

## 论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.15.004

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220426.1647.010.html\(2022-04-27\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220426.1647.010.html(2022-04-27))

## 一种双歧乳杆菌三联菌对小鼠免疫功能的调节作用\*

赵婷,马文明<sup>△</sup>

(山东省潍坊市人民医院临床药学科 261041)

**[摘要]** **目的** 探讨双歧乳杆菌三联菌(乳双歧杆菌 V9+干酪乳杆菌 Zhang+植物乳杆菌 P-8,简称 BLL)对小鼠免疫功能的调控作用。**方法** 根据人体推荐摄入量,给予 C57BL/6J 小鼠分别灌胃 0.1、0.2、0.6 mg/kg 的 BLL 冻干粉,分别为 BLL 低、中、高剂量组;对照组等剂量双蒸水灌胃。30 d 后处死实验动物,检测各组小鼠脏器/体重比;采用体内和体外实验分别检测 BLL 低、中、高剂量组小鼠的细胞免疫功能、单核-巨噬细胞功能、体液免疫功能和自然杀伤(NK)细胞活性。**结果** 与对照组比较,BLL 低、中、高剂量组的小鼠脏器/体重比值差异无统计学意义( $P>0.05$ );BLL 中、高剂量组刀豆蛋白 A(ConA)诱导小鼠脾淋巴细胞增殖能力、碳廓清能力及腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的能力均明显高于对照组( $P<0.05$ );BLL 低、中、高剂量组小鼠的抗体生成细胞数较对照组均明显增加( $P<0.05$ ),BLL 高剂量组小鼠 NK 细胞活性较对照组明显升高( $P<0.05$ )。**结论** BLL 有望成为临床增强免疫功能的有效方案。

**[关键词]** 免疫调节;益生菌;乳双歧杆菌 V9;干酪乳杆菌 Zhang;植物乳杆菌 P-8

**[中图分类号]** Q939.9

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2022)15-2539-05

## Regulatory effect of a triple bacteria composed of Bifidobacterium Lactobacillus on mice immune function\*

ZHAO Ting, MA Wenming<sup>△</sup>

(Department of Clinical Pharmacy, Weifang People's Hospital, Weifang, Shandong 261041, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the regulatory effects of triple bacteria (Bifidobacterium lactis V9+Lactobacillus casei Zhang+Lactobacillus plantarum P-8, BLL) on mice immune function. **Methods** According to the recommended intake of human, C57BL/6J mice were gavaged with 0.1, 0.2, 0.6 mg/kg of BLL freeze-dried powder respectively (BLL low, middle and high dose groups). The experimental animals were killed after 30 d. The organ/body weight ratio of each group was determined. The cellular immune function, monocyte-macrophage function, humoral immune function and natural killer (NK) cell activity were measured by in vitro and in vivo experiments. **Results** Compared with the control group, the difference in the organ/body weight ratios among the low, middle and high dose groups had no statistical significance ( $P>0.05$ ). The ConA induced mice splenic lymphocyte proliferation ability, carbon clearance capacity and peritoneal macrophage phagocytic ability of chicken red blood cells in the BLL low, middle and high dose groups all were significantly higher than those in the control group ( $P<0.05$ ). The number of antibody formation cells in the BLL low, middle and high dose groups were significantly increased ( $P<0.05$ ). The NK cell activity in the BLL high dose group was significantly increased ( $P<0.05$ ). **Conclusion** BLL is expected to be an effective clinical protocol for enhancing the immune function in clinic.

**[Key words]** immunoregulation; probiotic; bifidobacterium lactis V9; lactobacillus casei Zhang; lactobacillus plantarum P-8

肠道微生物群对于维持肠道免疫平衡和机体健康起着重要作用,肠道内正常微生物群遭到破坏会引起肠道免疫系统的失衡<sup>[1]</sup>。益生菌制剂具有预防和

治疗消化道的疾病,因其能帮助机体维持正常的肠道微生物区系、产生抗炎因子、抑制病原菌群生长<sup>[1-2]</sup>。有研究结果表明,乳杆菌和双歧杆菌对机体具有重要

