

牛乳低聚糖调节抗生素相关腹泻小鼠肠道菌群及代谢功能

单艺¹, 王旻², 刘晓玲³, 赵禹⁴, 刘长慧⁴, 王淑梅^{1*}

(1. 哈尔滨学院食品工程学院, 黑龙江哈尔滨 150086) (2. 黑龙江省绿色食品科学研究院, 黑龙江哈尔滨 150028) (3. 黑龙江省质量监督检测研究院, 黑龙江哈尔滨 150001) (4. 黑龙江实兴检测有限公司, 黑龙江哈尔滨 150036)

摘要: 为了阐明牛乳低聚糖 (Bovine Milk Oligosaccharide, BMO) 改善抗生素相关腹泻的作用效果, 该研究采用动物模型评估了牛乳低聚糖对小鼠腹泻、肠道菌群及代谢功能的影响。采用氨苄西林诱导 C57BL/6J 小鼠建立抗生素相关腹泻模型, 小鼠分为正常对照组 (Normal Control, NC), 模型组 (Model Group, MC) 和牛乳低聚糖低、高剂量组 (L-BMO 组和 H-BMO 组), 干预一周后, 分析小鼠腹泻表型、炎症因子水平和紧密连接蛋白表达水平, 通过 16S rRNA 高通量测序和气相色谱分析肠道菌群及短链脂肪酸代谢。结果显示, 与 MC 组相比, 牛乳低聚糖高剂量组小鼠体质量和水通道蛋白 3 (Aquaporin 3, AQP3) 分别增加了 8.65%、128.46%, 粪便含水率降低 24.51%, 血清中白介素 (Interleukins, IL)-6、肿瘤坏死因子- α (Tumor Necrosis Factor, TNF- α) 和 IL-1 β 降低了 26.98%、30.31% 和 37.60%, IL-10 增加了 59.21%。同时, 牛乳低聚糖组紧密连接蛋白 ZO-1、Claudin-1 和 Occludin 的 mRNA 表达水平显著高于 MC 组。牛乳低聚糖高剂量组富集了阿克曼菌、拟杆菌、副拟杆菌属和杜伯氏菌, 恢复了肠道菌群的平衡。牛乳低聚糖高剂量组小鼠肠道乙酸、丙酸和丁酸的含量是模型组的 2.18、2.31 和 2.25 倍。综上, 牛乳低聚糖通过改善小鼠腹泻表型、调节肠道炎症反应、促进肠道屏障功能、富集有益菌群并产生短链脂肪酸, 展现出改善抗生素相关腹泻的作用。该研究为乳源功能成分在腹泻人群的食品或保健品开发中的应用提供理论支持。

关键词: 牛乳低聚糖; 抗生素相关腹泻; 细胞因子; 肠道菌群; 短链脂肪酸

文章编号: 1673-9078(2026)02-1-10

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.2.1821

Bovine Milk Oligosaccharides Regulate Intestinal Flora and Metabolic Functioning in Mice with Antibiotic-associated Diarrhea

SHAN Yi¹, WANG Min², LIU Xiaoling³, ZHAO Yu⁴, LIU Changhui⁴, WANG Shumei^{1*}

(1.School of Food Engineering, Harbin University, Harbin 150086, China)(2.Heilongjiang Green Food Science Research Institute, Harbin 150028, China)(3.Heilongjiang Quality Supervision and Inspection Institute, Harbin 150001, China) (4.Heilongjiang Shixing Testing Co. Ltd., Harbin 150036, China)

Abstract: To elucidate whether milk oligosaccharides can improve antibiotic-associated diarrhea, the effects of milk oligosaccharides on diarrhea, intestinal flora, and metabolic functioning were investigated in an antibiotic-associated diarrhea C57BL/6J mouse model undergoing treatment with ampicillin. Mice were divided into a normal control group, a model group, and

引文格式:

单艺,王旻,刘晓玲,等.牛乳低聚糖调节抗生素相关腹泻小鼠肠道菌群及代谢功能[J].现代食品科技,2026,42(2):1-10.

SHAN Yi, WANG Min, LIU Xiaoling, et al. Bovine milk oligosaccharides regulate intestinal flora and metabolic functioning in mice with antibiotic-associated diarrhea [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(2): 1-10.

收稿日期: 2024-12-07; 修回日期: 2025-02-11; 接受日期: 2025-02-14

基金项目: 黑龙江省重点研发计划指导类项目 (GZ2024026)

作者简介: 单艺 (1981-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品安全, E-mail: shanyi_1@sina.com

通讯作者: 王淑梅 (1979-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品微生物, E-mail: wangshumei24@126.com

low-and high-dose milk oligosaccharide groups, and one week after intervention, the diarrhea phenotype, inflammatory factor levels, tight junction protein expression levels, and intestinal flora and short-chain fatty acid metabolism of the mice were analyzed through 16S rRNA high-throughput sequencing and gas chromatography. The results showed that, compared to the model group, the body weight and AQP3 levels of the high-dose milk oligosaccharide group increased by 8.65%, and 128.46%, respectively, along with a decrease of 24.51% in the fecal moisture content and respective reductions of 26.98%, 30.31%, and 37.60% in the IL-6, TNF- α , and IL-1 β levels and an increase of 59.21% in the IL-10 level. The mRNA expression levels of the tight junction proteins ZO-1, Claudin-1 and Occludin were significantly higher in the milk oligosaccharide group than the MC group, whereas *Akkermansia*, Bacteroidetes, *Parabacteroides*, and *Dubereella* were significantly enriched in the high-dose milk oligosaccharide group. The acetic acid, propionic acid, and butyric acid contents in the intestines of mice in the high dose bovine milk oligosaccharide group were 2.18, 2.31, and 2.25 times that of those obtained for the MC group, respectively. We conclude that the milk oligosaccharides negated antibiotic-associated diarrhea by improving the diarrhea phenotype, regulating the intestinal inflammatory response, promoting the intestinal barrier function, enriching beneficial bacteria, and producing short-chain fatty acids in the mice. This study provides theoretical support for the application of milk-derived functional ingredients in the development of food or health products for those suffering from diarrhea.

Key words: bovine milk oligosaccharide; antibiotic-associated diarrhea; cytokine; intestinal flora; short-chain fatty acid

抗生素是良好的抑菌或杀菌剂,在医学上具有广泛的应用。一项重症监护室婴儿抗生素使用情况的调查显示,持续12年间,所有患儿中有44.8%接受了抗生素治疗,最常见的抗生素为氨苄西林、庆大霉素、万古霉素和头孢他啶^[1]。越来越多的研究发现,过量和不当使用抗生素会破坏肠道菌群平衡,导致有益菌减少,有害菌增加,从而引发腹泻^[2-4]。在全球范围内,抗生素相关腹泻患病率为5%~35%,其中以婴幼儿和老年人群为主^[5]。抗生素相关腹泻治疗的主要措施是恢复抗生素使用带来的菌群结构和功能失衡^[6]。一些以肠道微生物群为靶点的药物被用以治疗抗生素腹泻,如益生菌^[7]。一些食物成分同样也具有调节肠道微生物群的能力,同时,它们还能够增强益生菌的健康效应^[8]。因此,寻找一种能够缓解抗生素相关的腹泻的天然食物成分具有重要的研究意义。

