

# 双歧杆菌调理和改善肠道相关疾病作用的研究进展

李俊洁, 陈庆森\*

(天津市食品生物技术重点实验室, 天津商业大学生物技术与食品科学学院, 天津 300134)

**摘要:** 双歧杆菌(*Bifidobacterium*)作为人体肠道中具有代表性的一大类益生菌, 因其具有营养、抗菌、免疫调节、抗癌及抗肿瘤等多种生理功能, 一直是研究者们热门研究内容。肠道相关的疾病主要包括: 炎症性肠病(IBD)、肠易激综合征(IRS)、腹泻、结肠癌、直肠癌等, 目前这些肠道相关性疾病的发生、发展机理不是很清楚, 而传统的药物治疗效果并不令人满意, 且副作用大。本文主要就双歧杆菌的生理功能及双歧杆菌制剂在调理和改善肠道相关疾病的国内外研究进展进行综述。

**关键词:** 双歧杆菌; 炎症性肠病; 肠易激综合征; 腹泻; 结肠癌

Recent Advances in Research on the Role of *Bifidobacteria* in Regulating and Improving Gut-Associated Diseases

LI Jun-jie, CHEN Qing-sen\*

(Tianjin Key Laboratory of Food Biotechnology, College of Biotechnology and Food Science,

Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China)

**Abstract:** *Bifidobacteria*, a representative class of probiotics in the human intestine, have been being a hot field for intensive study for their nutritional, antibacterial, immunomodulatory, anticancer, antitumor and other physiological regulatory functions. Gut-associated diseases include inflammatory bowel disease (IBD), irritable bowel syndrome (IRS), diarrhea, colon cancer, rectal cancer, et al. The aetiology of these diseases is currently not well understood. Traditional medications for these diseases are not only unsatisfactory, but have side effects as well. This paper reviews mainly domestic and international advances in recent research on the physiological regulatory function of *Bifidobacterium* and its role in modulating and improving gut-associated diseases.

**Key words:** *Bifidobacteria*; inflammatory bowel disease; irritable bowel syndrome; diarrhea; colon/rectum cancer

中图分类号: Q935

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)23-0326-07

## 1 双歧杆菌及其生物学功能

### 1.1 双歧杆菌的简介

双歧杆菌(*Bifidobacterium*)最初是由法国学者 Tissier 在 1899 年从母乳喂养的健康婴儿粪便中分离出的专性厌氧菌, 当时将其命名为普通两歧芽孢杆菌(*Bacillus bifidus communis*)<sup>[1]</sup>。1924 年, Orla-Jensen 认识到双歧杆菌属可作为一个独立的分类单元存在, 但是由于其与乳酸杆菌属具有很高的相似性, 双歧杆菌被归入乳酸杆菌属, 并在第 7 版 *Bergey's Manual of Determinative*

*Bacteriology*<sup>[2]</sup>中列出。在第 8 版<sup>[3]</sup>中, 双歧杆菌即被归为双歧杆菌属, 属放线菌科, 包括 8 个种<sup>[4]</sup>。

双歧杆菌是一类 G+C 含量很高的革兰氏阳性菌, 属双歧杆菌科家族和放线菌门<sup>[5]</sup>, 最常栖息在人类和哺乳动物肠道。目前, 已发现和报道的双歧杆菌(*Bifidobacterium*, BFB)已达 32 个种。其中, 与人类密切相关的有 12 种: 青春双歧杆菌(*Bifidobacterium adolescentis*)、婴儿双歧杆菌(*Bifidobacterium infantis*)、长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*)、两歧双歧杆菌(*Bifidobacterium bifidum*)、短双歧杆菌(*Bifidobacterium*

收稿日期: 2011-07-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(31071522)

作者简介: 李俊洁(1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为发酵生物技术。E-mail: lijunjie19860915@126.com

\* 通信作者: 陈庆森(1957—), 男, 教授, 硕士, 研究方向为发酵生物技术、蛋白资源开发与应用。E-mail: chenqs1689@163.com

breve)、链状双歧杆菌(*Bifidobacterium catenulatum*)、假链双歧杆菌(*Bifidobacterium pseudocatenulatum*)、角双歧杆菌(*Bifidobacterium angulatum*)、高卢双歧杆菌(*Bifidobacterium gallicum*)、异形双歧杆菌(*Bifidobacterium inopinatum*)、齿双歧杆菌(*Bifidobacterium dentium*)及龋齿双歧杆菌(*Bifidobacterium denticolens*)，最后3种主要在口腔中发现<sup>[6-10]</sup>。

