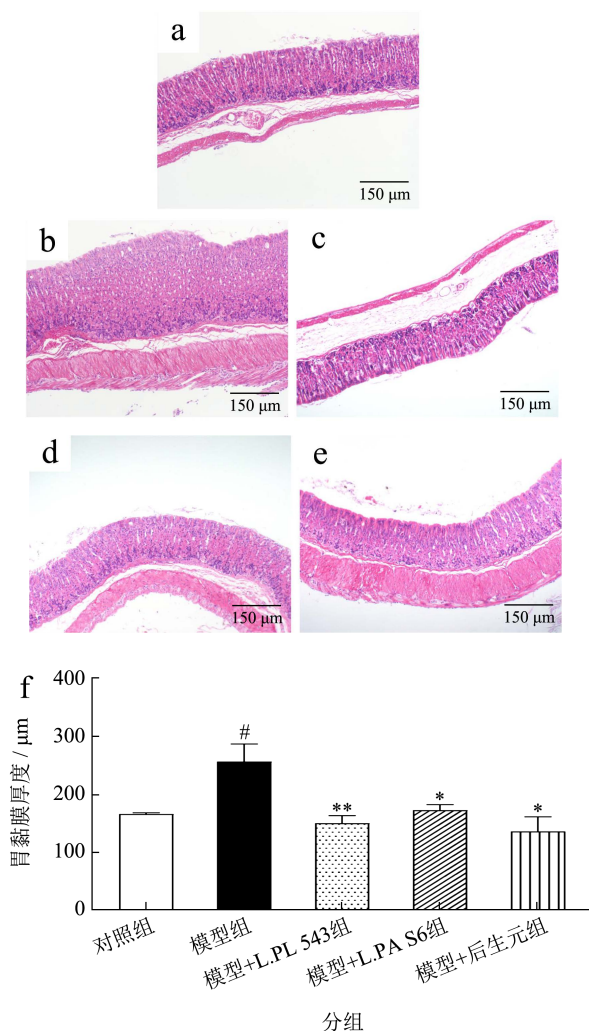
注: (a) 胃内定殖的 *H. pylori* 活菌数量; (b) 胃组织中 *H. pylori* 16S rRNA 表达水平; (c) 胃组织中 *H. pylori* 抗原含量; (d) 粪便中 *H. pylori* 抗原含量。与对照组比较 # $P < 0.05$, ### $P < 0.01$, 与模型组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。n.s. 表示 $P > 0.05$, 无显著性差异。

2.2 益生菌及后生元对于 *H. pylori* 感染小鼠胃组织病理情况的影响

H. pylori 感染后刺激胃上皮细胞发生炎症反应并产生各种促炎因子和趋化因子, 并通过氧化应激、DNA 甲基化、细胞增殖等病理过程介导胃上皮炎症反应, 引起胃上皮细胞正常形态变化和炎症浸润^[18]。如图 2a~2e 所示, 对照组小鼠胃上皮组织结构正常, 无明显炎症反应, 而模型组小鼠胃黏膜腺体萎缩和增生, 炎性细胞浸润。模型组小鼠胃黏膜厚度为 256.52 μm , 与对照组相比显著增厚 ($P < 0.05$)。模型 + L.PL 543 组、模型 + L.PA S6 组和模型 + 后生元组小鼠胃黏膜厚度分别为 150.16、172.65 和 135.94 μm , 与模型组小鼠相比均显著降低 ($P < 0.05$) (图 2f)。

研究表明, *H. pylori* 产生的尿素酶能够增加胃环境中的 pH 值, 并为 *H. pylori* 的定殖提供局部保护环境。尿素酶也能够激活单核细胞和多形核白细