益生元被认为是一类有效改善腹泻的成分,它主要包括来自于动物或人乳中的天然聚糖,以及人工合成的菊粉、低聚半乳糖、低聚果糖等^[9,10]。牛乳低聚糖(Bovine Milk Oligosaccharide, BMO)是从牛乳中分离出来的一种天然益生元。与人工合成的聚糖相比,它具有更复杂多样的结构,与人乳中低聚糖组成更为相似,是潜在的人乳低聚糖的替代物^[11]。研究发现,牛乳低聚糖能够作为肠道菌群的底物,为有益菌生长提供能量,起到调节肠道菌群的作用^[12,13]。Wang等^[14]的研究证明,牛乳低聚糖还能够通过调节肠道菌群来促进有益代谢物的产生,比如短链脂肪酸。对肠道菌群及其代谢功能的调节暗示了牛乳低聚糖改善抗生素相关腹泻的潜力。此外,Gormley等^[15]也揭示了

牛乳低聚糖对断奶仔猪肠道免疫和屏障功能的改善作用。先前的研究已证实菊粉和低聚果糖在改善儿童抗生素相关腹泻中的重要作用^[16],但目前缺乏牛乳低聚糖改善抗生素相关腹泻的研究。

因此,本研究采用氨苄西林构建抗生素相关腹泻模型,采用低剂量和高剂量的牛乳低聚糖进行干预,通过检测小鼠腹泻表型、肠道炎症水平、紧密连接蛋白表达的变化,基于16S rRNA测序对小鼠肠道菌群进行分析,以及通过气相色谱检测短链脂肪酸含量,揭示牛乳低聚糖改善抗生素相关腹泻的效果与机理。

1 材料与方法

1.1 动物、材料和试剂

清洁级5周龄的雄性C57BL/6J小鼠,购买自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号:SCXK(京)2012-0001。本研究被哈尔滨维科生物技术有限公司实验动物管理及伦理委员会批准,批准号为JL-SD-0191-202413。

牛乳低聚糖从脱脂乳粉中分离纯化制得,将脱脂乳粉以1:9的比例复溶,加入无水乙醇静置12 h后离心(8 000 g, 4 °C, 30 min)去除蛋白质,随后通过旋蒸法去除乙醇。加适量的 β -半乳糖苷酶于40 °C孵育24 h来消化乳糖。然后使用滤膜(Whatman4)进行过滤后获得的为牛乳低聚糖混合物。牛乳低聚糖主要由3'-唾液酸乳糖(75.3%)、6'-唾液酸乳糖(15.6%)、二岩藻糖基乳糖(3.6%)、3'-半乳糖基乳糖(5.4%)和其他低聚糖(0.1%)组成^[17]。

表 1 用于反转录定量PCR检测的引物序列

Table 1 Primer sequences for reverse transcription quantitative PCR assay		
引物	正向引物 (5'-3')	反向引物 (5'-3')
TLR4	GAGCCGGAAGGTTATTGTGGTAGTG	AGGACAATGAAGATGATGCCAGAGC
NF-κB	GCAAGCGTATCCCAAGAAGAGGTG	GCGATGCCTGCTACCACTCATTAC
IκB	TGGTGTGACTGTGGATCTCTGGAG	GGCTGGCTTCTCTGTGGTGATTG
GADPH	GACAGCCGCATCTTCTTGTG	AATCCGTTACACCGACCTT

Whatman4 滤纸, 上海金畔生物科技有限公司; 氨苄西林, 北京索莱宝科技有限公司; 水通道蛋白 3 (Aquaporin 3, AQP3) 和 AQP4、肿瘤坏死因子- α (Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (Interleukin 6, IL-6)、IL-1 β 、IL-10 和干扰素- γ (Interferon- γ , INF- γ) 酶联免疫吸附试剂盒, 南京建成生物工程研究所; RNA 反转录试剂盒, 天根生化科技有限公司; 实时荧光定量 PCR 扩增试剂盒, 北京普洛麦格生物技术有限公司。

1.2 仪器与设备

N1300 旋转蒸发仪, 广州艾卡仪器设备有限公司; ETC811 PCR 仪, 东胜兴业科学仪器有限公司; GL-21M 离心机, 上海市离心机械研究所; VD-1320 洁净工作台, 北京东联哈尔仪器制造有限公司。

1.3 方法

1.3.1 动物试验设计

5 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠 36 只, 每组 9 只。经过一周适应期后, 小鼠被随机分为 4 组, 分别是正常对照组 (Normal Control, NC), 模型组 (Model Group, MC)、低剂量牛乳低聚糖组 (L-BMO) 和高剂量牛乳低聚糖组 (H-BMO)。使用剂量为 500 mg·kg⁻¹ 的氨苄西林持续灌胃两周构建抗生素相关腹泻模型。随后进行为期一周的治疗, L-BMO 组灌胃 500 mg·kg⁻¹ 的牛乳低聚糖, H-BMO 组灌胃 1 000 mg·kg⁻¹ 的牛乳低聚糖, NC 组和 MC 组灌胃等量的生理盐水。试验结束时, 记录腹泻小鼠只数, 并计算腹泻率。称量体重后用乙醚麻醉处死小鼠, 解剖并取材。

1.3.2 粪便含水率

收集试验最后 24 h 内小鼠粪便, 称量体质量后使用烘箱将粪便烘干水分, 再次称量质量, 将前后之间的质量差除以起始质量, 记作粪便含水率。

1.3.3 水通道蛋白含量测定

采用酶联免疫试剂盒检测小鼠肠道水通道蛋白

AQP3 和 AQP4 的含量, 具体操作按照试剂盒说明书进行。

1.3.4 细胞因子检测

采用酶联免疫试剂盒检测小鼠血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-10 和 INF- γ 的含量, 具体操作按照试剂盒说明书进行。

1.3.5 RT-qPCR检测肠道转录因子

使用 RNA 提取试剂盒提取样本总 RNA, 通过 GoScript™ 反转录试剂盒将 RNA 反转录成 cDNA, 设计了如表 1 所示的引物, 随后采用 PCR 仪进行扩增检测, 采用 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 法分析特异性基因的相对表达。

1.3.6 肠道菌群检测

使用快速 DNA SPIN 提取试剂盒从肠道内容物样本中提取肠道微生物总 DNA。随后采用凝胶电泳和分光光度计测定 DNA 分子大小。用正向引物 (5'-ACTCCTACGG-GAGGCAGCA-3') 和反向引物 (5'-GGACTACHVGGGTATCTAAT-3') 进行 PCR 扩增 16S rRNA 基因 V3-V4 区。随后采用 Illumina MiSeq 平台进行测序。

1.3.7 短链脂肪酸检测

使用配备了 Agilent DB-FATWAX UI 毛细管柱 (30 m×0.25 mm×0.25 μ m) 和火焰离子化检测器的 Fuli9720 气相色谱仪测定肠道内容物中短链脂肪酸含量。将 80 mg 样本与磷酸混合后, 加入异己酸内标。加入适量乙醚后在 4℃ 下以 8 000 g 离心 15 min。取上清液进行检测。

1.4 数据分析

使用 SPSS 22 软件的配对样本方差 *t* 检验进行显著性统计。* 代表 *P* < 0.05, ** 代表 *P* < 0.01, *** 代表 *P* < 0.001, ns 代表 *P* > 0.05。所有实验至少重复 3 次, 数据以平均值 $\pm$ 标准差表示。所有图形采用 Origin 2021 和 GraphPad Prism 8.0 制作。