的免疫调节作用<sup>[3]</sup>,可有效预防结肠癌、降低血清胆固醇水平等<sup>[4]</sup>,与人类健康密不可分。而如今临床抗生素应用欠规范、菌株耐药严重,双歧杆菌和乳杆菌的益生劑受到了学者们的广泛关注<sup>[5]</sup>。乳双歧杆菌 V9(*B. lactis* V9)是自健康儿童肠道中分离出来的一株双歧杆菌乳亚种<sup>[6]</sup>,干酪乳杆菌 Zhang(*L. casei* Zhang)是2001年从内蒙古自治区锡林郭勒大草原牧民家制作的传统发酵酸马奶(koumiss)中分离并筛选获得的性能优异的益生菌<sup>[7]</sup>,植物乳杆菌 P-8(*L. plantarum* P-8)是从内蒙古巴彦淖尔市乌拉特中旗草原上牧民家庭自然发酵酸牛乳样品中分离筛选出的性能优良的益生菌<sup>[3,8]</sup>。以上三类菌株均因其对人工胃液、肠液及胆盐有良好的耐受性而成为国内外研究热点<sup>[9-10]</sup>。近年,有研究表明,益生菌的混合制剂具有更好的免疫调节作用<sup>[11-13]</sup>。本文重点是在动物实验模型中探索双歧乳杆菌三联菌(*B. lactis* V9+*L. casei* Zhang+*L. plantarum* P-8 三联菌,简称 BLL)冻干粉的免疫调节作用机制,为 BLL 的研究开发和真实世界应用提供临床前实验证据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

(1)细胞系:YAC-1 细胞、鸡红细胞购自上海源叶生物科技有限公司。(2)实验动物:雄性 C57BL/6J 小鼠 320 只,体重 18~22 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司[动物许可证号:SCXK(京)2019-0010]。按照实验动物饲养要求进行小鼠喂养,饲养员均具备实验动物人员资格证。该研究内容已获本院伦理审查小组批准(批号:SRSWLL-2021091802)。(3)实验益生菌粉:*B. lactis* V9、*L. casei* Zhang、*L. plantarum* P-8 菌粉,均为活菌数 2 000 亿/克,购自金华银河生物科技有限公司(批号分别为 20210205001、20210108001、20210123001)。(4)试剂:基础细胞培养液和试剂盒等材料,如淋巴细胞分离液、0.4%台盼蓝溶液、Hank's 液、RPMI-1640 培养基、胎牛血清、刀豆蛋白 A(ConA)、NP40(0.1%)、Tris-HCl 缓冲液(0.2 mol/L, pH=8.2)及印度墨汁,分别购自美国 Gibco 公司、北京索莱宝科技有限公司、Sigma 公司和碧云天生物科技有限公司。

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 实验动物分组及给药

分别称取冷冻干燥保存的 *B. lactis* V9、*L. casei* Zhang、*L. plantarum* P-8 活菌粉,根据质量比,以 2:1:1 的比例无菌双蒸水进行溶解(即 50% *B. lactis* V9+25% *L. casei* Zhang+25% *L. plantarum* P-8)后备用。根据研究内容,将 320 只小鼠随机分为 8 个免疫组,每个免疫组 40 只,每个免疫组又分别设置对照组(双蒸水灌胃,  $n=10$ )、BLL 低剂量组(0.1 mg/kg,  $n=10$ )、中剂量组(0.2 mg/kg,  $n=10$ )、高剂量组

(0.6 mg/kg,  $n=10$ ),均为每天 0.1 mL/10 g 灌胃给药,连续给药 30 d 后处死动物。本实验严格遵循《保健食品检验与评价技术规范》(2003 版)中免疫力评价规范执行和分析<sup>[14]</sup>。

#### 1.2.2 小鼠体重及免疫脏器指数的测定

常规饲养小鼠 30 d,记录实验过程中的一般情况,包括每天观察和记录小鼠的一般情况、饮食情况和大小便情况等,给药期间每周测体重 1 次。实验结束(即给药 30 d),尾静脉抽取血液,放置 4 °C 无菌容器保存备用;然后颈椎脱臼处死所有实验动物,立即行手术取出胸腺、脾脏等器官,称重,分别计算和记录胸腺/体重比值及脾脏/体重比值,置于 4 °C 无菌容器保存和备用<sup>[15]</sup>。