胞影响宿主反应, 诱发胃黏膜炎症反应和上皮损伤^[19]。因此, *H. pylori* 感染诱发胃黏膜显著的炎症反应, 导致慢性感染和胃黏膜组织的持续损害, 如胃上皮组织炎性细胞浸润以及增生。另有研究表明嗜酸乳杆菌 NCFM 和植物乳杆菌 Lp-115 可以抑制体内 *H. pylori* 定殖并减轻胃部炎症, 缓解胃黏膜固有层炎症细胞浸润^[20]。因此, 补充益生菌 L.PL 543 和 L.PA S6 以及后生元可能通过产生乳酸和短链脂肪酸等有机酸, 降低胃环境 pH 值从而抑制胃部 *H. pylori* 的定殖水平, 改善胃黏膜结构损伤。

图2 益生菌及后生元对 *H. pylori* 感染小鼠胃组织病理情况的影响 (苏木素染色)Fig.2 Effects of probiotics and postbiotics on gastric tissue pathology in mice infected with *H. pylori*

注: (a) 对照组, (b) 模型组, (c) 模型 + L.PL 543 组, (d) 模型 + L.PA S6 组, (e) 模型组 + 后生元组。a~e 胃组织 H&E 病理染色; (f) 胃黏膜厚度。与对照组比较 # $P < 0.05$, 与模型组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

2.3 益生菌及后生元对 *H. pylori* 感染小鼠胃组织中 *H. pylori* 主要毒力因子表达的影响

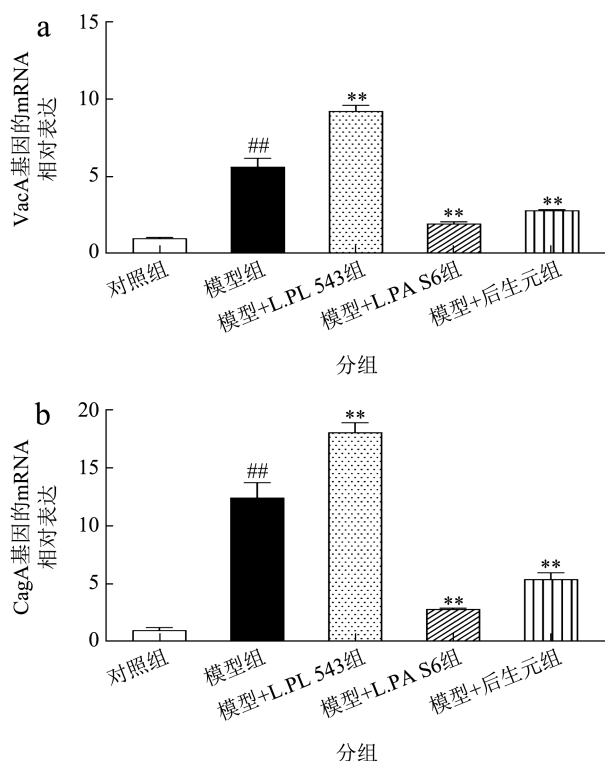


图3 益生菌及后生元对 VacA 和 CagA 在 *H. pylori* 感染小鼠胃组织中的 mRNA 表达水平的影响

Fig.3 Effects of probiotics and postbiotics on the mRNA expression levels of VacA and CagA in the gastric tissue of mice infected with *H. pylori*

注: 与对照组比较 ^{##} $P < 0.01$, 与模型组比较 ^{**} $P < 0.01$ 。

在 *H. pylori* 成功感染小鼠后, 用益生菌灌胃干预 14 d, 然后通过实时定量 PCR 检测胃组织中 *H. pylori* 主要毒力因子细胞毒素相关蛋白 A (Cytotoxin Associated Gene A, CagA) 和空泡毒素相关基因 A (Vacuolating Cytotoxin A, VacA) 的表达情况^[21]。结果如图 3a、3b 所示, 与对照组小鼠相比, 模型组小鼠胃组织中 CagA (约 5.63 倍) 与 VacA (约 12.41 倍) 的 mRNA 相对表达水平显著增加 ($P < 0.01$)。经过干预后, 模型 + L.PA S6 组小鼠 VacA (65.36%) 与 CagA (56.56%) 的 mRNA 相对表达水平显著降低 ($P < 0.01$), 模型 + 后生元组小鼠 VacA (77.35%) 与 CagA (50.26%) 的基因 mRNA 相对表达水平显著降低 ($P < 0.01$), 而模型 + L.PL 543 组小鼠 VacA 与 CagA 基因 mRNA 表达水平显著增加 ($P < 0.01$)。