2 结果与分析

2.1 牛乳低聚糖降低了小鼠腹泻发生

由图 1a 可知, 抗生素建模后, 小鼠体质量显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组相比, 低剂量牛乳低聚糖干预后, 小鼠体质量没有发生显著变化 ($P > 0.05$), 但高剂量牛乳低聚糖干预后小鼠体质量增加了 8.65% ($P < 0.01$)。抗生素增加了小鼠粪便含水率, 同样的, 低剂量牛乳低聚糖干预没有降低小鼠粪便含水率, 而高剂量牛乳低聚糖组小鼠粪便含水率降低了 24.51% (图 1b)。在试验结束时, NC 组小鼠腹泻率为 0, MC 组为 100%, 低剂量牛乳低聚糖组为 60%, 高剂量牛乳低聚糖组为 10%。水通道蛋白是位于细胞膜上的蛋白质, 能够控制水份的进出^[18]。AQP3 和 AQP4 是哺乳动物中常见的两种水通道蛋白亚型, 在肠道上大量表达^[18]。研究报道了它们与宿主的腹泻密切相关^[19,20]。因此, 本研究分析了牛乳低聚糖对 AQP3 和 AQP4 的影响, 结果如图 1d 和 1e 所示。抗生素诱导的腹泻小鼠肠道 AQP3 和 AQP4 表达显著降低 ($P < 0.05$), 低剂量牛乳低聚糖干预没有有效的改善小鼠肠道 AQP3 和 AQP4 水平。但高剂量牛乳低聚糖组小鼠 AQP3 的水平增加了 128.46% ($P < 0.01$), 且高剂量牛乳低聚糖组还显著高于低剂量牛乳低聚糖组 ($P < 0.01$)。此外, 高剂量牛乳低聚糖也没有显著增加 AQP4 的水平 ($P > 0.05$)。总之, 牛乳低聚糖改善了小鼠腹泻, 且高剂量牛乳低聚糖效果优于低剂量牛乳低聚糖。

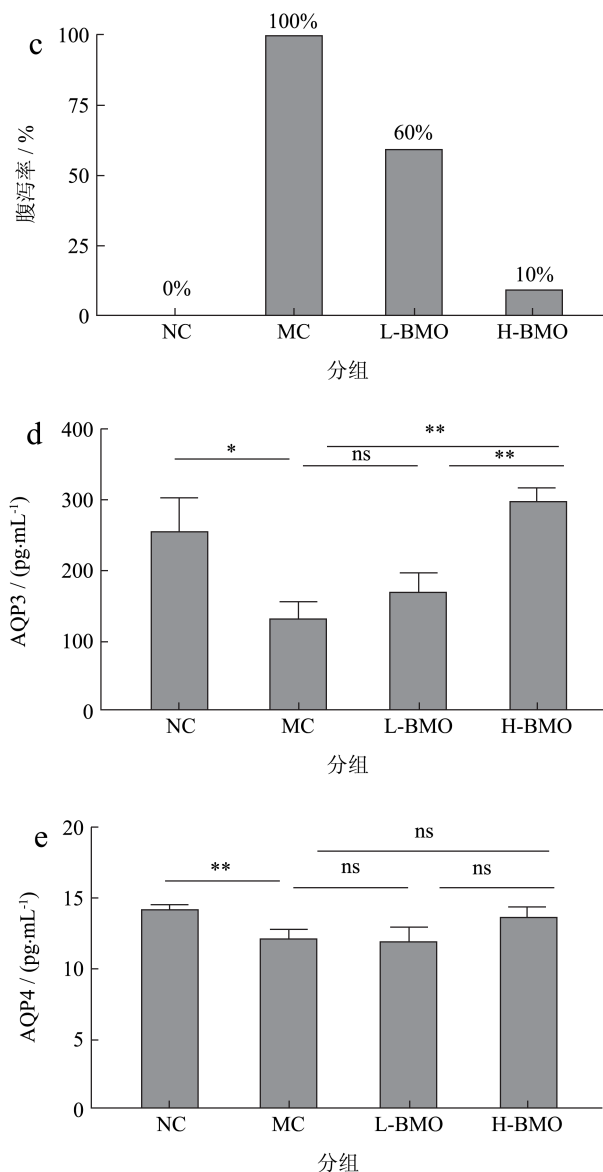
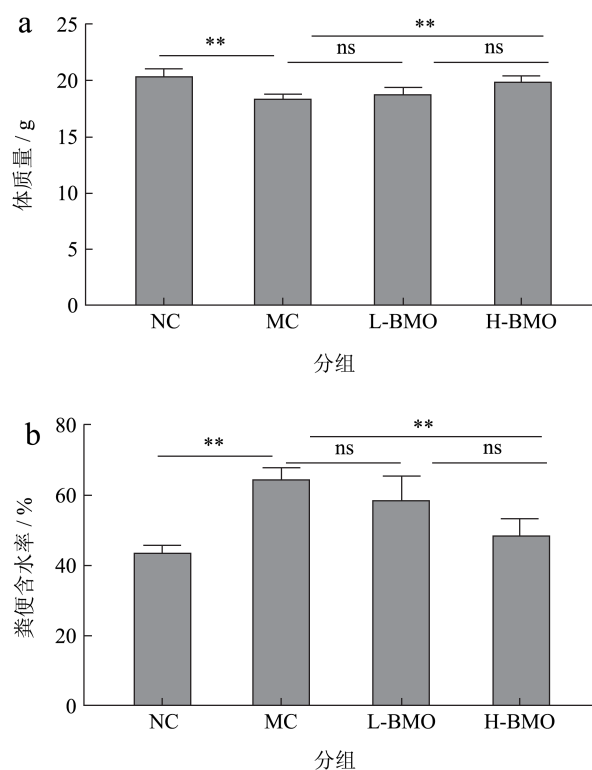


图 1 各组小鼠腹泻表型变化

Fig.1 Diarrhoea phenotype in mice in all groups

注: * 代表 $P < 0.05$, ** 代表 $P < 0.01$, *** 代表 $P < 0.001$, 下同 2-4、7 同。

2.2 牛乳低聚糖改善了腹泻引起的肠道炎症

随后, 分析了小鼠肠道促炎细胞因子 $\text{TNF-}\alpha$ 、 IL-6 、 $\text{IL-1}\beta$ 的分泌水平。结果如图 2a~2c 所示, 与模型组相比, 抗生素诱导的腹泻引起了小鼠肠道促炎细胞因子的显著增加 ($P < 0.05$)。与模型组相比, 高剂量牛乳低聚糖干预组的小鼠肠道 $\text{TNF-}\alpha$ 、 IL-6 、 $\text{IL-1}\beta$ 分泌水平降低了 30.31%、26.98% 和 37.60% ($P < 0.05$)。但是, 低剂量牛乳低聚糖干预组与模型组小鼠肠道促炎细胞因子分泌水平没有显著差异 ($P > 0.05$)。IL-10 是由免疫细胞分泌的一种抗炎细胞因子, 与宿主免疫和肠道健康密切相关^[21,22]。抗生素诱导的腹泻引起了小鼠肠道 IL-10 分泌的显著减少 ($P < 0.01$), 高剂量

牛乳低聚糖则扭转了这一趋势,但低剂量牛乳低聚糖没有(图2d)。此外,INF- γ 也是一种抗炎细胞因子^[23],它在模型组中显著降低($P<0.05$),但牛乳低聚糖干预没有显著增加其含量($P>0.05$)。总之,牛乳低聚糖改善了抗生素相关腹泻引起的肠道炎症。