## 1.2 双歧杆菌的生理功能

双歧杆菌是人体肠道内一种重要的生理性细菌，每克肠内容物中约含 $10^8 \sim 10^{10}$ 个，与其他生理性细菌成员构成了微生物群落，并与宿主构成一个微生态系统<sup>[11]</sup>。主要的生理功能包括以下几个方面。

### 1.2.1 营养作用

双歧杆菌可自身合成多种消化酶，帮助机体消化一些其依靠本身酶系不能消化的营养物质，促进机体对营养物质的吸收。同时，BFB直接或间接地参与VB<sub>1</sub>、VB<sub>6</sub>、VB<sub>12</sub>、烟酸、叶酸以及除泛酸和VK之外的水溶性维生素的合成、吸收和利用，并能以氨为氮源在肠道内合成氨基酸和尿素，从而有效降低血氨浓度，提高体内蛋白质积蓄<sup>[12-13]</sup>。

双歧杆菌中具有乳糖酶，可将乳糖降解成葡萄糖、半乳糖，因此适量补充双歧杆菌可以避免乳糖不耐症的发生；在酵解过程中产生的乳酸和醋酸可降低环境的pH值及 $E_h$ (氧化还原电位)，有利于促进机体对某些矿物质如钙、铁及VD的吸收。

### 1.2.2 抑菌作用

双歧杆菌作为人体肠道的一种益生菌可以定植黏附在人的肠上皮细胞，产生抵御外来病原微生物及抑制肠道内有害细菌生长的作用。主要的作用机制包括：1)通过其细胞壁的脂磷壁酸(LTA)与肠黏膜上皮细胞膜特异性结合，黏附并占据肠道黏膜表面，与其他厌氧菌共同形成一层生物菌膜，抑制致病菌的入侵；2)通过糖酵解途径产生有机酸如乳酸、乙酸、甲酸，降低机体肠道环境的pH值及 $E_h$ ，从而抑制腐败细菌及有害细菌的生长繁殖，减少吲哚、甲酚、胺等有害物质的产生。其中，乙酸的抑菌效果最强，乳酸次之<sup>[14]</sup>；3)分解结合型胆汁酸成为游离型胆汁酸，后者对致病菌有较强的抑制作用；4)产生H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和双歧杆菌素，发挥抗菌作用；5)产生胞外糖苷酶，降解肠黏膜上皮细胞上作为潜在致病菌及其内毒素结合受体的复杂多糖，从而阻止致病菌及其毒素对肠道上皮细胞的黏附<sup>[15]</sup>。

### 1.2.3 免疫调节作用

双歧杆菌的免疫调节作用主要表现在其能激活宿主的肠黏膜免疫系统，促进免疫球蛋白IgA的分泌，并且能促进小肠黏膜下淋巴细胞的增殖和分化，激活巨噬

细胞及NK细胞，产生IL-1(白介素1)、IL-6、IL-12、TNF- $\alpha$ (肿瘤坏死因子 $\alpha$ )、IFN- $\gamma$ (干扰素 $\gamma$ )等细胞因子和NO(一氧化氮)等，从而调节机体的免疫应答。

### 1.2.4 抗癌及抗肿瘤作用

双歧杆菌的抗癌机理尚不清楚，可能包括：1)影响肠道细菌的生化代谢，减少致癌物如脱氧胆酸、石胆酸和环戊菲的产生；2)产生乳酸和乙酸，抑制有害菌，酸化肠道，促进肠蠕动，减少致癌物与肠上皮细胞的接触；3)双歧杆菌及其细胞壁肽聚糖(WPG)通过刺激巨噬细胞产生一些活性因子(IL-6, IL-1, TNF- $\alpha$ )而间接发挥抑瘤作用<sup>[16]</sup>；4)诱导血液中NO水平升高，激活巨噬细胞活性，通过与肿瘤代谢关键酶活性部位Fe<sub>2</sub>S结合使其失去活性，或与氧结合形成强有力杀伤性的羟自由基，促使癌细胞凋亡而产生抗癌作用<sup>[17]</sup>；5)降低肠道内偶氮还原酶、 $\beta$ -葡萄糖醛酸酶和硝酸盐还原酶等细菌酶的活性，抑制突变剂和致癌剂的活化<sup>[15]</sup>。