多项研究表明, *H. pylori* 粘附于胃上皮细胞会诱导 CagA 的表达, 而 CagA 可以直接激活 NF- κ B

并诱导炎症介质的产生, 包括 IL-8、TNF- α 和一氧化氮 (NO), 这些介质与胃黏膜组织炎症和损伤密切相关^[22]。而 VacA 基因存在于所有的 *H. pylori* 菌株, 能够促进细胞中的自噬途径并诱导细胞内空泡的形成, 从而使 *H. pylori* 能够在宿主细胞中存活^[23]。因此, VacA 是细菌在胃上皮定植和存活的关键毒力因子之一。我们的结果发现补充益生菌 L.PA S6 和后生元后能够显著抑制模型组小鼠胃组织 CagA 和 VacA 的基因表达, 因此推测补充益生菌 L.PA S6 和后生元可能对 *H. pylori* 感染引起的胃部炎症反应具有抑制作用。而补充益生菌 L.PL 543 并不能降低 *H. pylori* 感染小鼠 CagA 和 VacA 的基因表达水平, 因此 L.PA S6 和后生元对模型组小鼠胃组织中 *H. pylori* 感染主要毒力因子的抑制效果优于 L.PL 543。

2.4 益生菌及后生元对 *H. pylori* 感染小鼠胃部炎症反应的影响

如图 4 所示, 与对照组小鼠相比, 模型组小鼠胃组织中白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β) (约 14.79 倍) (图 4a)、TNF- α (约 4.36 倍) (图 4c)、Toll 样受体 4 (Toll-like Receptor 4, TLR4) (约 1.51 倍) (图 4d) 等炎症因子的 mRNA 相对表达水平均显著升高 ($P < 0.01$), 并且白细胞介素-10 (Interleukin-10, IL-10) (约 1.25 倍) 的 mRNA 相对表达水平也显著升高 ($P < 0.05$) (图 4b)。而与模型组相比, 模型 + L.PL 543 组小鼠的 IL-10 (37.60%) 和 TLR4 (46.35%) 的相对表达水平显著降低 ($P < 0.01$), 而 TNF- α (约 1.92 倍) 的相对表达水平显著升高 ($P < 0.01$); 模型 + L.PA S6 小鼠的 IL-1 β (74.71%) 和 TNF- α (50.91%) 的相对表达水平显著降低 ($P < 0.01$), 而 IL-10 (约 1.48 倍) 的相对表达水平显著升高 ($P < 0.01$); 而在模型 + 后生元组小鼠中 IL-1 β (51.42%) 和 IL-10 (73.60%) 的 mRNA 表达水平均显著降低 ($P < 0.05$), 并且 TNF- α (29.81%) 和 TLR4 (64.23%) 的 mRNA 相对表达水平极显著降低 ($P < 0.01$)。

有研究表明 *H. pylori* 感染后 IL-8、TLR4、TNF- α 蛋白及 mRNA 表达水平上升^[24], 本研究结果发现补充 L.PA S6 和后生元降低模型组小鼠 TNF- α 和 IL-1 β 的 mRNA 表达, 而补充 L.PL 543 和后生元降低了 TLR-4 的 mRNA 表达。有意思的是, 补充 L.PL 543 反而增加了 *H. pylori* 感染组小鼠 TNF- α 的 mRNA 表达。研究表明一些植物乳杆菌具有免