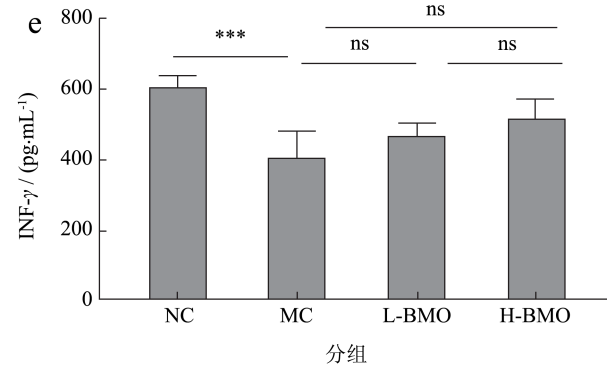
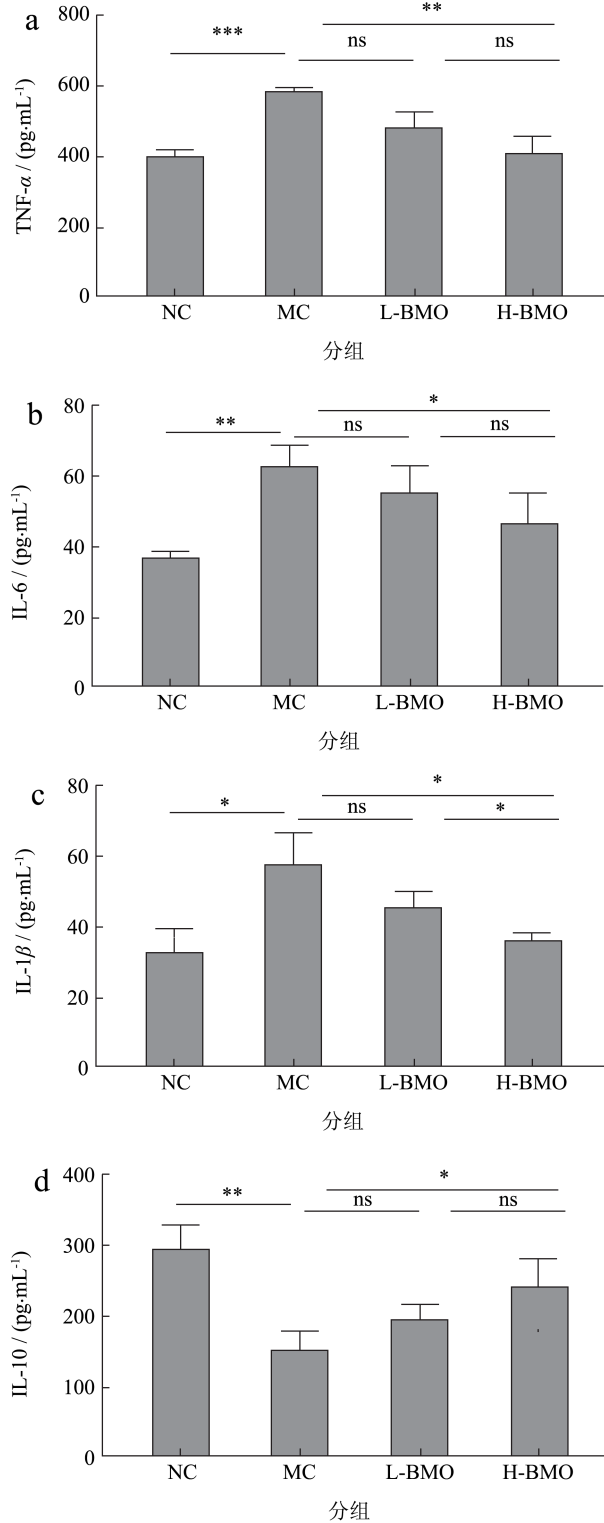
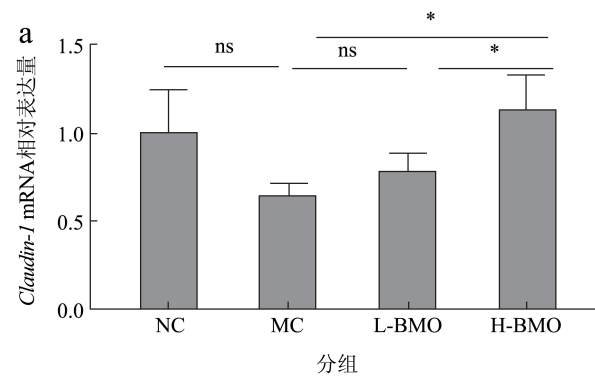


图2 各组小鼠肠道炎症变化

Fig.2 Changes in intestinal inflammation in mice of all groups

2.3 牛乳低聚糖改善了腹泻引起的肠道屏障相关紧密连接的表达

鉴于抗生素相关腹泻引起了小鼠肠道炎症,进一步考虑了小鼠肠道屏障相关紧密连接蛋白的表达情况。选择 *Claudin-1*、*Occludin* 和 *ZO-1* mRNA 表达量来反映肠道紧密连接蛋白的表达情况。如图3a所示,与模型组相比,低剂量牛乳低聚糖干预组 *Claudin-1* mRNA 表达量没有发生显著变化($P>0.05$),但高剂量牛乳低聚糖干预组 *Claudin-1* mRNA 表达量显著增加($P<0.05$)。对于 *Occludin* mRNA 表达量而言,低剂量牛乳低聚糖干预组和高剂量牛乳低聚糖干预组都显著高于模型组($P<0.01$),并且上述两组之间没有显著差异($P>0.05$)。但 *ZO-1* mRNA 表达量变化趋势与 *Claudin-1* mRNA 表达量相似,仅有高剂量牛乳低聚糖干预组显著增加($P<0.05$)。此外,高剂量牛乳低聚糖干预组的 *Claudin-1* 和 *ZO-1* mRNA 的水平显著高于低剂量牛乳低聚糖干预组($P<0.05$)。这些结果表明,高剂量牛乳低聚糖能够改善小鼠肠道紧密连接的表达。



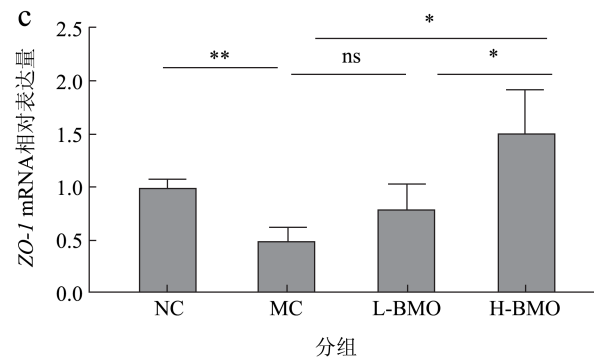
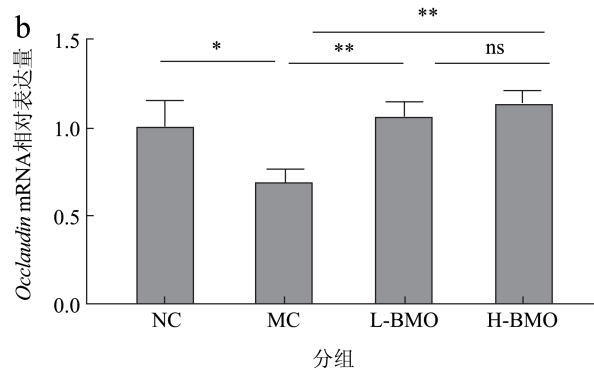


