

# 双歧杆菌与宿主健康

陈卫

江南大学食品学院，无锡，江苏 214122

邮箱: [chenwei66@jiangnan.edu.cn](mailto:chenwei66@jiangnan.edu.cn)

## 摘要

肠道菌群在人体健康中起着至关重要的作用。特别是双歧杆菌是一种对健康和各种疾病都至关重要的属。进一步探索双歧杆菌的潜在功能，对人类健康具有重要意义。本综述旨在描述双歧杆菌与不同年龄相关联的变化，以突出双歧杆菌对健康和疾病的影响，并指出其临床应用。长双歧杆菌，短双歧杆菌，两歧双歧杆菌在婴儿中占主导，而青春双歧杆菌和链状双歧杆菌在成年人中更普遍。双歧杆菌可改善腹泻、炎症性肠病、结肠不规则、结直肠癌、坏死性小肠结肠炎、糖尿病和碳水化合物代谢紊乱。

**关键词：** 双歧杆菌； 益生作用； 益生菌

## 前言

双歧杆菌是一类以高鸟嘌呤、胞嘧啶含量（54-67%）为特征的革兰氏阳性菌。该菌需要在厌氧条件下培养，这种生长环境与人类肠道中微生物的生长环境类似。1899年，来自法国巴斯德研究所的儿科医师 Henry Tissier 首次从哺乳期婴儿的粪便中分离出双歧杆菌<sup>[1]</sup>。而后发酵食品、动物消化道、废水中均分离出了双歧杆菌<sup>[2-4]</sup>。2002年<sup>[5]</sup>，人类公布了首个双歧杆菌的全基因组。之后更多研究者对双歧杆菌进行了基因组测序及公开。目前，在分类学上，双歧杆菌属共包含34种，其中12种来源于人体，但只有长双歧杆菌、短双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、两歧双歧杆菌和青春双歧杆菌可在人类肠道中定植并已被批准可用于食品加工。婴儿时期双歧杆菌占据了肠道菌群的80%，占绝对主导地位<sup>[6]</sup>。随着个体生

长，肠道中双歧杆菌的相对丰度逐渐降低并趋于稳定。双歧杆菌是人类肠道菌群的重要成员同时也是肠道健康的指标之一。

双歧杆菌发挥着许多有益于人类健康的益生作用<sup>[7]</sup>。双歧杆菌可以抑制食源性致病菌生长并对急性肠炎、肠易激综合征和腹泻有缓解作用。双歧杆菌的益生机制可能有以下几种：（1）双歧杆菌可粘附于肠上皮细胞并在肠道中定植。一些蛋白质诸如粘附因子、凝集素、脂蛋白和胞外多糖（来源于母乳）可以帮助双歧杆菌固定于肠粘膜。（2）双歧杆菌的代谢产物诸如短链脂肪酸、多不饱和脂肪酸衍生物、二氧化碳和过氧化氢可降低肠道内 pH 值。这些异型发酵代谢产物可抑制对酸敏感的病原菌生长。（3）双歧杆菌可强化肠道屏障。通过促进粘液分泌和强化肠道紧密连接，双歧杆菌可以抑制肿瘤坏死因子的分泌。双歧杆菌的免疫调节作用不仅是具有种间差异，还具有种内差异。目前已报道的免疫调节模式包括 TH1/TH2 相关的细胞因子通路、TLR 通路和 NF- $\kappa$ B 通路<sup>[8]</sup>。

在本文我们将提供人类从出生到老年肠道双歧杆菌的多样性和变异性，双歧杆菌对健康和疾病的影响，以及双歧杆菌的临床应用和潜在的新功能，并讨论如何利用这些揭示双歧杆菌之间的互作机制，以及其对免疫与代谢调节机制。

## 1. 人类从出生到老年肠道中双歧杆菌的多样性和变异性

### 1.1 婴儿

双歧杆菌对婴儿来说是必不可少的，因为它促进了婴儿的肠道成熟和代谢、免疫以及大脑的发育<sup>[9]</sup>。双歧杆菌在婴儿肠道中同时也是最丰富的<sup>[10]</sup>，它可以由母亲垂直传播。但婴儿肠道双歧杆菌的建立受到许多因素的影响，如分娩方式、喂养方式、婴儿性别等。

分娩方式是婴儿肠道菌群多样性和定植模式建立的关键因素。从出生到 3 天，经阴道分娩的婴儿肠道的双歧杆菌比剖宫产分娩的婴儿要丰富得多<sup>[11]</sup>。双歧杆菌是阴道分娩婴儿中占主导地位的肠道菌群，而剖宫产则可能是第 30 天新生儿总微生物多样性显著降低的主要诱因。但分娩方式对 6-12 个月的婴儿的肠道

中双歧杆菌的定植和多样性的影响较小<sup>[12]</sup>,而母乳喂养和生活条件等外部因素对双歧杆菌的分布有更大的影响。

细菌的转移主要发生在母婴之间,因此,喂养方式对婴儿早期肠道菌群发育的影响是非常重要的。相较于非母乳喂养的婴儿,母乳喂养的婴儿从母乳和乳晕皮肤中获得了更多的细菌。母乳中的细菌在婴儿出生后的第一个月里最突出。母乳喂养的婴儿通常富含双歧杆菌,最近的研究表明,人乳低聚糖可选择性地促进双歧杆菌的生长<sup>[13]</sup>。小鼠实验表明,哺乳母亲对婴儿肠道微生物多样性的影响比生母更大,这种差异在断奶后仍然存在<sup>[14]</sup>。母乳喂养6个月后,因为开始添加辅食的缘故,母乳不再是婴儿唯一的食物,母婴间普遍共享的微生物的数量也随着婴儿年龄的增长逐渐减少。然而,从母乳到婴儿肠道的早期双歧杆菌转移,可促进婴儿肠道的健康发育,并保护婴儿免受某些疾病的侵害。

肠道菌群受体重指数的影响,对代谢疾病和肠道炎症性疾病有重要影响。性别对肠道菌群发育和成熟有重要影响<sup>[15]</sup>。在出生后的前30天内,女婴肠道较男婴肠道有更多的梭菌和较低的肠杆菌,双歧杆菌的丰度差异不显著<sup>[16]</sup>。在一项针对20到50岁和大于60岁人群的研究中,同样发现双歧杆菌组没有性别效应<sup>[17]</sup>。

肠道微生物的组成随年龄而变化。研究显示,婴儿、成人和老年人肠道微生物群存在显著差异<sup>[18]</sup>。双歧杆菌是胃肠道的正常居民,它控制着母乳喂养健康的婴儿的肠道。双歧杆菌的种类在不同年龄(儿童和老年人)中不同<sup>[19]</sup>。双歧杆菌是健康婴儿肠道中最丰富的一种。成年后,水平显著下降,稳定,然后在老年人中再次下降<sup>[19]</sup>。

## 1.2 命早期

2009年Klaassens等人在母乳喂养和配方奶喂养的婴儿肠道中发现短双歧杆

菌、两歧双歧杆菌、长双歧杆菌长亚种和长双歧杆菌婴儿亚种<sup>[20]</sup>。此外，长双歧杆菌婴儿亚种在母乳喂养的婴儿中更常见，而长双歧杆菌长亚种在奶粉喂养的婴儿中更常见<sup>[21]</sup>。然而，青春双歧杆菌和链状双歧杆菌在成人中很常见，但只在配方奶粉喂养的婴儿中丰度也较高<sup>[20]</sup>。总体而言，长双歧杆菌、短双歧杆菌和两歧双歧杆菌在婴儿中更丰富。

### 1.3 成年

在成年期，双歧杆菌的相对丰度为 2-14%，并且保持稳定。Gueimonde 等人发现，在婴儿中双歧杆菌的含量比成人高，长双歧杆菌是婴儿中最丰富的种类<sup>[22]</sup>。Matsuki 等人发现成年人中青春双歧杆菌和链状双歧杆菌的含量较高<sup>[23]</sup>。此外，Chaplin 等人表明两歧双歧杆菌和短双歧杆菌随着年龄变化呈现下降趋势，但青春双歧杆菌却随年龄上升而呈上升趋势<sup>[24]</sup>。

### 1.4 老年人

双歧杆菌的数量随着年龄的增长而减少，物种的多样性也随之减少<sup>[25]</sup>。针对百岁人群的肠道双歧杆菌已有不少报道了，但结论仍然存在争议。中国百岁老人的双歧杆菌的组成与欧洲人相似<sup>[26]</sup>，但丰度比中国低龄老人的双歧杆菌要高<sup>[27]</sup>。在意大利百岁老人肠道中，丰度最高的双歧杆菌是长双歧杆菌，然后是青春双歧杆菌和两歧双歧杆菌，然后在中国百岁老人的肠道中齿双歧杆菌在双歧杆菌中占主导地位<sup>[28, 29]</sup>。