疫刺激潜力,不同种属的乳酸菌的特异性免疫刺激效力可能是由于其细胞壁成分脂磷壁酸的结构差异所致^[25]。例如从植物乳杆菌 K55-5 中分离出的脂磷壁酸能够诱导巨噬细胞的激活并产生 TNF- α 等促炎细胞因子^[26]。因此 L.PL 543 增加 *H. pylori* 感染组小鼠胃组织中的 TNF- α 水平可能与其脂磷壁酸的结构有关,仍需要进一步试验验证以确定其具体机制。同样有研究表明 *H. pylori* 感染能够增加 IL-10 和 TLR4 的 mRNA 相对表达水平^[27],本研究结果发现补充 L.PL 543 能够降低 IL-10 和 TLR4 的 mRNA 表达,从而发挥对 *H. pylori* 感染的保护作用。以上结果表明,补充 L.PL 543 不能降低炎症因子 TNF- α 和 IL-1 β 的表达水平,因此 L.PA S6 和后生元对 *H. pylori* 感染引起的胃组织炎症反应的抑制效果优于 L.PL 543。

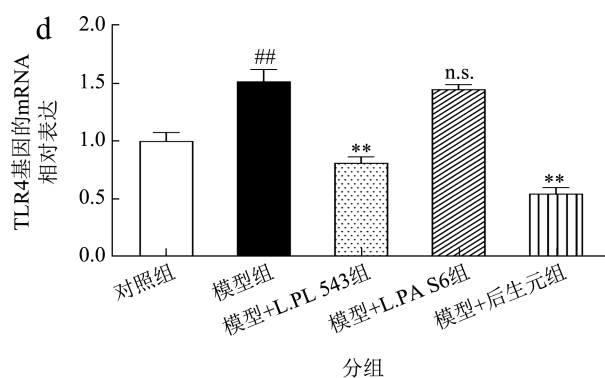
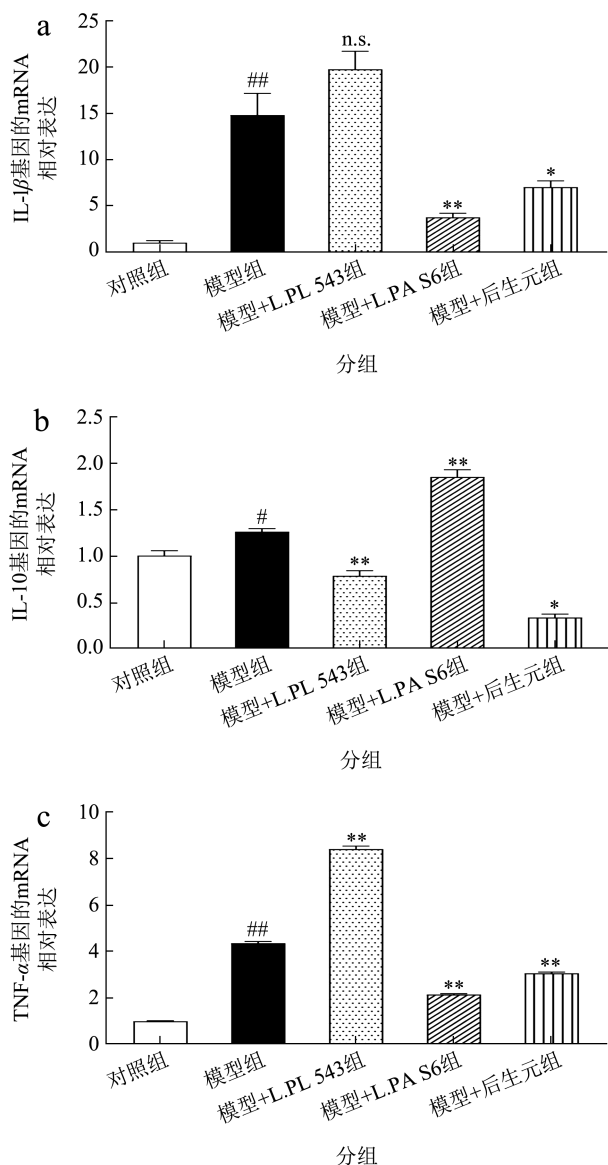