#### 1.2.3 ConA 诱导小鼠脾淋巴细胞转化实验

取 4 °C 保存的无菌生理盐水漂洗脾脏 2 次,将脾脏剪碎成 0.1 cm×0.1 cm×0.1 cm 组织块,取脾脏细胞并将细胞浓度调整为  $3\times 10^6$  个/mL 混悬液,将吹打均匀的细胞液加入 24 孔培养板中,每孔约 1.0 mL,培养 24 h。然后,待细胞贴壁后,将 BLL 低、中、高剂量组脾脏细胞给予 75  $\mu$ L ConA/孔(终浓度为 7.5  $\mu$ g/mL)处理,对照组加无菌生理盐水 75  $\mu$ L/孔处理,继续培养 72 h。实验结束前 4 h 弃上清液,每孔吸去多余上清液,同时加入同等量不含血清的 RPMI-1640 培养基,加入 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)溶液(终浓度 0.5 mg/mL)50  $\mu$ L/孔,培育 4 h。弃上清液,每孔加入酸性异丙醇 1.0 mL,混均置室温 20 min。酶标仪 570 nm 波长处读取光密度(OD)值。最后,用实验组(即给予 ConA 试验孔)OD 值减去对照组(即未予 ConA 实验孔)OD 值,记录小鼠的淋巴细胞增殖数量<sup>[16]</sup>。

#### 1.2.4 二硝基氟苯(DNFB)诱导小鼠迟发型变态反应(耳肿胀法)

充分暴露小鼠腹部后常规消毒,采用 1% DNFB 溶液分别在小鼠腹部和右耳均匀涂抹行致敏反应检测。设置左耳为对照组。敏感反应测试 24 h 后处死动物,取双耳片称重,以双耳重量之差表示迟发型变态反应(DTH)程度<sup>[17]</sup>。

#### 1.2.5 血清溶血素测定

常规比例(2%, v/v)配置收集好的绵羊红细胞(SRBC)悬液后,以腹腔注射(ip)方式行免疫反应测试。眼球采血后稀释 300 倍,取 1.0 mL 血液,分别 0.5 mL 加入 10% SRBC 和 1.0 mL 补体,均反应 20 min。随后,在上清液中分别加入都氏试剂 3.0 mL。设置 SRBC+都氏试剂为对照组。OD=540 nm,计算公式为半数溶血值(HC<sub>50</sub>)=样品 OD/SRBC 半数溶血时的 OD×稀释倍数<sup>[18]</sup>。给予小鼠低、中、高剂量的 BLL 30 d 后,腹腔注射 2% 的 SRBC 细胞进行免疫,4 d 后取血清检测 HC<sub>50</sub>。

### 1.2.6 抗体生成细胞检测

同 1.2.5 方法免疫小鼠,4 d 后处死小鼠,无菌取脾脏细胞,生理盐水稀释为  $5 \times 10^6$  个/mL 的脾脏细胞悬液。用 Jerne 改良玻片法检测抗体生成细胞数(以空斑数/ $10^6$  脾细胞表示)<sup>[19]</sup>。

### 1.2.7 小鼠碳廓清实验

于小鼠尾静脉注入印度墨汁 0.1 mL/10 g,分别从不同时间节点(第 2 分钟和第 10 分钟)自内眦静脉丛采血 20  $\mu$ L,加入 2 mL 0.1% 碳酸钠( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )溶液终止反应。设置  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  为对照组,OD = 600 nm。计算吞噬指数  $\alpha$ <sup>[19]</sup>。

### 1.2.8 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验(半体内法)

以 ip 方式将 20% 鸡红细胞悬液注入小鼠体内。于反应 30 min 后处死动物,收集腹腔清洗液 1 mL,分别滴注于 2 片载玻片上于 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 30 min。按照 1:1 的比例给予丙酮-甲醇溶液固定细胞,随后加入浓度控制在 4% 的 Giemsa-磷酸缓冲液行细胞核染色,常规漂洗和晾干后,通过镜下观察,分别记录不同视野中的阳性细胞数,并分析各噬指数和吞噬率<sup>[15]</sup>。