长双歧杆菌长亚种的分布和长双歧杆菌组的分布类似，这可能表明长双歧杆菌长亚种是人类肠道微生物群中主要的长双歧杆菌组成。Odamaki 等人发现了一些长双歧杆菌长亚种菌株可利用植物源糖和人乳低聚糖，这就是从儿童肠道到老年人肠道中最普遍的双歧杆菌组成是长双歧杆菌长亚种的原因<sup>[30]</sup>。此外，鸡双歧

杆菌、最小双歧杆菌和摩恩格里艾恩斯双歧杆菌在中国百岁老人肠道中均可检出[29]。

## 1.5 其他影响肠道菌群组成的因素

肠道菌群受到多种因素的影响，包括饮食、季节、抗生素和基因。饮食可以改变肠道菌群，对整体健康有深远的影响，可能是有益的也可能是有害的，这取决于于菌群组成的相对同一性和丰度<sup>[31]</sup>。然而，Peddada 发现旱季时哈扎人的肠道微生物多样性高于雨季时的多样性。研究发现旱季与雨季时后壁菌门的丰度基本一致，但从旱季到雨季变化时，拟杆菌门的数量显著下降<sup>[32]</sup>。但 Smits 等人却发现旱季雨季的微生物菌群并没有显著性差异，而雨季微生物菌群相比旱季微生物菌群呈现显著低的碳水化合物活性酶多样性<sup>[33]</sup>。

年龄也影响肠道菌群。Woodmansey 等人（2004）发现，延长使用抗生素对老年人肠道菌群组成有巨大影响，特别是直接导致双歧杆菌减少<sup>[25]</sup>。Dąbrowska 和 Witkiewicz 的研究表明，宿主的遗传结构可以改变肠道微生物的组成。在 1 个月大的时候，肠道菌群的组成受遗传因素的影响，但在 12 个月大的时候环境因素成为影响肠道菌群主要的决定因素<sup>[34]</sup>。

目前的研究主要集中在双歧杆菌在对肠道内拮抗有害细菌、增强肠道动力、保护肠道生态方面。此外，更多关于益生菌对临床治疗以及疾病和健康的研究正在进行中。

## 2 对健康与疾病的影响

### 2.1 肠道健康与疾病

#### 2.1.1 调节肠黏膜免疫系统

目前，粘附肠道细胞形成具有保护作用的生物屏障机理被普遍接受，而免疫系统作为肠道微生物群和系统能量稳态的纽带，通过 toll 样受体、黏膜屏障和短链脂肪酸来调节。De Roock 提出双歧杆菌可诱导翅膀状螺旋转录因子 P3 作为主要的转录因子，可控制 T 调节细胞，如 Treg 或 CD4<sup>+</sup>细胞<sup>[35]</sup>。分离自人肠道的不同双歧杆菌，在体外免疫应答方面具有明显的差异<sup>[36]</sup>。此外，研究者还指出，双歧杆菌通过可产生醋酸，以保护人类肠致病原性感染<sup>[37]</sup>。

双歧杆菌在改善人类肠道健康和疾病方面的作用已被充分证明，双歧杆菌也被广泛认为是预防和治疗慢性炎症的益生菌。保护性双歧杆菌产生的醋酸能改善上皮细胞介导的肠道防御，从而保护宿主免受致命感染。对双歧杆菌作用机制的详细了解将有助于改善慢性炎症的治疗，包括腹泻<sup>[38]</sup>、炎症性肠病（IBD）、结直肠癌和坏死性小肠结肠炎等。

### 2.1.2 双歧杆菌和结直肠癌

结直肠癌是一种世界性的健康问题，是最常见的胃肠道癌症。结直肠癌的发展主要受到遗传因素的挑战，其次是环境因素<sup>[39]</sup>。肠道菌群的长期紊乱和失调导致慢性炎症，并可能增加结直肠癌<sup>[40]</sup>的风险，但结直肠癌的机制尚未阐明。

肠道腐败细菌，如拟杆菌，梭菌可引起结直肠癌<sup>[41]</sup>。然而，双歧杆菌可以减少肠道中腐败菌的数量，增加益生菌的量。研究表明，抗性淀粉和双歧杆菌的组合对致癌物有促凋亡作用<sup>[42]</sup>。因此，可以推测双歧杆菌改变了肿瘤细胞分化的过程，形成结直肠癌。此外，双歧杆菌细胞壁上的肽聚糖能刺激肠道免疫细胞，刺激宿主产生免疫抗体，增加巨噬细胞活性，旨在增强机体抗肿瘤能力。此外，通过定性和定量分析，在结直肠癌患者中发现了双歧杆菌菌群的异常。在结肠癌患者中观察到长双歧杆菌（62%），但是没有发现动物双歧杆菌，而青春双歧杆菌仅在粘膜中被发现，结直肠癌患者的肠道总双歧杆菌数量较低<sup>[43]</sup>。婴儿双歧杆菌通过对结直肠癌大鼠的 T 细胞免疫调节而改善化疗引起的肠黏膜炎。实时定量 PCR 显示，婴儿双歧杆菌可以有效地减弱化疗引起的肠黏膜炎，同时降低 Th1 和 Th17 反应，增加 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> Tregs 反应<sup>[44]</sup>。

### 2.1.3 双歧杆菌和腹泻

轮状病毒可导致婴幼儿严重腹泻。研究证实外源性补充双歧杆菌能有效预防和治疗严重腹泻后肠道菌群紊乱<sup>[45]</sup>。每天补充低聚半乳糖/多聚果糖、短双歧

杆菌或者两者相结合，对轮状病毒引起的腹泻实现显著的辅助治疗效果<sup>[46]</sup>。据报道，短双歧杆菌 CNCM I-3865（NCC2950）以及含有该菌的制剂在预防或治疗过敏性腹泻中的应用。短双歧杆菌 CNCM I-3865（NCC2950）以非复制形式存在，治疗过敏性腹泻或降低出现过敏性腹泻的风险方面至少有部分作用<sup>[47]</sup>。该菌减少腹泻的机制是通过调节宿主免疫系统或胃肠道菌群的组成和所产的副产物。

#### 2.1.4 双歧杆菌和坏死性小肠结肠炎

在早产儿中，坏死性小肠结肠炎是一种毁灭性的、不可预测的疾病，大约有 7% 的婴儿体重不足 1500 克<sup>[48,49]</sup>。尽管它是在一个世纪前就被首次描述，但其的确切原因尚不清楚。早产儿由于发育不成熟的关键功能，特别是胃肠蠕动、消化能力、循环调节、肠屏障功能和免疫防御，处于高危状态<sup>[44]</sup>。

作为一种至关重要的益生菌，双歧杆菌已被广泛用于预防坏死性小肠结肠炎<sup>[49-51]</sup>。多项临床试验证实，双歧杆菌可降低坏死性小肠结肠炎的发病率和严重性<sup>[52,53]</sup>。Bergmann 等人发现，摄入双歧杆菌增加了肠道通透性，保护了紧密连接蛋白 Claudin4，并阻断了紧密蛋白的定位，降低了坏死性小肠结肠炎的发生率<sup>[49]</sup>。这些发现表明双歧杆菌对坏死性小肠结肠炎的保护作用可能是由其紧密连接蛋白和屏障的维护特性而实现。此外，Khailova 等报道患有坏死性小肠结肠炎的大鼠摄入两歧双歧杆菌后粘膜上皮的 TLR-2 的表达提高，同时 COX-2 的上皮表达也提高，增加了肠道 PGE2 的生成<sup>[50]</sup>。此外，两歧双歧杆菌治疗还会导致在肠道损伤的部位产生强烈的抗凋亡反应，这表明肠下调凋亡是两歧双歧杆菌降低黏膜损伤并保持肠道完整性的一种分子机制<sup>[54]</sup>。然而，由 Costeloe 进行的双盲随机对照试验表明，短双歧杆菌 BBG-001 对坏死性小肠结肠炎没有预防作用<sup>[55]</sup>。因此，并不是所有的双歧杆菌菌株都能预防坏死性小肠结肠炎，而有效果的双歧杆菌应该进行临床试验。

#### 2.1.5 双歧杆菌和炎症性肠病（IBD）

IBD 可能是由遗传易感宿主的肠道微生物产生的异常免疫反应引起的<sup>[56]</sup>，由克罗恩病和溃疡性结肠炎组成，在欧美影响了超过 360 万人<sup>[57]</sup>。IBD 患者常出现肠道菌群的失调。IBD 的大量抗生素治疗证据表明，克罗恩病病人的粪流改道，及结肠炎实验模型，改善失调的肠道菌群已成为 IBD 的新疗法<sup>[58]</sup>。