图4 益生菌及后生元对 *H. pylori* 感染小鼠胃组织中炎症因子 mRNA 表达水平的影响

Fig.4 Effects of probiotics and postbiotics on the expression levels of inflammatory factor mRNA in gastric tissue of mice infected with *H. pylori*

注: 与对照组比较 [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, 与模型组比较 ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$. n.s 表示 $P > 0.05$, 无显著性差异。

3 结论

益生菌 L.PL 543 和 L.PA S6 以及后生元能够降低 *H. pylori* 感染小鼠胃组织中 *H. pylori* 的定殖数量和抗原水平,抑制了模型组小鼠 *H. pylori* 体内感染程度;同时降低了 *H. pylori* 感染小鼠胃黏膜厚度,改善了胃黏膜结构损伤。益生菌 L.PA S6 和后生元组也下调了胃组织中毒力因子 VacA 与 CagA 的 mRNA 相对表达水平,并抑制了 TNF- α 和 IL-1 β 等炎症因子的水平。而益生菌 L.PL 543 不能降低毒力因子和 IL-1 β 等炎症因子的表达水平,因此益生菌 L.PA S6 和后生元对 *H. pylori* 感染引起的胃部炎症反应的抑制效果优于益生菌 L.PL 543 组。综上所述,益生菌 L.PL 543 和 L.PA S6 及后生元对 *H. pylori* 感染均具有抑制作用,同时对感染引起的胃黏膜结构损伤具有保护作用。除了益生菌 L.PL 543 外,补充益生菌 L.PA S6 和后生元均有效降低了毒力因子的表达并改善胃部炎症水平。本研究为 *H. pylori* 胃部感染的营养干预研究及产品开发提供新依据。

参考文献

- [1] FITZGERALD R, SMITH SM. An overview of *Helicobacter pylori* infection [J]. *Helicobacter Pylori*, 2021, 2283: 1-14.
- [2] CHANG WL, YEH YC, SHEU BS. The impacts of *H. pylori* virulence factors on the development of gastroduodenal diseases [J]. *Journal of Biomedical Science*, 2018, 25: 1-9.