图3 各组小鼠肠道紧密连接变化

Fig.3 Changes in intestinal tight junctions in mice of all groups

2.4 牛乳低聚糖减少NF-κB信号通路激活

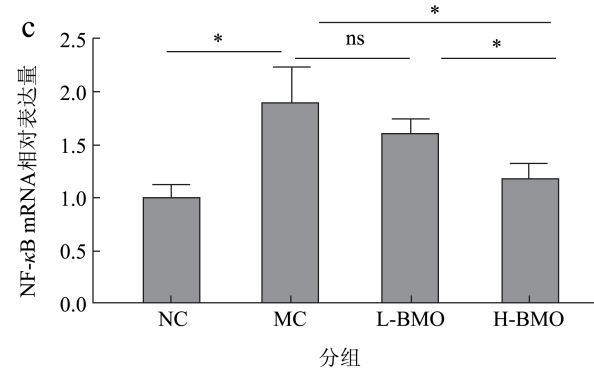
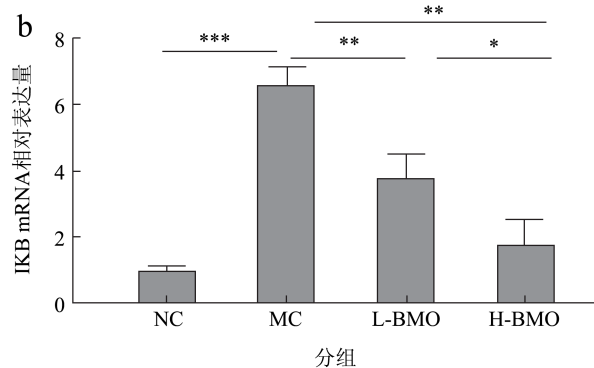
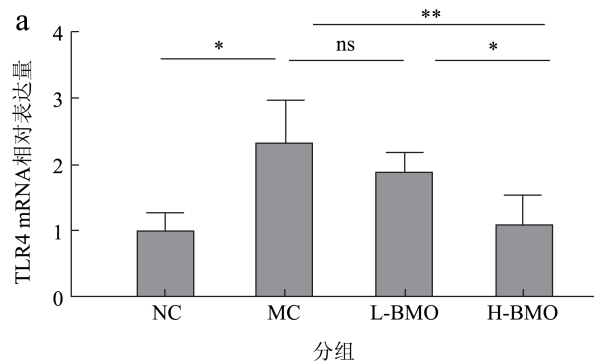


图4 各组小鼠肠道 NF-κB 信号通路变化

Fig.4 Changes in intestinal NF-κB signalling pathway in mice of all groups

NF-κB 信号通路的激活在炎症、肠道屏障损伤或肠道疾病模型中扮演重要角色^[24]。因此,本研究使用 RT-qPCR 检测了 TLR4、IKB 和 NF-κB 蛋白对应的 mRNA 表达水平,初步探索了牛乳低聚糖对小鼠 NF-κB 信号通路的影响。结果如图 4a~4c 所示,与空白对照组细胞,模型组小鼠肠道 TLR4、IKB 和 NF-κB mRNA 表达水平的显著增加 ($P<0.05$),这表明抗生素相关腹泻激活了肠道 NF-κB 信号通路。这与先前的报道一致,抗生素通过 toll 样受体 4/NF-κB 诱发腹泻^[24]。低剂量的牛乳低聚糖显著降低了 IKB mRNA 表达水平 ($P<0.01$),高剂量的牛乳低聚糖显著降低了 TLR4、IKB 和 NF-κB mRNA 表达水平 ($P<0.05$)。据报道,激活的 NF-κB 信号通路,诱导免疫细胞分泌大量促炎细胞因子,如 TNF-α、IL-6 和 IL-1β^[25]。牛乳低聚糖处理后,促炎细胞因子减少可能与 NF-κB 信号通路被抑制有关。

2.5 牛乳低聚糖调节肠道菌群组成

接下来,分析了牛乳低聚糖干预后小鼠肠道菌群的变化。在各组小鼠中成功鉴定出 100% 的门水平物种组成、77.49% 属水平和 8.67% 种水平物种组成 (图 5a)。因此,重点关注属水平上物种组成是具有分析意义的。通过非加权组平均聚类分析可知, H-BMO 与 NC 组更接近,与 MC 组差异最大 (图 5b)。此外,各组之间的 α-多样性没有显著差异 ($P>0.05$),包括 chao 1 指数和 ACE 指数 (图 5c)。这些结果表明抗生素相关腹泻没有引起小鼠肠道菌群多样性改变,但菌群具体组成不同。鉴于高剂量的牛乳低聚糖在改善抗生素相关腹泻的作用以及该组与 NC 组菌群聚类更接近。在属水平上注释各组菌群的组成,试图寻找高剂量牛乳低聚糖对肠道菌群组成的影响。如

图 5e 所示，与 MC 组相比，高剂量牛乳低聚糖组小鼠肠道富集了更多的阿克曼菌 (*Akkermansia*)、拟杆菌 (*Bacteroides*)、副拟杆菌属 (*Parabacteroides*) 和杜伯氏菌 (*Dubosiella*)。阿克曼菌是宿主肠道黏液层中寄生的微生物，它能够增强肠道屏障功能，降低肠道炎症水平^[26]。Liu 等^[27]发现外源补充的阿克曼菌能够改善林可霉素和氨苄西林诱导的小鼠腹泻，包括减少粪便水含量和腹泻率，并增加肠道 AQP3 的表达。阿克曼菌在 MC 组相对丰度小于 1%，但在高剂量牛乳低聚糖组可达 18%，这可能与牛乳低聚糖喂养的小鼠腹泻减轻，促炎细胞因子分泌减少有关。有研究报道拟杆菌能够改善肥胖小鼠的炎症^[28]，而 Hiippala 等^[29]从人类粪便中分离出的副拟杆菌和拟杆菌也具有抗炎的作用。高剂量牛乳低聚糖组的拟杆菌丰度也达到了 MC 组的 8.74 倍。同时，副拟杆菌属在 MC 组未检出，但在高剂量牛乳低聚糖组分别含有 1.94%。先前的研究还表明，拟杆菌和副拟杆菌能够抑制 NF- κ B 信号通路，这可能解释了牛乳低聚糖干预的肠道菌群调节屏障和炎症的内在机制^[30,31]。此外，Zhang 等^[32]报道了杜伯氏菌在结肠炎中的正向调节作用，研究人员将此作用归功于杜伯氏菌产生的丙酸。因此，阿克曼菌、拟杆菌、副拟杆菌和杜伯氏菌可能是牛乳低聚糖改善抗生素腹泻引起的炎症的内在因素。总之，牛乳低聚糖能够促进肠道有益菌的生长，这可能与抗生素相关腹泻的改善有关。