### 1.2.5 其他生理作用

除了上述功能，双歧杆菌还具有降低血脂<sup>[18]</sup>、保护及改善肝功能、调理肠道内环境、抗衰老、通便等功能<sup>[19]</sup>。

## 2 双歧杆菌对肠道相关疾病的调理和改善研究

为揭示人体健康、疾病状态与人体微生物群系(human microbiome, 在人体内或者表面存在的所有微生物的总称)的关系，2006年春季由多个国家科学家正式成立人类宏基因组计划国际联盟，启动人类宏基因组计划<sup>[20]</sup>。该计划基于科学家越来越多的研究成果，这些成果证明了人体的生理代谢和生长发育不仅仅受自身基因控制，因为有许多现象，如对疾病的易感性、药物反应等，无法全部用人体基因的差异来解释。这是因为人体内生活着大量“亲密的陌生者”——菌群，它们的组成和活动与人的生长发育、生老病死息息相关。到目前为止，已有多项研究报道<sup>[21-27]</sup>显示，各类肠道疾病与肠道微生物的种类及数量有着密切的联系，疾病患者肠道内存在着严重的菌群失衡现象。

### 2.1 双歧杆菌调理和改善炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的研究

IBD包括溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)，其病因尚未完全阐明，近年的研究以环境、遗传和免疫因素为主。目前随着对慢性炎症生物学认识的深入，通过干预特定炎症通路进行特异性生物治疗的方法取得了很大发展。已有大量研究对很多生物方法用于治疗IBD进行了评估，而对微生态疗法的研究也有了一定进展。

在IBD的治疗上，应用免疫抑制剂作为临床上治疗

该病的主要手段已经有了很大的发展, 却仍然存在着价格昂贵、毒副作用强, 而且并不是对所有患者都有效等问题。长期使用抗生素则容易引起肠道细菌耐药而导致菌群失调, 往往使得 IBD 的病情更加复杂。用双歧杆菌及其制剂对 IBD 调节已取得一定的成果。

### 2.1.1 双歧杆菌及其制剂通过改变肠道菌群的多样性来调理 IBD

包括短双歧杆菌(*B.breve*)、婴儿双歧杆菌(*B.infantis*)、长双歧杆菌(*B.longum*)等 3 种双歧杆菌在内的一共 8 株乳酸菌组成的冷冻干燥益生菌制剂——VSL#3 被证明可用来治疗肠道疾病。通过 2 个双盲、安慰剂实验发现, VSL#3 可以阻止慢性贮袋炎的复发<sup>[28]</sup>; VSL#3 还可以降低贮袋炎疾病的活性指数, 增加经过手术的 UC 病人的黏膜调节 T(Treg)细胞的数量。另外, VSL#3 被发现可下调肠道黏膜碱性鞘磷脂酶, 降低 UC 病人的炎症程度。第二种可有效改善 IBD 的益生菌制剂为长双歧杆菌(*B.longum*)与鼠李糖乳酸杆菌(*Lactobacillus. rhamnosus* GG-LGG)共生制成的合剂, 可以促进严重 UC 病人炎症程度的减轻<sup>[29]</sup>。

Brigidi 等<sup>[30]</sup>用定量 PCR 的方法对 IBD 患者在接受 VSL#3 治疗前后肠道内 *Streptococcus*、*Thermophilus*、*B. infantis* Y1 和 *B. breve* Y8 的定植情况进行了研究, 发现在治疗前只有 30% 的病人肠道有 *S.thermophilus*, 而其余两种菌的检出率都为 0%。在 VSL#3 治疗两个月后, *S.thermophilus* 的量有显著增加, 检出率为 100%, *B. infantis* Y1 和 *B. breve* Y8 菌株分别在 40% 和 70% 的病人中检测到, 表明 VSL-3#3 可以促进 IBD 患者肠道内益生菌的增殖。