### 1.2.9 自然杀伤(NK)细胞活性测定

调整靶细胞小鼠淋巴瘤细胞(YAC-1)浓度至  $4 \times 10^5$  个/mL。无菌操作下取小鼠脾脏并制成浓度为  $2 \times 10^7$  个/mL 的单细胞混悬液。效应细胞和靶细胞各取 100  $\mu$ L 加入 96 孔板进行培养(效靶比为 50:1)。将 YAC-1 孔中再加入 1% 乙基苯基聚乙二醇(NP40)共培

养 4 h。吸取上清液后 1 500 r/min 离心 5 min,再次吸取上清液加入 96 孔板中,每孔加入乳酸脱氢酶(LDH)基质液 100  $\mu$ L,反应 5 min 后加入 HCl 30  $\mu$ L/孔,A490 nm。计算 NK 细胞活性(%)<sup>[15]</sup>。

### 1.3 统计学处理

数据采用 SPSS24.0 软件进行统计分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析(ANOVA)检验,成对组间比较采用 *t* 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 各组小鼠一般情况和脏器指数比较

直至实验终点,BLL 低、中、高剂量组小鼠一般情况尚可,无腹泻、烦躁等表现,未发现小鼠有中毒症状或非特异性死亡现象。给药 30 d 前、后,各组小鼠的初始体重与终末体重差值为 8.77~10.65 g,4 组实验动物的初始体重和终末体重差值组间比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。与对照组比较,BLL 低、中、高剂量组小鼠的脾脏/体重、胸腺/体重比值比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。

### 2.2 各组小鼠脾淋巴细胞增殖能力及耳郭肿胀度比较

与对照组比较,BLL 中、高剂量组的脾淋巴细胞增殖能力(OD 差值)明显增高( $P < 0.05$ );与对照组小鼠的耳郭肿胀度比较,BLL 低、中、高剂量组小鼠耳郭肿胀度差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。各组小鼠脾淋巴细胞增殖能力及耳郭肿胀度比较见表 2。

表 1 各组小鼠体重及脏器/体重比值比较( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	初始体重(g)	终末体重(g)	脾脏/体重(mg/g)	胸腺/体重(mg/g)
对照组	19.51 $\pm$ 1.04	29.17 $\pm$ 1.15	2.77 $\pm$ 1.36	2.44 $\pm$ 0.85
BLL 低剂量组	20.04 $\pm$ 1.84	30.13 $\pm$ 1.81	2.84 $\pm$ 0.85	2.57 $\pm$ 0.92
BLL 中剂量组	19.17 $\pm$ 1.14	29.82 $\pm$ 1.54	2.94 $\pm$ 1.24	2.67 $\pm$ 0.87
BLL 高剂量组	20.10 $\pm$ 0.87	28.87 $\pm$ 2.34	2.90 $\pm$ 1.12	2.56 $\pm$ 0.51

表 2 各组小鼠淋巴细胞增殖能力及耳郭肿胀度比较( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	脾淋巴细胞增殖能力			耳郭肿胀度(mg)
	ConA(-)	ConA(+)	OD 差值	
对照组	0.48 $\pm$ 0.07	0.94 $\pm$ 0.10	0.46 $\pm$ 0.13	12.14 $\pm$ 1.25
BLL 低剂量组	0.42 $\pm$ 0.12	0.96 $\pm$ 0.11	0.54 $\pm$ 0.11	11.26 $\pm$ 1.17
BLL 中剂量组	0.43 $\pm$ 0.08	1.04 $\pm$ 0.09	0.61 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	13.58 $\pm$ 2.28
BLL 高剂量组	0.46 $\pm$ 0.10	1.05 $\pm$ 0.13	0.61 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	12.91 $\pm$ 2.11

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较。

### 2.3 各组小鼠吞噬指数 $\alpha$ 及腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞比较

小鼠碳廓清实验结果显示,与对照组比较,BLL 中、高剂量组小鼠的吞噬指数  $\alpha$  及腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的吞噬率和吞噬指数均明显升高( $P < 0.05$ )。低剂量组小鼠的吞噬指数  $\alpha$  及吞噬率和吞噬