临床研究表明，双歧杆菌可减少 IBD 患者肠道的古生物群、条件致病菌和

致病菌，这表明双歧杆菌可以作为 IBD 的生物标志物。因此，双歧杆菌是 IBD 的潜在有效的保护者。在动物模型中对婴儿双歧杆菌 35624 进行的初步实验显示其有抑制促炎细胞因子和保护抗炎细胞因子的作用<sup>[59]</sup>。这一效应也已在正常的人类志愿者中获得，在口服该细菌后，志愿者血清中重要的抗炎细胞因子白介素 IL-10 的水平升高。该菌还可降低溃疡性结肠炎患者的 C 反应蛋白水平。这些影响的免疫学和分子基础已经详细阐述，并且似乎是基于对树突状细胞的优先参与，导致调节性 T 细胞（Treg）的诱导，而不是炎症串联的激活<sup>[58]</sup>。此外，Srutkova 等人报道长双歧杆菌 7952，而不是长双歧杆菌 372，可以缓解葡聚糖硫酸酯钠诱导结肠炎小鼠的症状，维持紧密蛋白的表达，保护肠上皮屏障功能<sup>[54]</sup>。虽然益生菌发挥改善 IBD 功效的确切机制仍不清楚，这可能涉及 IBD 的病理生理的各方面，即肠道菌群、肠道屏障功能和免疫系统<sup>[60]</sup>。

## 2.2 双歧杆菌和糖尿病

在用高果糖或低果糖糖浆治疗的小鼠中，双歧杆菌与葡萄糖耐量改善、葡萄糖诱导的胰岛素分泌和缓解炎症（降低内毒素血症、血浆和脂肪组织促炎细胞因子）呈显著的正相关。Toll 样受体主要识别革兰氏阴性菌细胞壁成分脂多糖。在肥胖者或高热量饮食后，血液中的脂多糖水平升高<sup>[38]</sup>。

## 2.3 双歧杆菌与碳水化合物代谢

碳水化合物的饮食可能会增加包括双歧杆菌在内的糖化细菌<sup>[62]</sup>。作为糖化菌，双歧杆菌在胃肠道中生存的能力很大程度上依赖于它们在这种环境中使用复杂碳水化合物的能力。研究表明，不同的双歧杆菌菌株可能具有不同的碳水化合物使用能力；与此同时，现有的双歧杆菌基因组中有很一部分基因被预测出可以参与糖代谢，其中大约一半的基因是通过 ABC 转运蛋白、渗透酶和质子交换器作用，而不是通过磷酸烯醇丙酮-磷酸转移酶（PEP-PTS）转运来进行碳水化合物摄取<sup>[63]</sup>。Watson 等人通过一系列的诊断参数（如最终的 OD<sub>600</sub> 值、pH 值、发酵终产物浓度和生长速率）估计生长和代谢程度，发现双歧杆菌对碳水化合物的使用是有选择性的<sup>[64]</sup>。为在营养丰富的培养基中实现双歧杆菌的广泛培养，必须依赖商业化开发。然而这一趋势导致基因组的衰退，可能成为碳水化合物摄取减少的原因<sup>[5,65]</sup>。另有研究证明双歧杆菌的内化碳水化合物是由三磷酸腺苷依赖的 ATP 结合盒转运体以及磷酸烯醇丙酮-磷酸转移酶（PEP-PTS）转运来进行<sup>[66]</sup>。



短双歧杆菌 UCC2003 被预测可编码 4 个 PEP-PTS 系统, 如两歧双歧杆菌 PRL2010 一样。并且已经通过实验证明短双歧杆菌 UCC2003 有果糖-诱导果糖/葡萄糖摄取系统<sup>[67-68]</sup>。

### 3. 双歧杆菌的临床应用

双歧杆菌在婴儿出生后不久便开始定植于肠道中, 并发挥重要的生理作用, 如刺激宿主免疫系统、增强肠屏障功能以及维持肠道微生态的稳定<sup>[69-71]</sup>。双歧杆菌在肠道中的定植和分布已被证实与多种疾病相关, 如腹泻、抑郁和肥胖<sup>[72-74]</sup>, 很多临床研究表明双歧杆菌有助于预防和缓解这些疾病。这里, 我们将列出有关双歧杆菌干预肠道及代谢疾病的临床证据 (如表 1)。

#### 3.1 肠道疾病

双歧杆菌作为主要的肠道微生物之一, 在维持健康的肠道功能方面起到了重要作用。新生儿抗生素的使用会影响肠道中双歧杆菌的定植, 引发抗生素相关的腹泻<sup>[75]</sup>。在抗生素治疗的同时, 补充  $10^7$  个乳双歧杆菌和  $10^6$  个嗜热链球菌, 连续补充 15 天, 能显著降低婴儿抗生素相关的腹泻的发生率<sup>[76]</sup>。长双歧杆菌 PL03 与鼠李糖乳杆菌 KL53A 和植物乳杆菌 PL02 联合使用, 可以显著降低儿童每日腹泻的平均次数, 但是儿童中腹泻发生比例并没有改变<sup>[70]</sup>。在成年人中, 抗生素治疗也会给胃肠道带来沉重的负担, 而且随着一些致病菌株耐药性的增加, 抗生素治疗已不能达到消除致病菌的目的。双歧杆菌可以作为一种生物治疗手段缓慢发挥作用, 并且不会对其他肠道菌群产生很大的影响。Sheu 等人研究了一种含有乳杆菌和双歧杆菌的酸奶对幽门螺杆菌清除效果的影响, 发现在一周的三联法治疗 (质子泵抑制剂和两种抗生素联用) 过程及治疗结束后的四周内, 一直服用这种酸奶可以显著增加幽门螺杆菌清除的成功率, 实验组和对照组的成功率分别为 91% 和 78%<sup>[72]</sup>。动物双歧杆菌 Bb-12 和嗜酸乳杆菌 La-5 发酵酸奶也有类似的效果<sup>[73]</sup>。此外, 另一研究也表明同时服用双歧杆菌和乳杆菌的病人在一周的幽门螺杆菌治疗期间腹泻和味觉障碍的发生率降低<sup>[73]</sup>。

炎症性肠病是一种小肠或结肠处于严重炎症状态的疾病, 由多重因素造成, 如感染、基因变异。很多研究表明一些双歧杆菌及其代谢产物、某些特定的细胞成分具有免疫调节作用<sup>[74]</sup>。这些证据表明双歧杆菌具有治疗炎症性肠病的潜力。临床试验已经证实含有双歧杆菌的益生菌、发酵酸奶作为常规治疗的辅助手段,

可以显著缓解溃疡性结肠炎<sup>[75-77]</sup>。而这些研究中涵盖的双歧杆菌主要包括长双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、两歧双歧杆菌、短双歧杆菌及动物双歧杆菌乳亚种。Tamaki 等人研究了长双歧杆菌 BB536 在缓解轻度至中度溃疡性结肠炎中的作用，发现连续服用 BB536 八周可以显著降低溃疡性结肠炎疾病活动指数、Rachmilewitz 内镜指数和 Mayo 分数<sup>[78]</sup>。有趣的是，两歧双歧杆菌和嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌联合起来干预 8 周，对非肠道疾病——关节炎有效，对所有测定指标包括 DAS-28、胰岛素水平、HOMA-B、hs-CRP 水平均有改善<sup>[79]</sup>。

不同于炎症性肠病，肠应激综合症涉及一系列肠道功能的紊乱。肠应激综合症也伴随着肠道微生物的改变。小肠细菌的过渡生长和脑肠轴的改变可能与这类疾病相关。双歧杆菌在这类疾病方面的益生效果已得到广泛地研究。一种益生菌产品 VSL#3，包含三种双歧杆菌（长双歧杆菌、婴儿双歧杆菌和短双歧杆菌）对于缓解以腹泻为主的肠应激综合症患者的腹胀有良好的效果<sup>[80]</sup>。短双歧杆菌 Bb99 与鼠李糖乳杆菌 LGG、鼠李糖乳杆菌 LC705、费氏丙酸杆菌 JS 联合干预 6 个月，发现益生菌干预组肠易激综合症的综合指标评分显著下降<sup>[21]</sup>。此外，含有婴儿双歧杆菌 35624 的麦乳精干预 8 周可以降低综合评分、使得 IL-10/IL-12 的比例变正常，表明其在免疫调节方面的积极作用<sup>[81]</sup>。其他有效的菌株包括两歧双歧杆菌 MIMBb75 和乳双歧杆菌 DN-173010<sup>[82-84]</sup>。