将 VSL#3 给予经抗生素治疗的已处于缓和期的 IBD 病人, 可发现其与安慰组相比, 肠道微生物的多样性有所增加, 而真菌的多样性有所降低。在硫酸葡聚糖(DSS)诱导的炎症性小鼠中, VSL#3 被证实可以调节肠道微生物的多样性, 但是不可以改善炎症的程度及增加黏蛋白的产生。在老年人当中, 服用包括 *B.bifidum* BB-02 在内的一种益生菌合剂被证明可以增加粪便双歧杆菌的数量和多样性<sup>[31]</sup>。Fujiwara 等<sup>[32]</sup>发现 *B.longum* 可以显著降低 DSS 对小鼠的影响, 包括抑制结肠长度的缩短, 降低结肠炎疾病活性等。

研究表明益生菌可能是通过受体竞争有效地作用于黏膜的分泌, 或者是诱导肠道淋巴组织的免疫功能来保护黏膜的<sup>[33]</sup>。这种保护可能主要归功于“定殖障碍”。“定殖障碍”现多用于描述某些细菌抑制其他种类细菌定殖的作用。这种定殖构成了一种强烈的黏膜屏障功能, 从而防止致病菌的吸附和入侵。IBD 会增加小肠的通透性, 从而增强食物或黏膜抗原的移位, 导致上皮组织屏障作用降低, 而双歧杆菌作为一种益生菌可以促进上皮组织的修复。

### 2.1.2 双歧杆菌及其制剂通过调节肠道的免疫应答来调节 IBD

随着分子生物学、免疫学的发展, 越来越多的证据表明益生菌能够通过多种信号转导途径对机体的天然和获得性免疫系统进行调节, 抑制异常的自身免疫反应, 维持肠道内环境的稳态。通过对肠黏膜免疫系统耐受肠道菌群的机制进行研究, 有学者发现益生菌菌体的某些抗原在 IL-10 存在的条件下能够使 GALT(gut-associated lymphoid tissue, 肠道相关淋巴样组织)来源 CD4<sup>+</sup>T 细胞激活分化成为 CD4<sup>+</sup> 调节性 T 细胞(regulatory T cell, Tr1), 然后通过其分泌的效应因子 IL-10、TGF- $\beta$  抑制抗原递呈细胞的活性, 调节 Th1/Th2 的平衡, 进而抑制肠道免疫病理损伤, 该理论被称为旁观者抑制效应。已有多个研究表明益生菌可以下调 IBD 炎症肠段组织中致炎细胞因子的表达。

金丹等<sup>[34]</sup>选用从健康幼儿粪便中分离的特定双歧杆菌对小鼠进行处理 4 周后, 用 4% 的 DSS 诱导急性结肠炎。实验结束后, 发现实验组与模型组相比结肠炎炎症程度有显著性差异, 并且实验组小鼠肠道派伊尔结细胞 IL-10 的表达和肠道黏膜 IL-10 分泌阳性细胞数明显多于模型组。表明所用的双歧杆菌菌株减轻了 DSS 诱导的小鼠肠道炎症反应, 并且增强了肠道免疫细胞 IL-10 的表达及分泌。

VSL#3 可以降低 IL-10 敲除小鼠的 IP-10(interferon-inducible protein-10, 干扰素诱导蛋白 10), 增加肠道的抗炎因子 IL-10 及从健康志愿者体内分离的 DCs(树突状细胞), 抑制炎症性 Th1 细胞的增殖, 降低促炎症因子 IL-12。这个影响归功于 VSL#3 混合制剂中的双歧杆菌。在用化学方法诱导的 IBD 病人中, VSL#3 可以诱导抗炎因子 IL-10 的产生。在对 UC 病人进行炎症黏膜的活组织切片检查中发现 *B.longum* 可以减少促炎症因子 TNF $\alpha$  及 IL-8 的分泌, 降低 NF- $\kappa$ B p65- 阳性固有层单核细胞的数量<sup>[35]</sup>。一种 *B.breve* 的发酵产品可以特异性地活化 MAPK (mitogen-activated protein kinases, 丝裂原活化蛋白激酶)、GSK3(glycogen synthase kinase-3, 糖原合成酶 3) 及 PI3K(phosphatidylinositol 3-kinase, 磷脂酰肌醇激酶 3)来调节 DCs 的成熟、活化和生存<sup>[36]</sup>。