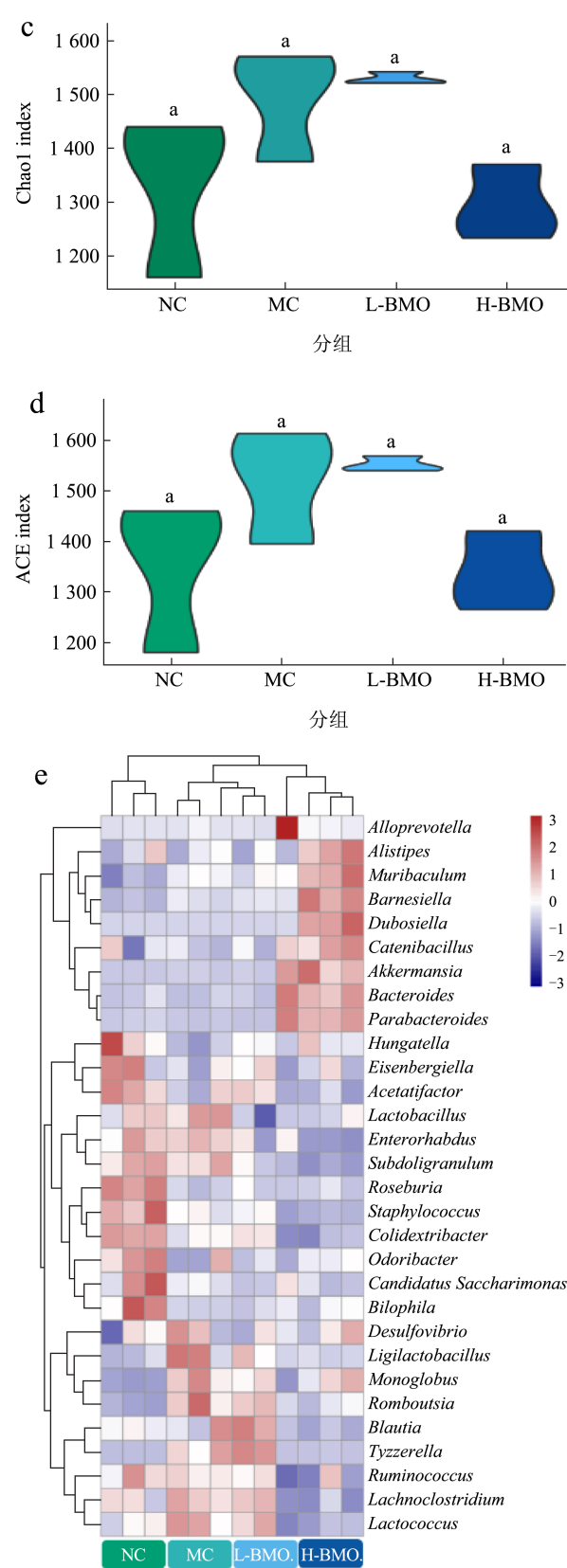
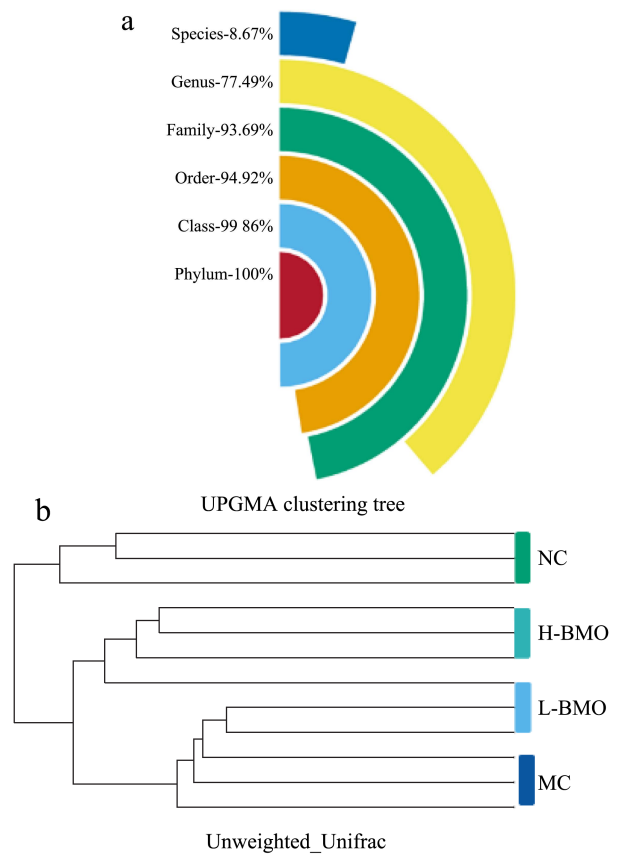