### 3.2 代谢疾病

糖尿病和肥胖是常见的代谢性疾病，近年来肠道微生物与代谢性疾病之间的联系已经得到认可。其中一个可能的机制就是代谢内毒素导致低度炎症。损伤的肠道屏障功能使得更多细菌的脂多糖进入血液，从而引发或加重炎症或导致氧化应激<sup>[85]</sup>。其他一些损伤包括胰岛抵抗、糖脂代谢紊乱及肝脏疾病。特定双歧杆菌可以调节肠道屏障功能、减少内毒素从肠腔渗漏和发挥抗氧化活性，对此，临床试验中有大量相关研究。VSL#3 持续干预 6 周可以显著降低超重成年人总胆固醇的水平、甘油三酯的水平、低密度脂蛋白 LDL 的水平、极低密度脂蛋白的水平，增加高密度脂蛋白的水平<sup>[86]</sup>。同样地，在补充这种益生菌 4 个月后，患有非酒精性脂肪肝的超重儿童身体质量指数 BMI 降低，胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 的水平增加<sup>[87]</sup>。动物双歧杆菌乳亚种 Bb-12 与嗜酸乳杆菌 La-5 联合干预 II 型糖尿病患者，可以改善对葡萄糖的控制，降低血清 TNF- $\alpha$  的水平<sup>[88]</sup>。此外，乳双歧杆

菌和嗜酸乳杆菌一起也有助于缓解糖尿病，表明了双歧杆菌作为糖尿病治疗辅助手段的潜力<sup>[89]</sup>。

这些研究表明双歧杆菌在提高和调节宿主健康方面具有极大的潜力。但是，值得一提的是也有临床研究表明双歧杆菌在预防和缓解疾病方面无效。例如，动物双歧杆菌 Bb-12 和嗜酸双歧杆菌 La-5 发酵的酸奶在降低心血管疾病的风险方面无效，血压、总胆固醇、低密度胆固醇、高密度胆固醇和甘油三酯水平在实验组和对照组没有显著差异<sup>[90]</sup>。另一个临床研究也表明：短双歧杆菌和乳双歧杆菌在降低急性胰腺炎导致的感染性并发症风险方面无效<sup>[49]</sup>。因此，双歧杆菌不适合做药用，而适合做为辅助手段促进机体健康。此外，个体差异和精准营养在近年来受到广泛关注。特定的双歧杆菌及其与不同个体之间的互动需要进一步探明，如此更加个性化的临床研究有助于双歧杆菌一种更加安全和高效的利用方式发挥功效。

## 4 双歧杆菌的新功能

### 4.1 脑-肠轴调控抑郁和焦虑

压力、心理疾病和肠道疾病之间有着紧密的联系，一些实验表明压力过大常伴随着肠胃疾病。但通过口服含有双歧杆菌 R0175 和瑞士乳杆菌 R0052 的益生菌产品已被证明有效地缓解了心理困扰，并且没有任何不良反应<sup>[91]</sup>。此外，临床实验证明长期口服长双歧杆菌 1714 可以有效调节志愿者的情绪，电生理和神经认知状态<sup>[92]</sup>。并且，在切断迷走神经的小鼠中，长双歧杆菌 NCC3001 的抗焦虑作用失效，这是该效应的神经机制的重要证据。由于长双歧杆菌 NCC3001 降低了肠神经元的兴奋性，因此可能通过在肠神经系统水平触发迷走神经通路向中枢神经系统发出信号，从而使心理疾病得到缓解<sup>[93]</sup>。同时，双歧杆菌也有能力产生许多神经递质和神经调质，比如 $\gamma$ -氨基丁酸<sup>[94]</sup>。尽管如此，在临床模型中出现的抗焦虑效应的机制目前还不清楚。但已有的研究提供了有效的证据，即双歧杆菌可能通过肠-脑轴在压力和焦虑中起重要作用。值得注意的是，尽管体外实验和相应的理论越来越成熟和完善，但动物实验和人体实验环节却相对薄弱，除了实验过程存在的问题外，也涉及道德伦理，因此也是未来研究的一个重点。

### 4.2 抗衰老

由于生理功能的下降，人们面临许多健康问题。特别是免疫防御系统尤其容易受到在衰老过程中的损害，这种现象被认为是免疫衰老。免疫衰老意味着有助于先天免疫的白细胞的比例和功能已经发生了变化。因此，任何能够提高老年人免疫力的食品都会受到欢迎。一些调查显示，饮食干预可以提高免疫力<sup>[95]</sup>，30名健康老年志愿者在服用乳酸双歧杆菌 HN019 九周，3 阶段的饮食补充试验后，血液中辅助（CD4<sup>+</sup>）和活化的（CD25<sup>+</sup>）T 淋巴细胞和自然杀伤细胞的比例得到明显增高<sup>[96]</sup>。在另一项免疫系统功能随年龄下降的研究中，45 名老年患者接受长双歧杆菌 BB536 治疗 12 周后，再观察 4 周。所有接受长双歧杆菌 BB536 治疗的患者，其肠道微生物群中的双歧杆菌属细菌数量都有着显著的增加，然而免疫指标活性没有明显变化，特别是自然杀伤细胞<sup>[97]</sup>。

另外，通过肠道微生物群的组成显著变化，是将疾病暴发和衰老联系起来的重要一点。先前的实验发现，老年人肠道中的双歧杆菌种属的多样性显著低于年轻受试者<sup>[98]</sup>。此外，6 个月的临床试验表明，口服补充含长双歧杆菌 2c 和 46 的益生菌制品，通过血清水平的免疫吸附测定，发现血清中的细胞因子 IL-10，TNF- $\alpha$  和转化生长因子（TGF）- $\beta$ 1 表达的更多<sup>[99]</sup>。

在之前的实验中，双歧杆菌表面分子脂磷壁酸（LTA）已被证明具有抗氧化作用，可有效延缓衰老<sup>[100]</sup>。但是，必须承认双歧杆菌抗衰老的研究尚处于探索阶段。虽然报告认为通过提高免疫力，肠道微生物群以及 LTA，双歧杆菌具有潜在的抗衰老作用，但其在分子水平的探讨仍存在大片空白，还需要进一步的长期研究来验证其抗衰老作用。

表 1 应用双歧杆菌干预疾病的临床研究

疾病	临床情况	受试菌株	人群描述	摄取（时间；形式；剂量）	结果	备注	文献
胃肠道疾病	幽门螺杆菌感染	乳双歧杆菌 Bb12 和其他益生菌的混合制剂	160 名幽门螺杆菌患者的胃肠道	4 周；酸奶； 1×10 <sup>10</sup> CFU/天	提高幽门螺杆菌清除率；重构双歧杆菌菌群	化学药物疗法的辅助	[100]
			85 个幽门螺杆菌阳性、无症状病人	2 周；冻干粉； 10 <sup>10</sup> CFU/天	和安慰剂相当的幽门清除率；比安慰剂更小的副作用	化学药物疗法的辅助	[71]
			138 名幽门螺杆菌感染的胃病患者	药物治疗前 4 周；酸奶； 4×10 <sup>11</sup> CFU/天	相比化学药物组，益生菌加化学药物疗法具有更高的幽门清除率	化学药物疗法的辅助	[73]
			70 名幽门螺杆菌感	6 周；酸奶；	6 周的治疗期后幽门螺	仅采用受试	[72]