指数与对照组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 3。

### 2.4 各组小鼠 $\text{HC}_{50}$ 及抗体生成细胞比较

BLL 低、中、高剂量组与对照组样品的  $\text{HC}_{50}$  值比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。抗体生成数量检测结果显示,与对照组比较,BLL 中、高剂量组的空

斑数明显增多,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); BLL 低剂量组小鼠的空斑数与对照组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表4。

## 2.5 各组小鼠 NK 细胞活性比较

BLL 低、中、高剂量组及对照组的 NK 细胞活性分别为  $(28.59 \pm 10.15)\%$ 、 $(30.54 \pm 9.27)\%$ 、 $(36.56 \pm 8.45)\%$ 、 $(25.28 \pm 10.47)\%$ 。与对照组比较, BLL 低、中剂量组小鼠的 NK 细胞活性差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),而 BLL 高剂量组小鼠的 NK 细胞活性明显增高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表3 各组小鼠巨噬细胞吞噬功能比较( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	小鼠碳廓清能力		单核-巨噬细胞功能
	吞噬指数( $\alpha$ )		吞噬率(%)
对照组	6.58±1.35		16.78±3.74
BLL 低剂量组	6.04±1.34		20.15±4.54
BLL 中剂量组	8.67±0.67 <sup>a</sup>		28.57±4.28 <sup>a</sup>
BLL 高剂量组	9.87±0.78 <sup>a</sup>		30.07±3.74 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较。

表4 各组小鼠血清溶血素与抗体生成细胞比较( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	HC <sub>50</sub>	抗体生成细胞
对照组	57.52±15.54	18.00±4.00
BLL 低剂量组	65.45±18.35	17.00±6.00
BLL 中剂量组	59.87±17.11	27.00±4.00 <sup>a</sup>
BLL 高剂量组	67.82±18.64	29.00±6.00 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较。

## 3 讨论

众所周知,乳杆菌属(*Lactobacillus*)细菌具备维持肠道微生态平衡、增强肠道的免疫功能的重要作用<sup>[16]</sup>。研究显示,给予鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus*)和嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)均能明显提高小鼠外周血单核细胞吞噬能力<sup>[19-20]</sup>。此外,研究发现人体肠道分离出的植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)、鼠李糖乳杆菌和副干酪乳杆菌(*Lactobacillus paracasei* ssp. *Paracasei*)可促进人血液单核细胞分泌白细胞介素(IL)-12,进而参与细胞介导的免疫功能,并调节机体的免疫功能<sup>[21-23]</sup>。

研究显示,不同的菌株因细胞壁组成结构及胞外多糖产生代谢产物不同,益生菌的免疫影响也不同<sup>[24-25]</sup>。B. lactis V9、L. casei Zhang、L. plantarum P-8 三者均具有良好的耐酸性和耐碱性,被证实为值得市场开发的有潜力的益生菌<sup>[26-27]</sup>。本文以动物实验作为载体,通过检测和分析 BLL 处理后的细胞和组织,从动物脏器指数、细胞增殖能力、免疫功能强弱和靶细胞杀伤能力等方面,综合评定 BLL 调节免疫功能的作用和机制。

人体免疫器官,如脾脏、胸腺等,是反映人体免疫功能的重要指标,以脏器指数作为单位是衡量免疫功

能的初步指标<sup>[28]</sup>。本研究结果显示,与对照组比较, BLL 低、中、高剂量均对小鼠的体重、脾和胸腺指数无明显影响,证实了 BLL 的安全性。但急性毒性、遗传毒性、亚慢性毒性等还需体内外实验行进一步验证研究。

乳酸菌的细胞壁肽聚糖、脂磷壁酸或胞外多糖等成分可对巨噬细胞、NK 细胞等效应细胞产生不同的效应。故不同菌株对动物细胞免疫功能、体液免疫功能及吞噬细胞的作用机制各异。T 淋巴细胞的转化率和增殖率可反映免疫细胞功能的强弱,主要是通过 ConA 诱导其转化为母细胞而实现<sup>[29]</sup>。本研究结果显示,给予 ConA 处理后, BLL 中、高剂量组小鼠的脾淋巴细胞的转化率明显高于对照组( $P < 0.05$ ),且随着剂量升高、转化率也随之提高。表明 BLL 可有效提高细胞增殖能力,增强免疫功能。