图 5 各组小鼠肠道菌群的变化

Fig.5 Changes in the intestinal flora of mice in each group

注：(a) 不同分类上鉴定出的菌群比例；(b) 非加权组平均聚类分析；(c) Chao 1 指数；(d) ACE 指数；(e) 属水平上菌群组成热图。

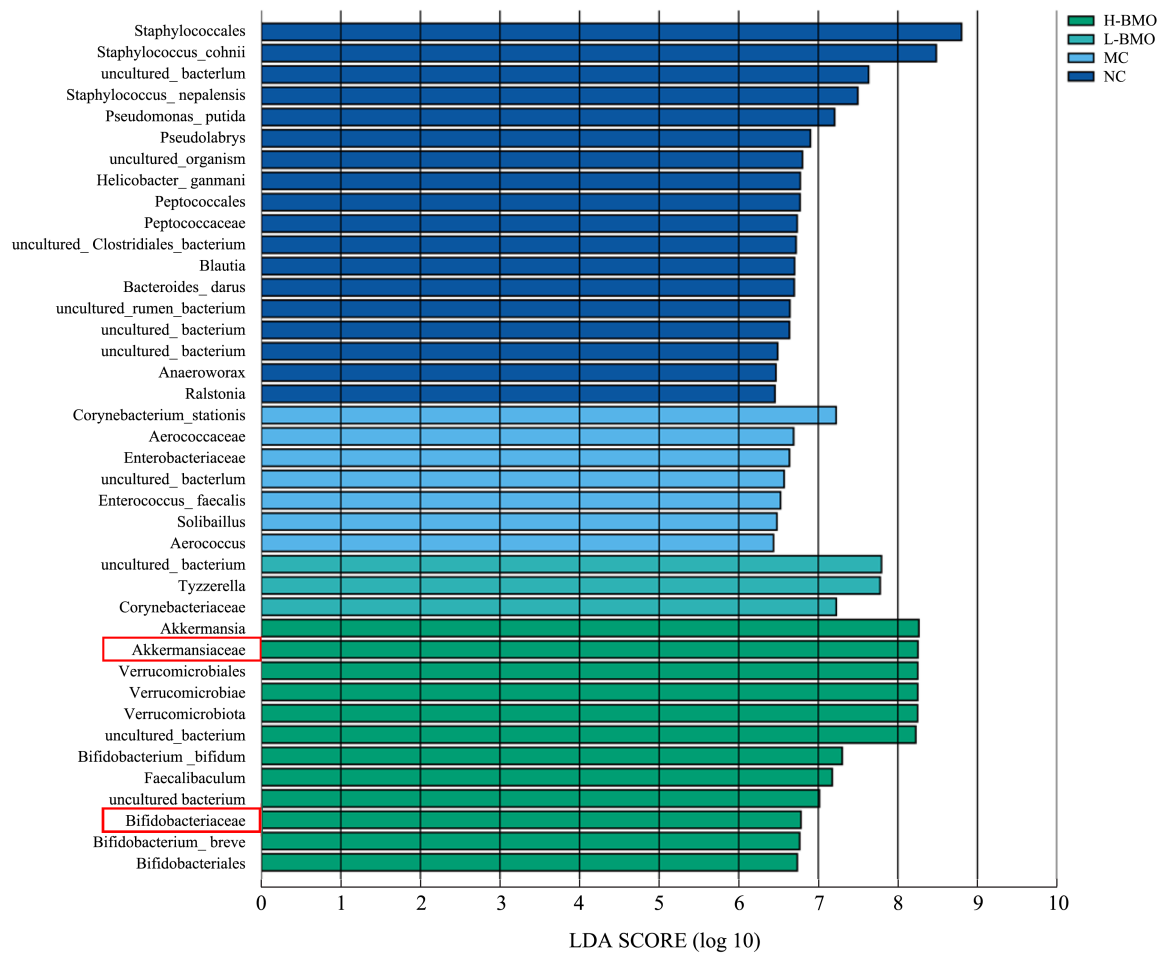


图 6 各组小鼠肠道菌群的线性判别分析

Fig.6 Linear discriminant analysis of the intestinal flora of mice in each group

2.6 肠道菌群的线性判别分析

通过线性判别分析（Linear Discriminant Analysis Effect Size, LEfSe）进一步研究了牛乳低聚糖干预后各组小鼠肠道内微生物群中的标志物种（图 6）。与菌群组成结果一致的是，阿克曼菌也是牛乳低聚糖组的标志物种，其 LDA 值 >8。此外，双歧杆菌（*Bifidobacterium*）也是牛乳低聚糖组的标志物种，这表明双歧杆菌可能是小鼠肠道中丰度较低但差异极显著的物种。研究报道了双歧杆菌具有腹泻调节作用和低聚糖利用能力^[33,34]。此外，在 MC 组棒状杆菌属（*Corynebacterium_stationis*）、气球菌属（*Aerococcaceae*）、粪肠球菌（*Enterococcus_faecalis*）和沙门氏菌（*Solibacillus*）等物种被鉴定为标志物种。

2.7 牛乳低聚糖促进短链脂肪酸产生

肠道菌群的变化往往会引起代谢功能的改变，肠道菌群利用牛乳低聚糖通常会产生短链脂肪酸等有益物质。因此，分析了各组小鼠肠道主要短链脂肪酸含量，包括乙酸丙酸和丁酸。如图 7a 所示，与 NC 组相

比，MC 组小鼠乙酸和丙酸含量显著降低。低剂量牛乳低聚糖和高剂量牛乳低聚糖都显著增加了乙酸和丙酸的含量（ $P<0.05$ ），但高剂量组也显著高于低剂量组（ $P<0.05$ ）。其中，高剂量组小鼠肠道乙酸和丙酸含量是 MC 组的 2.17 倍和 2.32 倍。丁酸的含量在 NC 组和 MC 组之间没有显著差异（ $P>0.05$ ）。但在牛乳低聚糖干预后丁酸含量显著增加（ $P<0.05$ ）。并且低剂量牛乳低聚糖组和高剂量牛乳低聚糖组之间没有显著差异（ $P>0.05$ ）。据报道，拟杆菌具有优越的膳食纤维利用能力^[35]。因此，拟杆菌能够利用牛乳低聚糖促进自身生长，并代谢产生短链脂肪酸。此外，Lei 等^[36]发现副拟杆菌能够大量的乙酸来改善急性胰腺炎宿主的免疫反应。同时，杜伯氏菌具有丙酸产生能力^[32]。在牛乳低聚糖喂养的小鼠中，拟杆菌、副拟杆菌和杜伯氏显著增加，可能是肠道短链脂肪酸增加的原因。Xu 等^[24]的研究也证明了可以通过调节肠道菌群产生的短链脂肪酸来改善抗生素腹泻。总之，牛乳低聚糖通过影响肠道菌群来促进了短链脂肪酸的产生。

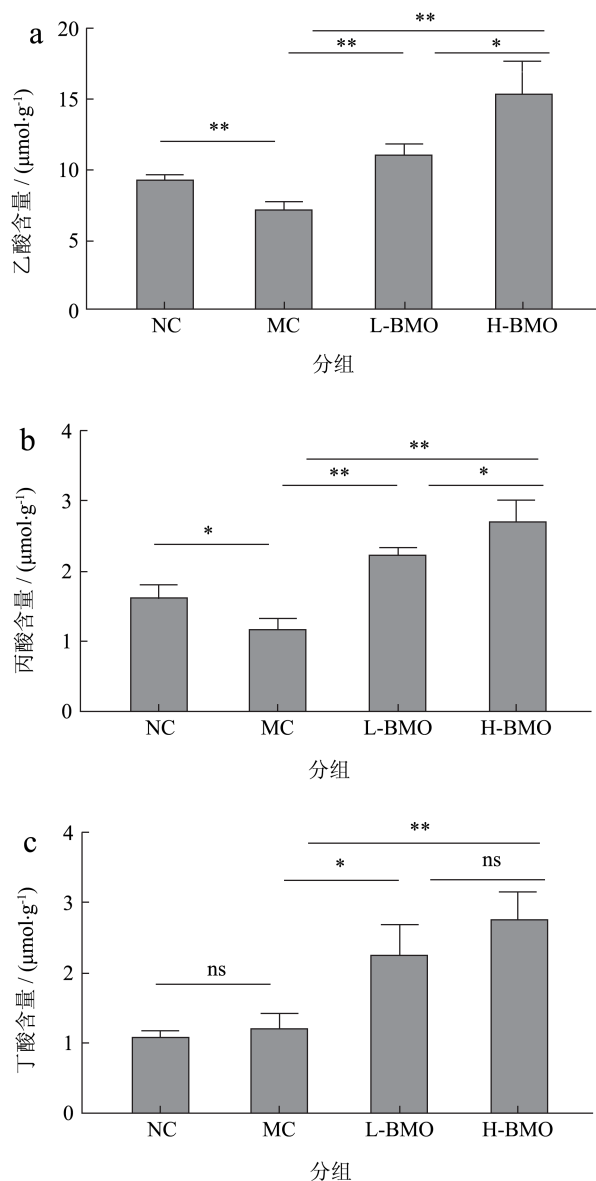


图7 各组小鼠肠道短链脂肪酸含量的变化

Fig.7 Changes in the Short-chain fatty acid content of mice in each group

3 结论

本研究评估了牛乳低聚糖对抗生素相关腹泻的影响。结果表明,牛乳低聚糖能够增加小鼠体重和水通道蛋白表达,减少粪便含水率和腹泻率。同时,牛乳低聚糖还降低了抗生素相关腹泻引起的炎症反应和肠道屏障损伤。牛乳低聚糖还调节了小鼠肠道菌群的组成,增加了与腹泻改善有关的阿克曼菌、拟杆菌、副拟杆菌和杜伯氏菌的相对丰度。此外,牛乳低聚糖促进了肠道内短链脂肪酸产生,这可能与肠道菌群的变化有关。综上,牛乳低聚糖可能通过调节肠道有益菌及短链脂肪酸来改善抗生素相关腹泻。