			染的成人	9.2×10 <sup>9</sup> CFU/天	杆菌的脲酶活力下降	菌干预	
		动物双歧杆菌和干酪乳杆菌	65名幽门螺杆菌感染儿童	3个月；酸奶；2.5×10 <sup>9</sup> CFU/天	幽门清除率提高	化学药物疗法的辅助	[7]
		两歧双歧杆菌	79个人	12周；益生菌饮料；无摄取剂量的要求	提高的清除率；下降的幽门螺杆菌脲酶活力；减轻的胃部炎症	仅采用受试菌干预	[101]
炎症性肠病 (IBD)		短双歧杆菌、两歧双歧杆菌、嗜酸乳杆菌	20名溃疡性结肠炎患者	12周；双歧杆菌发酵牛奶；10 <sup>9</sup> CFU/天	相比安慰剂组，下降的临床活力指数以及组织病理得分；增加的粪便短链脂肪酸含量	与传统疗法协同	[102]
		VSL#3	28名溃疡性结肠炎患者	8周；袋装；每天 3.6×10 <sup>11</sup> CFU	诱导肠道树突状细胞功能；下调结肠中骨髓树突细胞中 TLR-2 表达和 IL-12p40 产生；上调 IL-10 产生	只有 VSL#3	[103]
			144名溃疡性结肠炎患者	8周；袋装；每天 3.6×10 <sup>11</sup> CFU	下降的溃疡性结肠炎疾病活力指数得分；改善直肠出血症状	与传统疗法协同	[74]
		长双歧杆菌 356	56名日本溃疡性结肠炎患者	8周；含长双歧杆菌 356 胶囊；2-3×10 <sup>11</sup> /天	下调的溃疡性结肠炎疾病活力指数得分，EI 以及 Mayo 子得分	与传统疗法协同	[76]
		BIFICO	30名溃疡性结肠炎患者	8周；BIFICO 胶囊；1.26g/天	低复发率；粪便中具有更高的乳杆菌和双歧杆菌丰度；抑制了 NF-κB 通路的激活并且下调 TNF-α 和 IL-1β 的表达；提高 IL-10 的表达	传统疗法停止后使用	[104]
		Probio-Tec AB-25 (嗜酸乳杆菌 La-5 和动物双歧杆菌 Bb-12)	32名处于缓解期的溃疡性结肠炎患者	52周；Probio-Tec AB-25 胶囊；1.5×10 <sup>11</sup> CFU/天	与安慰剂组相比，具有更低的复发率	仅 Probio-Tec AB-25	[105]
肠应激综合症 (IBS)		婴儿双歧杆菌 35624	362名 IBS 女性患者	4周；冻干，胶囊化的粉末；10 <sup>6</sup> ，10 <sup>8</sup> ，或者 10 <sup>10</sup> CFU/天	在改善 IBS 症状方面，显著优于安慰剂组和其他剂量	仅婴儿双歧杆菌 35624	[106]
			77名 IBS 患者	8周；麦乳精饮料；10 <sup>10</sup> CFU/d	下调症状得分；恢复 IL-10/IL-12 的比例	仅婴儿双歧杆菌 35624	[107]
		动物双歧杆菌 DN-173010	267名经受初级治疗的便秘主导型 IBS 成年患者	6周；酸奶；2.5×10 <sup>10</sup> CFU/天	对便秘主导型 IBS 患者的不适 HRQoL 得分和胀气具有有益作用，并且可改善排便频率	含有动物双歧杆菌 DN-173010 的酸奶	[108]
			34名女性 IBS 患者	4周；发酵牛奶；2.5×10 <sup>10</sup> CFU/天	改善腹围客观测量值和胃肠道周转，并且减轻疾病症状	动物双歧杆菌 DN-173010	[109]

						酸奶	
		两歧双歧杆菌 MIMBb75	122 名 IBS 患者	4 周；未包被胶囊中的干粉； 10 <sup>9</sup> CFU/天	缓解 IBS 整体症状；改善 IBS 疾病的疼痛、胀气、消化不良等症状；相比安慰剂组，疾病缓解率更高	仅两歧双歧杆菌 MIMBb75	[110]
	便秘	乳双歧杆菌 DN-173010	126 名便秘的中国女性患者	2 周；发酵牛奶； 1.25×10 <sup>10</sup> CFU/天	改善了排便频率和排便状况	仅乳双歧杆菌 DN-173010	[111]
代谢疾病	II 型糖尿病	两歧双歧杆菌，长双歧杆菌，婴儿双歧杆菌、三种乳杆菌	136 名 II 型糖尿病患者	12 周；袋装； 每株菌 10 <sup>10</sup> CFU/天	改善了糖基化血红蛋白水平和空腹胰岛素水平	仅益生菌混合物	[112]
		动物双歧杆菌乳亚种 Bb2 和嗜酸乳杆菌 La-5	45 名 II 型糖尿病志愿者	6 周；发酵牛奶； 每株菌 10 <sup>9</sup> CFU/天	改善患者血糖控制；降低炎症细胞因子水平 (TNF-α 和 抵抗素)；增加粪便乙酸含量	仅益生菌	[89]
		益生菌发酵牛奶 (开菲尔)	60 名糖尿病患者	8 周；发酵牛奶；干酪乳杆菌 10 <sup>10</sup> CFU/天、嗜酸乳杆菌 10 <sup>10</sup> CFU/天、双歧杆菌 10 <sup>9</sup> CFU/天	相比于安慰剂组和基底值，下调 HbA1C	仅益生菌	[90]
		嗜酸乳杆菌 La-5 和乳双歧杆菌 Bb-12	44 名 II 型糖尿病患者	8 周；发酵牛奶；嗜酸乳杆菌 La-5 (10 <sup>12</sup> CFU/天) 和乳双歧杆菌 Bb-12 (10 <sup>12</sup> CFU/天)	显著降低了低密度脂蛋白-胆固醇/高密度脂蛋白-胆固醇比例	仅益生菌	[113]
	超重和肥胖	VSL#3	60 名超重 (BMI>25) 健康成人	6 周；冻干粉胶囊；10 <sup>9</sup> CFU/天	降低总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白和超低密度脂蛋白，并降低高密度脂蛋白；改善胰岛素敏感性、降低 hsCRP、促进肠道菌群平衡	仅 VSL#3	[87]
		嗜酸 La-5 和动物双歧杆菌乳亚种 BB12	156 超重的男性和女性患者	6 周；酸奶或胶囊 3.0×10 <sup>9</sup> CFU/天	没有显著作用	仅益生菌	[91]
		嗜酸乳杆菌 La-5 和乳双歧杆菌 BB-12	72 个非酒精性脂肪肝病病人	8 周；酸奶；嗜酸乳杆菌 La-5(10 <sup>9</sup> CFU/天)和乳双歧杆菌 Bb-12(10 <sup>9</sup> CFU/天)	改善肝脏酶、血清总胆固醇以及低密度脂蛋白胆固醇水平	仅益生菌	[114]

		VSL#3	44 名确诊的非酒精性脂肪肝患病儿童	胶囊；10 岁以下儿童每天 1 袋；10 岁以上青少年每天 2 袋	改善 NAFLD 症状；增加 GLP-1	仅益生菌	[88]
免疫相关疾病	类风湿关节炎	嗜酸乳杆菌, 干酪乳杆菌和两歧双歧杆菌	类风湿关节炎病人	8 周；胶囊；每天一粒 (嗜酸乳杆菌 $2 \times 10^9$ CFU/g, 干酪乳杆菌 $2 \times 10^9$ CFU/g 和两歧双歧杆菌 $2 \times 10^9$ CFU/g)	相比安慰剂组, 改善关节疾病活力得分；降低血清胰岛素水平、自稳态模型评价 B 细胞功能 (HOMA-B) 以及血清高敏感 C-反应性蛋白 (hs-CRP) 浓度	仅益生菌	[79]
肠-脑轴	抑郁和焦虑	长双歧杆菌 1714	22 名健康志愿者	4 周；益生菌棒； $10^9$ CFU/天	降低了压力；改善记忆能力等行为学指标	仅长双歧杆菌 1714	[93]
		瑞士乳杆菌 R0052 和长双歧杆菌 R0175	55 名志愿者	30 天；益生菌棒；瑞士乳杆菌 R0052 和长双歧杆菌 R0175 ( $3 \times 10^9$ CFU/天)	缓解受试者心理抑郁的情绪	仅益生菌	[94]

## 5. 结论和展望

临床转化研究通常以人类的临床数据开始，用动物模型研究机制作为过渡，最终用于新型疗法的开发来缓解或治愈人类疾病状态。肠道中双歧杆菌丰度与宿主健康状态的阳性相关，以及世界范围内流行病学数据和人群膳食模式，表明双歧杆菌具有对宿主健康发挥有益作用的潜力。

双歧杆菌与宿主健康/疾病状态间的关联已经在动物模型上得到研究。动物实验上的机制发现证明了双歧杆菌的功能性，并且将菌株的这些益生功能归因为至少两个方面：(1) 对肠道微环境的调节（包括调节肠道菌群，或通过它们代谢物发挥功能）；(2) 直接调节宿主免疫。

另外，临床研究表明无论是单独使用益生菌或将益生菌与其他疗法相结合，双歧杆菌对宿主健康的作用都是很清楚的，且有据可依的。这些有益作用当然也有可能是特异性的，对菌株的安全性和效率的评价不能在种内或属内扩展，进一步的研究仍显必要。