- [3] JI J, YANG H. Using probiotics as supplementation for *Helicobacter pylori* antibiotic therapy [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(3): 1136.
- [4] MALFERTHEINER P, MÉGRAUD F, O'MORAIN CA, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection-the Maastricht V/Florence consensus report [J]. Gut, 2017, 66(1): 6-30.
- [5] MALFERTHEINER P, CAMARGO M C, EL-OMAR E, et al. *Helicobacter pylori* infection [J]. Nature Reviews Disease Primers, 2023, 9(1): 19.
- [6] 孟爱红,莫耘松,付克模,等.益生菌在幽门螺杆菌根除治疗中的研究进展[J].临床合理用药,2023,16(33):175-177.
- [7] SALMINEN S, COLLADO MC, ENDO A, et al. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics [J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2021, 18(9): 649-667.
- [8] 杨广珠,张淑红,李滢,等.植物乳杆菌拮抗致病大肠杆菌机制与应用研究进展[J].现代食品科技,2023,39(12):310-319.
- [9] 蒲小平,邓燕,谢建将,等.一种用于防治高胆固醇血症的植物乳杆菌及其发酵制品与应用:中国,202311255496.2[P]. 2023-12-22.
- [10] MAEHATA H, ARAI S, IWABUCHI N, et al. Immunomodulation by heat-killed *Lactocaseibacillus paracasei* MCC1849 and its application to food products [J]. International Journal of Immunopathology and Pharmacology, 2021, 35: 20587384211008291.
- [11] 林倩如,邓怡玲,赵玥明,等.灭活菌体后生元的体外降血压、降尿酸及降血糖作用[J].现代食品科技,2023, 39(4):19-25.
- [12] 蒲小平,舒梨,邓燕,等.一种后生元及其制备方法与应用:中国,202210098412.8 [P]. 2022-05-13.
- [13] YU Y, WU L, SUN X, et al. Effect of *Lactobacillus plantarum* ZFM4 in *Helicobacter pylori*-infected C57BL/6 mice: prevention is better than cure [J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2024, 13: 1320819.
- [14] HENRIQUES PC, COSTA LM, SEABRA C L, et al. Orally administrated chitosan microspheres bind *Helicobacter pylori* and decrease gastric infection in mice [J]. Acta Biomaterialia, 2020, 114: 206-220.
- [15] GUPTA V, GARG R. Probiotics [J]. Indian Journal of Medical Microbiology, 2009, 27(3): 202-209.
- [16] KEIKHA M, KARBALAEI M. Probiotics as the live microscopic fighters against *Helicobacter pylori* gastric infections [J]. BMC Gastroenterol, 2021, 21(1): 388.
- [17] ASGARI B, KERMANIAN F, HEDAYAT YM, et al. The Anti-*Helicobacter pylori* Effects of *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, and *L. rhamnosus* in Stomach Tissue of C57BL/6 Mice [J]. Visceral Medicine, 2020, 36(2): 137-143.
- [18] HAN L, SHU X, WANG J. *Helicobacter pylori*-mediated oxidative stress and gastric diseases: a review [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 811258.
- [19] TANG L, TANG B, LEI Y, et al. *Helicobacter pylori*-induced heparanase promotes *H. pylori* colonization and gastritis [J]. Frontiers in Immunology, 2021, 12: 675747.
- [20] SHEN S, REN FF, QIN H, et al. *Lactobacillus acidophilus* NCFM and *Lactiplantibacillus plantarum* Lp-115 inhibit *Helicobacter pylori* colonization and gastric inflammation in a murine model [J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2023, 13: 1196084.
- [21] WU D, CAO M, LI N, et al. Effect of trimethylamine N-oxide on inflammation and the gut microbiota in *Helicobacter pylori*-infected mice [J]. International Immunopharmacology, 2020, 81: 106026.
- [22] WILSON KT, RAMANUJAM KS, MOBLEY HL, et al. *Helicobacter pylori* stimulates inducible nitric oxide synthase expression and activity in a murine macrophage cell line [J]. Gastroenterology, 1996, 111(6): 1524-1533.
- [23] BAJ J, FORMA A, SITARZ M, et al. *Helicobacter pylori* virulence factors-mechanisms of bacterial pathogenicity in the gastric microenvironment [J]. Cells, 2020, 10(1): 27.
- [24] RIEZZO G, ORLANDO A, CLEMENTE C, et al. Tissue transglutaminase is involved in the inflammatory processes of active chronic gastritis [J]. Archives of Biological Sciences, 2021, 73(3): 331-339.
- [25] JEONG JH, JANG S, JUNG BJ, et al. Differential immune-stimulatory effects of LTAs from different lactic acid bacteria via MAPK signaling pathway in RAW 264.7 cells [J]. Immunobiology, 2015, 220(4): 460-466.
- [26] LEE YD, HONG YF, JEON B, et al. Differential cytokine regulatory effect of three *Lactobacillus* strains isolated from fermented foods [J]. Journal of Microbiol Biotechnol, 2016, 26(9): 1517-1526.
- [27] HIDA N, SHIMOYAMA T, NEVILLE P, et al. Increased expression of IL-10 and IL-12 (p40) mRNA in *Helicobacter pylori* infected gastric mucosa: relation to bacterial cag status and peptic ulceration [J]. Journal of Clinical Pathology, 1999, 52(9): 658-664.