DNFB 诱导的小鼠迟发型变态反应是检测小鼠细胞免疫功能的另一个重要指标。近年来,关于乳酸菌对迟发型变态反应的影响已有相关报道<sup>[30]</sup>,但本研究中未发现 BLL 对 DNFB 诱导的小鼠迟发型变态反应的影响,主要原因可能是菌株不同所致。

非特异性免疫反应的强弱常通过单核-巨噬细胞功能来反应。本研究结果表明,中、高剂量的 BLL 可明显提高小鼠碳廓清功能及小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的吞噬率和吞噬指数( $P < 0.05$ )。溶血空斑试验可用于体外检测和计数产生 IgM 及其他类型 Ig 的抗体生成细胞的数目<sup>[31]</sup>。本研究结果显示,中、高剂量 BLL 能明显增加溶血空斑数( $P < 0.05$ )。以上结果表明, BLL 对小鼠单核-巨噬细胞功能和体液免疫功能均有明显的增强作用。NK 细胞在人体内广泛分布,是机体重要的杀伤淋巴细胞,无须预先致敏就有非特异性杀伤作用,可非特异性杀伤病毒感染细胞、肿瘤细胞等<sup>[3]</sup>。胞壁酰二肽作为益生菌细胞壁肽聚糖的主要成分,其功能是通过激活巨噬细胞释放 IL-1/IL-6,促进淋巴细胞中的干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )产生,从而提高 NK 的杀伤力<sup>[32]</sup>。本研究结果显示,高剂量 BLL 可明显增强 NK 细胞的活性,根据活化后的 NK 细胞特点,进一步合成和分泌多种免疫因子,发挥免疫调节及杀伤靶细胞的功能<sup>[33]</sup>。

综上所述, BLL 可通过增强机体细胞和体液免疫能力、免疫细胞杀伤靶细胞能力,发挥免疫调节功能,为 BLL 的未来开发和利用提供了临床前数据支持,其有望发展成为有效增强机体免疫力、值得推广的益生菌。

## 参考文献

- [1] 王淑梅, 邸维, 妥彦峰, 等. 益生菌的免疫调控作用研究进展[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(5): 23-26.
- [2] YOUSEFI B, ESLAMI M, GHASEMIAN A, et