另一方面，无论是动物模型上的机制探索，还是基于人群的临床研究，双歧杆菌研究的终极目标仍是有益于宿主健康。因此，各式各样的基于双歧杆菌的益

生菌食品需要被开发，并且在市面上随处可见。随着临床研究的深入，发现了一些对宿主健康行使有益作用的明星菌株，包括乳双歧杆菌 Bb-12，短乳杆菌 Yakult，以及混菌制剂 VSL#3。这些发现极大程度地加速了双歧杆菌的产业化进程。代表性的益生菌产品包括发酵牛奶（开菲尔），Yakult 酸奶以及 Yakult 乳饮料等，这些产品基于双歧杆菌的功能用以调节宿主的胃肠道功能和免疫状态，并且具有调节宿主全身机能的间接潜力。

未来，双歧杆菌相关研究应该不局限于其与肠道黏膜的联系，外肠道的远端部位需要被进一步开发和重视，如肠-脑轴等。另外，应试图找到双歧杆菌的功能组分，并将这些功能组分直接用于临床研究，将为人类健康提供更加有效的疗法。在未来需要开展更标准化、更可靠的临床研究，以更新或者校准现有临床数据和结果，更好的开发双歧杆菌的功能。

#### 参考文献：

- [1] Amp G, Malcata F X. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics [J]. Trends in Food Science and Technology, 1999, 10(4-5):139-157.
- [2] Klijin A, Mercenier A, Arigoni F, et al. Lessons from the genomes of bifidobacteria [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2005, 29(3): 491-509.
- [3] Ventura M, Canchaya C, Tauch A, et al. Genomics of *Actinobacteria*: tracing the evolutionary history of an ancient phylum [J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2007, 71(3): 495-548.
- [4] Laureys D, Cnockaert M, De Vuyst L, et al. *Bifidobacterium aquikefiri* sp. nov., isolated from water kefir[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2016, 66(3): 1281-1286.
- [5] Lee JH, Karamychev VN, Kozyavkin SA, et al. Comparative genomic analysis of the gut bacterium *Bifidobacterium longum* reveals loci susceptible to deletion during pure culture growth [J]. BMC Genomics, 2008, 9(1): 247.
- [6] Turrone F, Peano C, Pass DA, et al. Diversity of bifidobacteria within the infant gut microbiota [J]. PLoS One, 2012, 7(5): e36957.
- [7] Wang KY, Li SN, Liu CS, et al. Effects of ingesting *Lactobacillus*-and *Bifidobacterium*-containing yogurt in subjects with colonized *Helicobacter pylori* [J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2004, 80(3): 737-741.
- [8] Mortaz E, Adcock IM, Ricciardolo FLM, et al. Anti-inflammatory effects of *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium breve* on cigarette smoke activated human macrophages [J]. PLoS One, 2015, 10(8): e0136455.
- [9] Rocio M, Hiroshi M, Aysun CY, et al. Early-life events, including mode of delivery and type of feeding, siblings and gender, shape the developing gut microbiota [J]. PLoS One, 2016, 11(6):e0158498.



- [10] Turrone F, Milani C, Duranti S, et al. Bifidobacteria and the infant gut: an example of co-evolution and natural selection [J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2017, (1):1-16.
- [11] Dogra S, Sakwinska O, Soh SE, et al. Dynamics of infant gut microbiota are influenced by delivery mode and gestational duration and are associated with subsequent adiposity [J]. MBio, 2015, 6(1):312-314.
- [12] Rutayisire E, Huang K, Liu Y, et al. The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: a systematic review [J]. BMC Gastroenterology, 2016, 16(1):86.
- [13] Yamada C, Gotoh A, Sakanaka M, et al. Molecular insight into evolution of symbiosis between breast-fed infants and a member of the human gut microbiome *Bifidobacterium longum* [J]. Cell Chemical Biology, 2017, 24(4): 515-524.
- [14] Pannaraj PS, Li F, Cerini C, et al. Association between breast milk bacterial communities and establishment and development of the infant gut microbiome [J]. JAMA Pediatrics, 2017. 171(7): p. 647.
- [15] Haro C, Rangel-Zúñiga OA, Alcalá-Díaz JF, et al. Intestinal microbiota is influenced by gender and body mass index [J]. PLoS One, 2016, 11(5): e0154090.
- [16] Cong X, Xu W, Janton S, et al. Gut microbiome developmental patterns in early life of preterm infants: impacts of feeding and gender [J]. PLoS One, 2016, 11(4): e0152751.
- [17] Mueller S, Saunier K, Hanisch C, et al. Differences in fecal microbiota in different european study populations in relation to age, gender, and country: a cross-sectional study [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(2):1027.
- [18] Conlon MA, Bird AR. The impact of diet and lifestyle on gut microbiota and human health [J]. Nutrients, 2014, 7(1): 17-44.
- [19] Odamaki T, Kato K, Sugahara H, et al. Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: a cross-sectional study [J]. BMC Microbiology, 2016, 16(1): 90.
- [20] Klaassens ES, Boesten RJ, Haarman M, et al. Mixed-species genomic microarray analysis of fecal samples reveals differential transcriptional responses of bifidobacteria in breast-and formula-fed infants [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(9): 2668-2676.
- [21] Guaraldi F, Salvatori G. Effect of breast and formula feeding on gut microbiota shaping in newborns [J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2012, 2.
- [22] Gueimonde M, Debor L, Tölkö S, et al. Quantitative assessment of faecal bifidobacterial populations by real-time PCR using lanthanide probes [J]. Journal of Applied Microbiology, 2007, 102(4): 1116-1122.
- [23] Matsuki T, Watanabe K, Fujimoto J, et al. Quantitative PCR with 16S rRNA-gene-targeted species-specific primers for analysis of human intestinal bifidobacteria [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(1): 167-173.
- [24] Chaplin AV, Brzhozovskii AG, Parfenova TV, et al. Species diversity of bifidobacteria in the intestinal microbiota studied using MALDI-TOF mass-spectrometry [J]. Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk, 2015 (4): 435-440.
- [25] Woodmansey EJ, McMurdo MET, Macfarlane GT, et al. Comparison of compositions and metabolic activities of fecal microbiotas in young adults and in antibiotic-treated and non-antibiotic-treated elderly subjects [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004,

70(10): 6113-6122.

- [26] Biagi E, Nylund L, Candela M, et al. Through ageing, and beyond: gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians [J]. *PLoS One*, 2010, 5(5): e10667.
- [27] Zhao L, Qiao X, Zhu J, et al. Correlations of fecal bacterial communities with age and living region for the elderly living in Bama, Guangxi, China [J]. *The Journal of Microbiology*, 2011, 49(2): 186-192.
- [28] Drago L, Toscano M, Rodighiero V, et al. Cultivable and pyrosequenced fecal microflora in centenarians and young subjects [J]. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 2012, 46: S81-S84.
- [29] Wang F, Huang G, Cai D, et al. Qualitative and semiquantitative analysis of fecal *Bifidobacterium* species in centenarians living in Bama, Guangxi, China [J]. *Current Microbiology*, 2015, 71(1): 143-149.
- [30] Odamaki T, Horigome A, Sugahara H, et al. Comparative genomics revealed genetic diversity and species/strain-level differences in carbohydrate metabolism of three probiotic bifidobacterial species [J]. *International Journal of Genomics*, 2015.
- [31] Singh RK, Chang HW, Yan D, et al. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health [J]. *Journal of Translational Medicine*, 2017, 15(1): 73.
- [32] Peddada S. Seasonal change in the gut. *Science*, 2017, 357(6353): p. 754-755.
- [33] Smits S A, Leach J, Sonnenburg ED, et al. Seasonal cycling in the gut microbiome of the Hadza hunter-gatherers of Tanzania [J]. *Science*, 2017, 357(6353):802.
- [34] Dąbrowska K, Witkiewicz W. Correlations of host genetics and gut microbiome composition [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7(1):1357.
- [35] De R S, Van E M, van Dijk M E, et al. Lactic acid bacteria differ in their ability to induce functional regulatory T cells in humans [J]. *Clinical and Experimental Allergy*, 2010, 40(1):103-110.
- [36] López P, Gueimonde M, Margolles A, et al. Distinct *Bifidobacterium* strains drive different immune responses *in vitro* [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2010, 138(1-2):157-165.
- [37] Hase K. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate [J]. *Nature*, 2011, 469(7331):543.
- [38] Cani PD, Neyrinck AM, Fava F, et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia [J]. *Diabetologia*, 2007, 50(11):2374-2383.
- [39] Castells A, Castellvíbel S, Balaguer F. Concepts in familial colorectal cancer: where do we stand and what is the future? [J]. *Gastroenterology*, 2009, 137(2):404-409.
- [40] Marchesi JR, Adams DH, Fava F, et al. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier [J]. *Gut*, 2016, 65(2):330.
- [41] Sobhani I, Tap J, Roudotthoraval F, et al. Microbial dysbiosis in colorectal cancer (CRC) patients [J]. *Plos One*, 2011, 6(1):e16393.
- [42] Leu R K L, Hu Y, Brown I L, et al. Synbiotic intervention of *Bifidobacterium lactis* and resistant starch protects against colorectal cancer development in rats [J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(2):246.
- [43] Gueimonde M, Ouwehand A, Huhtinen H, et al. Qualitative and quantitative analyses of the bifidobacterial microbiota in the colonic mucosa of patients with colorectal cancer,

diverticulitis and inflammatory bowel disease [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2007, 13(29):3985-3989.