参考文献

- [1] FLANNERY D D, ZEVALLOS BARBOZA A, MUKHOPADHYAY S, et al. Antibiotic use among infants admitted to neonatal intensive care units [J]. JAMA Pediatrics, 2023, 177(12): 1354-1366.
- [2] 翟德菊,张淑华,王慧,等.益生菌联合蒙脱石散治疗抗生素相关腹泻的疗效观察[J].航空航天医学杂志,2023,34(12):1415-1428.
- [3] ACREE M, DAVIS A M. Acute diarrheal infections in adults [J]. Jama, 2017, 318(10): 957-968.
- [4] DIONNE J C, MBUAGBAW L, DEVLIN J W, et al. Diarrhea during critical illness: a multicenter cohort study [J]. Intensive Care Medicine, 2022, 48(5): 570-579.
- [5] MCFARLAND L V, OZEN M, DINLEYICI E C, et al. Comparison of pediatric and adult antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* infections [J]. World Journal of Gastroenterology, 2016, 22(11): 3078-3104.
- [6] BOSNJAK M, KARPE A V, VAN T T H, et al. Multi-omics analysis of hospital-acquired diarrhoeal patients reveals biomarkers of enterococcal proliferation and *Clostridioides difficile* infection [J]. Nature Communications, 2023, 14(1): 7737.
- [7] LIAO W, CHEN C, WEN T, et al. Probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea in adults: a meta-analysis of randomized placebo-controlled Trials [J]. Journal of Clinical Gastroenterology, 2021, 55(6): 469-480.
- [8] BUTTON J E, COSETTA C M, REENS A L, et al. Precision modulation of dysbiotic adult microbiomes with a human-milk-derived synbiotic reshapes gut microbial composition and metabolites [J]. Cell Host & Microbe, 2023, 31(9): 1523-1538.
- [9] LAI Y, LAN X, QIN Y, et al. Polysaccharides of natural products alleviate antibiotic-associated diarrhea by regulating gut microbiota: a review [J]. Archives of Microbiology, 2024, 206(12): 461.
- [10] MURTAZA G, ABBAS Z, GUL S, et al. Review on synergistic effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on gut microbiota homeostasis [J]. World Review of Nutrition and Dietetics, 2024, 2(2): 50-57.
- [11] YAO Q, GAO Y, ZHENG N, et al. Unlocking the mysteries of milk oligosaccharides: structure, metabolism, and function [J]. Carbohydrate Polymers, 2024, 332(15): 121911.
- [12] NGUYEN T L L, NGUYEN D V, HEO K-S J A O P R. Potential biological functions and future perspectives of sialylated milk oligosaccharides [J]. Archives of Pharmacal Research, 2024, 47(4): 325-340.
- [13] GALLO V, ARIENZO A, TOMASSETTI F, et al. Milk bioactive compounds and gut microbiota modulation: the role of whey proteins and milk oligosaccharides [J]. Foods, 2024, 13(6): 907.
- [14] WANG M, MONACO M H, HAUSER J, et al. Bovine milk oligosaccharides and human milk oligosaccharides modulate the gut microbiota composition and volatile fatty acid concentrations in a preclinical neonatal model [J]. Microorganisms, 2021, 9(5): 45.
- [15] GORMLEY A, GARAVITO-DUARTE Y, KIM S W. The role of

- milk oligosaccharides in enhancing intestinal microbiota, intestinal integrity, and immune function in pigs: a comparative review [J]. *Biology*, 2024, 13(9): 107.
- [16] SZAJEWSKA H, WEIZMAN Z, ABU-ZEKRY M, et al. Inulin and fructo-oligosaccharides for the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children: report by the ESPGHAN working group on probiotics and prebiotics [J]. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2012, 54(6): 828-839.
- [17] SHI Y, HAN B, ZHANG L, et al. Comprehensive identification and absolute quantification of milk oligosaccharides in different species [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(51): 15585-15597.
- [18] AGRE P. The aquaporin water channels [J]. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 2006, 3(1): 5-13.
- [19] ZHU C, NIE X, LU Q, et al. Roles and regulation of aquaporin-3 in maintaining the gut health: an updated review [J]. *Frontiers in Physiology*, 2023, 14(3): 1264570.
- [20] CAMILLERI M, CARLSON P, CHEDID V, et al. Aquaporin expression in colonic mucosal biopsies from irritable bowel syndrome with diarrhea [J]. *Clinical and Translational Gastroenterology*, 2019, 10(4): e00019.
- [21] GUNASEKERA D C, MA J, VACHARATHIT V, et al. The development of colitis in IL10^{−/−} mice is dependent on IL-22 [J]. *Mucosal Immunology*, 2020, 13(3): 493-506.
- [22] YORK A G, SKADOW M H, OH J, et al. IL-10 constrains sphingolipid metabolism to limit inflammation [J]. *Nature*, 2024, 627(8004): 628-635.
- [23] JIE C, HAIMING Y, JUFANG Z J E J O E I D. Expression of serum MCP-1, INF- γ and IL-18 in patients with pulmonary tuberculosis and its value in the diagnosis and treatment evaluation of the disease [J]. *Electronic Journal of Emerging Infectious Diseases*, 2023, 8(6): 52-57.
- [24] XU B, LIANG S, ZHAO J, et al. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* XLTG11 improves antibiotic-related diarrhea by alleviating inflammation, enhancing intestinal barrier function and regulating intestinal flora [J]. *Food & Function*, 2022, 13(11): 6404-6418.
- [25] ZHANG Y, HUANG S, ZHANG S, et al. Pomegranate peel extract mitigates diarrhea-predominant irritable bowel syndromes via MAPK and NF- κ B pathway modulation in rats [J]. *Nutrients*, 2024, 16(22): 3347.
- [26] MARTIN-GALLAUSIAUX C, GARCIA-WEBER D, LASHERMES A, et al. *Akkermansia muciniphila* upregulates genes involved in maintaining the intestinal barrier function via ADP-heptose-dependent activation of the ALPK1/TIFA pathway [J]. *Gut Microbes*, 2022, 14(1): 2110639.
- [27] LIU S, ZHAO S, CHENG Z, et al. *Akkermansia muciniphila* protects against antibiotic-associated diarrhea in mice [J]. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 2024, 16(4): 1190-1204.
- [28] LÓPEZ-ALMELA I, ROMANÍ-PÉREZ M, BULLICH-VILARRUBIAS C, et al. *Bacteroides uniformis* combined with fiber amplifies metabolic and immune benefits in obese mice [J]. *Gut Microbes*, 2021, 13(1): 1-20.
- [29] HIIPPALA K, KAINULAINEN V, SUUTARINEN M, et al. Isolation of anti-inflammatory and epithelium reinforcing bacteroides and *Parabacteroides* Spp. from a healthy fecal donor [J]. *Nutrients*, 2020, 12(4): 1145.
- [30] LIU L, XU M, LAN R, et al. *Bacteroides vulgatus* attenuates experimental mice colitis through modulating gut microbiota and immune responses [J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13(4): 1036196.
- [31] LIU D, ZHANG S, LI S, et al. Indoleacrylic acid produced by *Parabacteroides distasonis* alleviates type 2 diabetes via activation of AhR to repair intestinal barrier [J]. *BMC Biology*, 2023, 21(1): 90.
- [32] ZHANG Y, TU S, JI X, et al. *Dubosiella newyorkensis* modulates immune tolerance in colitis via the L-lysine-activated AhR-IDO1-Kyn pathway [J]. *Nature Communications*, 2024, 15(1): 1333.
- [33] BAI T, XU Z, XIA P, et al. The short-term efficacy of *Bifidobacterium* quadruple viable tablet in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome: potentially mediated by metabolism rather than diversity regulation [J]. *The American Journal of Gastroenterology*, 2023, 118(7): 1256-1267.
- [34] SRIVASTAVA S, BASAK U, NAGHIBI M, et al. A randomized double-blind, placebo-controlled trial to evaluate the safety and efficacy of live *Bifidobacterium longum* CECT 7347 (ES1) and heat-treated *Bifidobacterium longum* CECT 7347 (HT-ES1) in participants with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [J]. *Gut Microbes*, 2024, 16(1): 2338322.
- [35] PEREIRA G V, ABDEL-HAMID A M, DUTTA S, et al. Degradation of complex arabinoxylans by human colonic Bacteroidetes [J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 459.
- [36] LEI Y, TANG L, LIU S, et al. *Parabacteroides* produces acetate to alleviate heparanase-exacerbated acute pancreatitis through reducing neutrophil infiltration [J]. *Microbiome*, 2021, 9(1): 115.