- al. Probiotics importance and their immunomodulatory properties[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(6):8008-8018.
- [3] 苏硕楠,侯林中. 三种益生菌与低聚果糖复合粉对小鼠免疫功能的影响[J]. *食品工业科技*, 2022,43(11):1-6.
- [4] 刘奇,慎凯峰,周丹英,等. 当归口服液对正常小鼠免疫功能的影响[J]. *海峡药学*, 2020,32(12):19-23.
- [5] 聂颖兰,焦玥,吴晓霞. 鼠李糖乳杆菌 R9639 对小鼠免疫功能的影响及机制研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021,12(24):9461-9466.
- [6] 赵雯,刘伟贤,张海斌,等. 乳双歧杆菌 BL-99 以及副干酪乳酪杆菌 ET-22 增强小鼠免疫功能的研究[J]. *中国乳品工业*, 2021,49(11):13-18.
- [7] 柯程仁,叶兰仙. 青少年肠道菌群特征及益生菌对其抑郁症影响的研究进展[J]. *解放军医学杂志*, 2021,46(9):855-859.
- [8] YAN Y, LIU C, ZHAO S, et al. Probiotic bifidobacterium lactis V9 attenuates hepatic steatosis and inflammation in rats with non-alcoholic fatty liver disease[J]. *AMB Express*, 2020,10(1):101.
- [9] 白梅,黄天,郭帅,等. 益生菌干酪乳杆菌 Zhang 和乳双歧杆菌 V9 发酵乳胞外多糖含量对流变学特性、质构和稳定性的影响[J]. *中国食品学报*, 2021,21(4):193-202.
- [10] DUBOUX S, VAN W M, KLEEREBEZEM M. The possible Link between manufacturing and probiotic efficacy; a molecular point of view on bifidobacterium[J]. *Front Microbiol*, 2021,12:812536.
- [11] MOENS F, VAN DEN ABEELE P, BASIT A W, et al. A four-strain probiotic exerts positive immunomodulatory effects by enhancing colonic butyrate production in vitro[J]. *Int J Pharm*, 2019,555:1-10.
- [12] PETRELLA C, STRIMPAKOS G, TORCINARO A, et al. Proneurogenic and neuroprotective effect of a multi strain probiotic mixture in a mouse model of acute inflammation: Involvement of the gut-brain axis [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 172:105795.
- [13] MCFARLAND L. Efficacy of single-strain probiotics versus multi-strain mixtures; systematic review of strain and disease specificity[J]. *Dig Dis Sci*, 2021,66(3):694-704.
- [14] ISPIRLI H, KAYA Y, DERTLI E. Bifidogenic effect and in vitro immunomodulatory roles of melibiose-derived oligosaccharides produced by the acceptor reaction of glucansucrase E81[J]. *Process Biochemistry*, 2020,91:126-131.
- [15] 吴琼,张丽艳,黄颖,等. 参芪茯苓片拆方对小鼠免疫功能的影响[J]. *贵州中医药大学学报*, 2021,43(1):29-33.
- [16] 沙玥彤,蔡胡强,綦振亮,等. 常青素对小鼠免疫功能的影响及机制研究[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2020,54(6):569-574.
- [17] 刘冬英,刘臻,张丽婧,等. 免疫防御蛋白粉对小鼠免疫功能的影响[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021,12(5):1945-1949.
- [18] 宋敬怡,马丹,张硕峰. 中药生牡蛎免疫调节作用研究[J]. *饮食保健*, 2018,5(3):93-94.
- [19] 董和亮,郭嘉欣,白坤颖,等. 亚麻籽油增强小鼠免疫功能的研究[J]. *现代食品*, 2020,10(19):213-218.
- [20] PIQUÉ N, BERLANGA M, MIÑANA-GALBIS D. Health benefits of Heat-Killed (tyndallized) probiotics: an overview[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(10):2534.
- [21] 托娅. 张和平. 一株分离自内蒙古传统酸马奶中的乳酸杆菌 *Lactobacillus casei*. Zhang 对小鼠免疫功能的影响[J]. *中外医疗*, 2008(11):39-42.
- [22] XU H, HIRAIISHI K, KURAHARA L H, et al. Inhibitory effects of breast Milk-Derived lactobacillus rhamnosus Probio-M9 on Colitis-Associated carcinogenesis by restoration of the gut microbiota in a mouse model [J]. *Nutrients*, 2021, 13(4):1143.
- [23] BRUCH B J, URIBE C C, PASQUALOTTO A, et al. Hepatoprotective effect of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG through the modulation of gut permeability and inflammasomes in a model of alcoholic liver disease in zebrafish[J]. *J Am Coll Nutr*, 2020,39(2):163-170.
- [24] CUNA A, YU W, MENDEN H L, et al. NEC-like intestinal injury is ameliorated by *Lactobacillus rhamnosus* GG in parallel with SIGIRR and A20 induction in neonatal mice[J]. *Pediatr Res*, 2020,88(4):546-555.
- [25] 蒙月月, CHOWDHURY S, SARKER S K, 等. 植物乳杆菌 KLDS1.0318 对小鼠免疫调节作用初步研究[J]. *食品工业科技*, 2018,39(7):303-308.
- [26] CAPURSO L. Thirty years of lactobacillus rhamnosus GG; a review[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2019, 53(Suppl 1):S1-41.