[44] Mi H, Dong Y, Zhang B, et al. *Bifidobacterium infantis* ameliorates chemotherapy-induced intestinal mucositis via regulating T cell immunity in colorectal cancer rats [J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2017, 42(6):2330.

[45] Chen J, Zhang Y, Xiao G. A preliminary clinical study of bifidobacteria preparation on the treatment of diarrhea in severely burned patients [J]. *Chinese Medical Journal (English)*, 1998. 111(4): p. 381-382.

[46] Rigo-Adrover M, Saldaña-Ruiz S, Van LK, et al. A combination of scGOS/lcFOS with *Bifidobacterium breve* M-16V protects suckling rats from rotavirus gastroenteritis [J]. *European Journal of Nutrition*, 2016:1-14.

[47] Nutten S, Mercenier A, Duncker S. Prevention and treatment of allergic diarrhoea: US, US 20120183506 A1 [P]. 2012.

[48] Macdonald A, Green J. Necrotising enterocolitis and neonatal sepsis: A literature review. 2017.

[49] Bergmann KR, Liu S, Tian R, et al. Bifidobacteria stabilize claudins at tight junctions and prevent intestinal barrier dysfunction in mouse necrotizing enterocolitis [J]. *American Journal of Pathology*, 2013, 182(5):1595-1606.

[50] Khailova L, Mount Patrick SK, Arganbright KM, et al. *Bifidobacterium bifidum* reduces apoptosis in the intestinal epithelium in necrotizing enterocolitis [J]. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2010, 299(5):G1118.

[51] Iannucci GJ, Oster ME, Mahle WT. Necrotising enterocolitis in infants with congenital heart disease: the role of enteral feeds [J]. *Cardiology in the Young*, 2013, 23(4):553.

[52] Warner PBB, Deych E, Zhou Y, et al. Gut bacteria dysbiosis and necrotising enterocolitis in very low birthweight infants: a prospective case-control study [J]. *Lancet*, 2016, 387(10031):1928-1936.

[53] Wang Q, Dong J, Zhu Y. Probiotic supplement reduces risk of necrotizing enterocolitis and mortality in preterm very low-birth-weight infants: an updated meta-analysis of 20 randomized, controlled trials [J]. *Journal of Pediatric Surgery*, 2012, 47(1):241-248.

[54] Underwood M A, Kananurak A, Coursodon C F, et al. *Bifidobacterium bifidum* in a rat model of necrotizing enterocolitis: antimicrobial peptide and protein responses[J]. *Pediatric Research*, 2012, 71(5):546-551.

[55] Costeloe K, Hardy P, Juszczak E, et al. *Bifidobacterium breve* BBG-001 in very preterm infants: a randomised controlled phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2016, 387(10019):649-660.

[56] Wang W, Chen L, Zhou R, et al. Increased proportions of *Bifidobacterium* and the *Lactobacillus* group and loss of butyrate-producing bacteria in inflammatory bowel disease [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2014, 52(2):398-406.

[57] Kostic AD, Xavier RJ, Gevers D. The microbiome in inflammatory bowel disease: current status and the future ahead [J]. *Gastroenterology*, 2014, 146(6):1489-1499.

[58] Abraham B P, Quigley EMM. *Prebiotics and Probiotics in Inflammatory Bowel Disease (IBD)* [J]. 2016: Springer International Publishing.

[59] Konieczna P, Akdis CA, Quigley EM, et al. Portrait of an immunoregulatory *Bifidobacterium* [J]. *Gut microbes*, 2012, 3(3):261-266.

[60] Srutkova D, Schwarzer M, Hudcovic T, et al. *Bifidobacterium longum* CCM 7952

promotes epithelial barrier function and prevents acute DSS-induced colitis in strictly strain-specific manner [J]. *PLoS One*, 2015, 10(7):1-20.

[61] Vindigni SM, Zisman TL, Suskind DL, 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.

[62] Fava F, Gitau R, Griffin BA, et al. The type and quantity of dietary fat and carbohydrate alter faecal microbiome and short-chain fatty acid excretion in a metabolic syndrome 'at-risk' population [J]. *International Journal of Obesity*, 2013, 37(2):216-223.

[63] Pokusaeva K, Fitzgerald GF, Sinderen DV. Carbohydrate metabolism in *Bifidobacteria* [J]. *Genes and Nutrition*, 2011, 6(3):285-306.

[64] Watson D, O'Connell MM, Schoterman MH, et al. Selective carbohydrate utilization by lactobacilli and bifidobacteria [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2013, 114(4):1132-1146.

[65] O'Callaghan A, van Sinderen D. Bifidobacteria and their role as members of the human gut microbiota [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7(294):925.

[66] Turrone F, Strati F, Foroni E, et al. Analysis of predicted carbohydrate transport systems encoded by *Bifidobacterium bifidum* PRL2010 [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(14):5002-12.

[67] O'Connell JK, Motherway MO, O'Callaghan J, et al. Metabolism of Four alpha-glycosidic linkage-containing oligosaccharides by *Bifidobacterium breve* UCC2003 [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(20):6280-6292.

[68] Egan M, Motherway MO, Ventura M, et al. Metabolism of sialic acid by *Bifidobacterium breve* UCC2003 [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(14):4414-4426.

[69] Turrone F, Peano C, Pass DA, et al. Diversity of bifidobacteria within the infant gut microbiota [J]. *PLoS One*, 2012, 7(5): e36957.

[70] Turrone F, Taverniti V, Ruas-Madiedo P, et al. *Bifidobacterium bifidum* PRL2010 modulates the host innate immune response [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(2):730-740.

[71] Duranti S, Lugli GA, Mancabelli L, et al. Maternal inheritance of bifidobacterial communities and bifidophages in infants through vertical transmission [J]. *Microbiome*, 2017, 5(1):66.

[72] Wang L, Christophersen CT, Sorich MJ, et al. Low relative abundances of the mucolytic bacterium *Akkermansia muciniphila* and *Bifidobacterium* spp. in feces of children with autism [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(18):6718-6721.

[73] Rigsbee L, Agans R, Shankar V, et al. Quantitative profiling of gut microbiota of children with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [J]. *American Journal of Gastroenterology*, 2012, 107(11):1740-1751.

[74] Schwartz A, Taras D, Schäfer K, et al. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects [J]. *Obesity*, 2010, 18(1):190-195.

[75] Hussey S, Wall R, Gruffman E, et al. Parenteral antibiotics reduce bifidobacteria colonization and diversity in neonates [J]. *International Journal of Microbiology*, 2010, 2011(2011):6.

[76] Corrêa NB, Péret LF, Penna FJ, et al. A randomized formula controlled trial of *Bifidobacterium lactis* and *Streptococcus thermophilus* for prevention of antibiotic-associated