- mal timing of radiotherapy to reduce side-effects in breast cancer patients[J]. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*, 2019, 31(1):9-16.
- [6] BIAU J, CHAUTARD E, VERRELLE P, et al. Altering DNA repair to improve radiation therapy: specific and multiple pathway targeting[J]. *Front Oncol*, 2019, 9:1009.
- [7] WANG J, MAUVOISIN D, MARTIN E, et al. Nuclear proteomics uncovers diurnal regulatory landscapes in mouse liver[J]. *Cell Metab*, 2017, 25(1):102-117.
- [8] MURE L S, LE H D, BENEGLIAMO G, et al. Diurnal transcriptome Atlas of a Primate across major neural and peripheral tissues[J]. *Science*, 2018, 359(6381):eaao0318.
- [9] ZHU L, WANG Q, HU Y, et al. The circadian gene *per1* plays an important role in Radiation-Induced apoptosis and DNA damage in glioma[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2019, 20(7):2195-2201.
- [10] 孟熙, 李媛媛, 蒋子庆, 等. 时钟基因 *Bmal1* 对鼻咽癌移植瘤放疗敏感性的影响[J]. *中国肿瘤临床*, 2020, 47(1):12-17.
- [11] CHANG W H, LAI A G. Timing gone awry: distinct tumour suppressive and oncogenic roles of the circadian clock and crosstalk with hypoxia signalling in diverse malignancies[J]. *J Transl Med*, 2019, 17(1):132.
- [12] ADAMOVICH Y, LADEUX B, SOBEL J, et al. Oxygen and Carbon dioxide rhythms are circadian clock controlled and differentially directed by behavioral signals[J]. *Cell Metab*, 2019, 29(5):1092-1103.
- [13] WU Y, TANG D, LIU N, et al. Reciprocal regulation between the circadian clock and hypoxia signaling at the genome level in mammals[J]. *Cell Metab*, 2017, 25(1):73-85.
- [14] DIMOVA E Y, JAKUPOVIC M, KUBAICHUK K, et al. The circadian clock protein *CRY1* is a negative regulator of *HIF-1 $\alpha$* [J]. *iScience*, 2019, 13:284-304.
- [15] MA Z M, JIN X, ZHUANG Q, et al. Deletion of clock gene *Bmal1* impaired the chondrocyte function due to disruption of the *HIF1 $\alpha$* -*VEGF* signaling pathway[J]. *Cell Cycle*, 2019, 18(13):1473-1489.
- [16] WAN K M, OEHLER M K. Rapid progression of Low-Grade cervical dysplasia into invasive cancer during natalizumab treatment for relapsing remitting multiple sclerosis[J]. *Case Rep Oncol*, 2019, 12(1):59-62.
- [17] 潘秀花, 白力, 谢福川, 等. 宫颈鳞癌患者组织中 *HIF-1 $\alpha$*  和 *VEGF* 的表达及在放疗中的意义[J]. *实用癌症杂志*, 2020, 35(3):366-369.
- [18] 彭明尧, 周雪宇, 蒋利华. *VEGF*、*HIF-1 $\alpha$*  表达对食管鳞癌患者放疗疗效的影响[J]. *实用癌症杂志*, 2020, 35(10):1631-1634.

(收稿日期:2021-11-21 修回日期:2022-04-15)

(上接第 2543 页)

- [27] QI S R, CUI Y J, LIU J X, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG components, SLP, gDNA and CpG, exert protective effects on mouse macrophages upon lipopolysaccharide challenge[J]. *Lett Appl Microbiol*, 2020, 70(2):118-127.
- [28] 迟涛, 徐晓娟, 刘洋硕, 等. 干酪乳杆菌 *yha I* 基因敲除菌株的构建及其耐药表型的分析[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(6):106-110.
- [29] DE WAARD R, CLAASSEN E, BOKKEN G C, et al. Enhanced immunological memory responses to *Listeria monocytogenes* in rodents, as measured by delayed-type hypersensitivity (DTH), adoptive transfer of DTH, and protective immunity, following *Lactobacillus casei* Shirota ingestion[J]. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2003, 10(1):59-65.
- [30] 杨素芳, 陈旭丰, 杨志叶, 等. 绞股蓝黄芪保健茶对免疫功能的影响[J]. *安徽农学通报*, 2018, 24(8):48-51.
- [31] 杨志杰, 樊星花, 梁宇红. 落地生根水提物对 H22 肝癌小鼠免疫功能的影响分析[J]. *医药前沿*, 2019, 9(32):206-208.
- [32] 张梦兰, 杨琴, 张冰洁, 等. 牡丹籽油复方软胶囊增强免疫力的功能研究[J]. *中国油脂*, 2019, 44(11):121-126.
- [33] 郭帅, 韩之皓, 白梅, 等. 嗜热链球菌 S10 复合植物乳杆菌 P-8 发酵豆乳中挥发性风味物质的 SPME-GC-MS 分析[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(10):268-279.

(收稿日期:2021-11-18 修回日期:2022-04-24)