- diarrhea in infants [J]. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 2005, 39(5):385.
- [77] Szymański H, Armańska M, Kowalska-Duplaga K, et al. *Bifidobacterium longum* PL03, *Lactobacillus rhamnosus* KL53A, and *Lactobacillus plantarum* PL02 in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children: a randomized controlled pilot trial [J]. *Digestion*, 2008, 78(1):13-17.
- [78] Sheu BS, Wu JJ, Lo CY, et al. Impact of supplement with *Lactobacillus*- and *Bifidobacterium*-containing yogurt on triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication [J]. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 2002, 16(9):1669-1675.
- [79] Sheu BS, Cheng HC, Kao AW, et al. Pretreatment with *Lactobacillus*- and *Bifidobacterium*-containing yogurt can improve the efficacy of quadruple therapy in eradicating residual *Helicobacter pylori* infection after failed triple therapy [J]. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2006, 83(4):864-869.
- [80] Opekun AR, Yun WO, Osato MS, et al. Probiotics for *H. pylori* infection: use of Tibetan yogurt [J]. *Gastroenterology*, 2003, 124(4):A362-A362.
- [81] Cremonini F, Di CS, Covino M, et al. Effect of different probiotic preparations on anti-*Helicobacter pylori* therapy-related side effects: a parallel group, triple blind, placebo-controlled study [J]. *American Journal of Gastroenterology*, 2002, 97(11):2744-2749.
- [82] Ng SC, Plamondon S, Kamm MA, et al. Immunosuppressive effects via human intestinal dendritic cells of probiotic bacteria and steroids in the treatment of acute ulcerative colitis [J]. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2010, 16(8):1286-1298.
- [83] Kato K, Mizuno S, Umesaki Y, et al. Randomized placebo-controlled trial assessing the effect of bifidobacteria-fermented milk on active ulcerative colitis [J]. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 2004, 20(10):1133-1141.
- [84] Tursi A, Brandimarte G, Papa A, et al. Treatment of relapsing mild-to-moderate ulcerative colitis with the probiotic VSL#3 As adjunctive to a standard pharmaceutical treatment: a double-blind, randomized, placebo-controlled study open [J]. *American Journal of Gastroenterology*, 2010, 105(10):2218-2227.
- [85] Signe Wildt, Inge Nordgaard, Ulla Hansen, et al. A randomised double-blind placebo-controlled trial with *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 for maintenance of remission in ulcerative colitis [J]. *Journal of Crohn's and colitis*, 2011, 5(2):115-121.
- [86] Tamaki H, Nakase H, Inoue S, et al. Efficacy of probiotic treatment with *Bifidobacterium longum* 536 for induction of remission in active ulcerative colitis: A randomized, double-blinded, placebo-controlled multicenter trial [J]. *Digestive Endoscopy*, 2016, 28(1):67-74.
- [87] Zamani B, Golkar HR, Farshbaf S, et al. Clinical and metabolic response to probiotic supplementation in patients with rheumatoid arthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 2016, 19(9):869.
- [88] Ouwerkerk JP, Kc VDA, Davids M, et al. Adaptation of *Akkermansia muciniphila* to the oxic-anoxic interface of the mucus layer [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(23):6983-6993.
- [89] Kajander K, Hatakka K, Poussa T, et al. A probiotic mixture alleviates symptoms in irritable bowe l syndrome patients: a controlled 6-month intervention [J]. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 2005, 22(5):387-394.

- [90] O'Mahony L, Mccarthy J, Kelly P, et al. *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* in irritable bowel syndrome: symptom responses and relationship to cytokine profiles [J]. *Gastroenterology*, 2005, 128(3):541-551.
- [91] Guglielmetti S, Mora D, Gschwender M, et al. Randomised clinical trial: *Bifidobacterium bifidum* MIMBb75 significantly alleviates irritable bowel syndrome and improves quality of life-a double-blind, placebo-controlled study [J]. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 2011, 33(10):1123-1132.
- [92] Agrawal A, Houghton L A, Morris J, et al. Clinical trial: the effects of a fermented milk product containing *Bifidobacterium lactis* DN-173010 on abdominal distension and gastrointestinal transit in irritable bowel syndrome with constipation [J]. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 2009, 29(1):104-114.
- [93] Guyonnet D, Chassany O, Ducrotte P, et al. Effect of a fermented milk containing *Bifidobacterium animalis* DN-173010 on the health-related quality of life and symptoms in irritable bowel syndrome in adults in primary care: a multicentre, randomized, double-blind, controlled trial [J]. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 2007, 26(3):475-486.
- [94] Cani PD, Amar J, Iglesias MA, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance [J]. *Diabetes*, 2007, 56(7):1761-1772.
- [95] Rajkumar H, Mahmood N, Kumar M, et al. Effect of probiotic (VSL#3) and omega-3 on lipid profile, insulin sensitivity, inflammatory markers, and gut colonization in overweight adults: a randomized, controlled trial [J]. *Mediators of Inflammation*, 2014, 2014(9):348959.
- [96] Alisi A, Bedogni G, Baviera G, et al. Randomised clinical trial: the beneficial effects of VSL#3 in obese children with non-alcoholic steatohepatitis [J]. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 2014, 39(11):1276-1285.
- [97] Tonucci LB, Km ODS, Licursi DOL, et al. Clinical application of probiotics in type 2 diabetes mellitus: A randomized, double-blind, placebo-controlled study [J]. *Clinical Nutrition*, 2017, 36(1):85-92.
- [98] Ostadrahimi A, Taghizadeh A, Mobasseri M et al. , Effect of probiotic fermented milk (kefir) on glycemic control and lipid profile in type 2 diabetic patients: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial [J]. *Iranian Journal of Public Health*, 2015, 44(2): p. 228-237.
- [99] Ivey KL, Hodgson JM, Kerr DA, et al. The effect of yoghurt and its probiotics on blood pressure and serum lipid profile; a randomised controlled trial [J]. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 2015, 25(1):46-51.
- [100] Besselink MG, van Santvoort HC, Buskens E, et al. Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Nederlands Tijdschrift Voor Geneeskunde*, 2008, 152(28):1591
- [101] Messaoudi M, Lalonde R, Violle N, et al. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects [J]. *British Journal of Nutrition*, 2011, 105(5):755-764.
- [102] Allen A P, Hutch W, Borre YE, et al. *Bifidobacterium longum* 1714 as a translational psychobiotic: modulation of stress, electrophysiology and neurocognition in healthy volunteers [J]. *Translational Psychiatry*, 2016, 6(11):e939.
- [103] Bercik P, Park A J, Sinclair D, et al. The anxiolytic effect of *Bifidobacterium longum* NCC3001 involves vagal pathways for gut-brain communication [J]. *Neurogastroenterology*

and Motility, 2011, 23(12):1132-1139.

[104] Lyte M. Probiotics function mechanistically as delivery vehicles for neuroactive compounds: microbial endocrinology in the design and use of probiotics [J]. *Bioessays*, 2011, 33(8):574-581.

[105] Hamilton-Miller JM. Probiotics and prebiotics in the elderly [J]. *Postgraduate Medical Journal*, 2004, 80(946):447-451.

[106] Gill HS, Rutherford KJ, Cross ML, et al. Enhancement of immunity in the elderly by dietary supplementation with the probiotic *Bifidobacterium lactis* HN019 [J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2001, 74(6):833-839.

[107] Akatsu H, Iwabuchi N, Xiao JZ, et al. Clinical effects of probiotic *Bifidobacterium longum* BB536 on immune function and intestinal microbiota in elderly patients receiving enteral tube feeding [J]. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 2013, 37(5):631-640.

[108] Yi ZJ, Fu YR, Li M, et al. Effect of LTA isolated from bifidobacteria on D-galactose-induced aging [J]. *Experimental Gerontology*, 2009, 44(12):760-765.

[109] Goldman CG, Barrado DA, Balcarce N, et al. Effect of a probiotic food as an adjuvant to triple therapy for eradication of *Helicobacter pylori* infection in children [J]. *Nutrition*, 2006, 22(10):984-988.

[110] Miki K, Urita Y, Ishikawa F, et al. Effect of *Bifidobacterium bifidum* fermented milk on *Helicobacter pylori* and serum pepsinogen levels in humans [J]. *Journal of Dairy Science*, 2007, 90(6):2630-2640.

[111] Cui H, Chen C, Wang J, et al. Effects of probiotic on intestinal mucosa of patients with ulcerative colitis [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2004, 10(10):1521-1525.

[112] Whorwell PJ, Altringer L, Morel J, et al. Efficacy of an encapsulated probiotic *Bifidobacterium infantis* 35624 in women with irritable bowel syndrome [J]. *The American Journal of Gastroenterology*, 2006, 101(7):1581-1590.

[113] Guyonnet D, Chassany O, Ducrotte P, et al. Effect of a fermented milk containing *Bifidobacterium animalis* DN-173 010 on the health-related quality of life and symptoms in irritable bowel syndrome in adults in primary care: a multicentre, randomized, double-blind, controlled trial [J]. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 2007, 26(3):475.

[114] Yang Y, He M, Hu G, et al. Effect of a fermented milk containing *Bifidobacterium lactis* DN-173010 on Chinese constipated women [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2008, 14(40):6237-6243.

[115] Firouzi S, Majid HA, Ismail A, et al. Effect of multi-strain probiotics (multi-strain microbial cell preparation) on glycemic control and other diabetes-related outcomes in people with type 2 diabetes: a randomized controlled trial [J]. *European Journal of Nutrition*, 2016:1-16.

[116] Mohamadshahi M, Veissi M, Haidari F, et al. Effects of probiotic yogurt consumption on lipid profile in type 2 diabetic patients: A randomized controlled clinical trial [J]. *Journal of Research in Medical Sciences*, 2014, 19(6):531-536.

[117] Nabavi S, Rafraf M, Somi MH, et al. Effects of probiotic yogurt consumption on metabolic factors in individuals with nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Journal of Dairy Science*, 2014, 97(12):7386-7393.