近来, 有研究证明 *B.bifidum*S17 可以通过抑制 NF- $\kappa$ B 的活化来减少肠上皮细胞的免疫应答<sup>[37-41]</sup>。用 *B.bifidum* S17 对药物诱导的结肠炎模型小鼠进行治疗, 发现组织学评分及各促炎因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、KC (keratinocyte-derived chemokine, 角蛋白诱导的趋化因子)、Cox-2(环氧化酶)及 MPO(髓过氧化物酶)水平的显著降低, 证明 *B.bifidum* S17 治疗结肠炎可以部分抑制 Th1 介导的肠道炎症<sup>[37]</sup>。

Kim 等<sup>[40]</sup>运用 CD4<sup>+</sup> CD45 RB<sup>high</sup> T cell 转移的 IBD 模

型来研究 BGN4(*Bifidobacterium bifidum*) 在控制肠黏膜免疫时的调节作用, 发现口服 BGN4 可以抑制 IBD 的发展, 这种调节作用是通过抑制大肠病原淋巴球的活化和积累来完成的。另外, 在 BGN4 喂养组中, 与异常 Th1 应答相关的细胞因子 IL- $\gamma$  和 TNF- $\alpha$  的水平是降低的。BGN4 可能通过增加其他的调节细胞因子来诱导其他的抑制途径, 进而降低大肠的免疫应答。在 IL-10 基因敲除小鼠中, 双歧杆菌治疗已经被发现可以减少 Th1 细胞因子的产生<sup>[41]</sup>, 表明 BGN4 可以产生和活化不依赖于 IL-10 的抑制途径。

在 IL-10 基因敲除诱导的 UC 模型小鼠中, 一组研究者发现双歧杆菌对结肠及盲肠炎症可以产生显著的降低作用, 并且可以降低促炎症因子 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  及 IL-12, 而抗炎因子 TGF- $\beta$  (转化生长因子  $\beta$ ) 的水平保持不变<sup>[42]</sup>。同样, McCarthy 等<sup>[41]</sup>发现在 IL-10 基因敲除的 IBD 模型中, 用 *B.infantis* 及 *Lactobacillus. salivarius* 治疗可以降低上述 3 种促炎症因子的水平。

Osman 等<sup>[43]</sup>在诱导炎症之前喂养小鼠 *L.plantarum* DSM9843、*Bifidobacterium* sp. 3B1 及 *B.infantis* DSM 15158 益生菌 7d, 可以减缓 DSS 诱导的结肠炎的发展, 突出降低疾病的活性及细菌的移位。

### 2.1.3 双歧杆菌通过分泌某些抗致病菌物质, 抑制致病菌生长治疗 IBD

Setoyama 等<sup>[44]</sup>用无菌小鼠对 *Bacteroides vulgatus* 及 *Bifidobacterium* strains 与 DSS 诱导的 UC 进行了研究, 发现 DSS 诱导的炎症性肠病的严重程度与 *B.vulgatus* 密切相关, 而双歧杆菌可以产生某种复合物, 抑制 *B.vulgatus* 的生长, 从而达到抑制炎症性肠病恶化的目的。

Lievin 等<sup>[45]</sup>对培养双歧杆菌的上清液进行了分析, 发现该上清液中含有一种相对分子质量小于 3500 的亲脂性分子, 证实了该分子具有抗病原微生物的特性, 能杀灭致病菌, 并阻止致病菌侵入肠上皮细胞的功能。

由于 IBD 发病原因十分复杂, 同时涉及到天然和获得性免疫系统, 导致对于益生菌治疗 IBD 机制的研究也是从多个角度出发, 到目前为止还未统一认识, 也未得出确定性的结论。但根据以上研究成果的报道, 提示人们双歧杆菌以及含双歧杆菌的制剂在改善和治疗 IBD 不同病情状况方面表现出较好的功效, 也预示含双歧杆菌的微生物菌剂是一条可行的治疗和辅助治疗 IBD 的途径。

### 2.2 双歧杆菌调理和改善肠易激综合征(IBS)的研究

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是以腹泻、便秘、腹胀等特征为主要标志<sup>[46]</sup>的功能紊乱综合征, 尽管已被研究很多年, 但是其病理学原因仍未明确, 目前缺乏特异有效的治疗方法<sup>[47]</sup>。而益生菌作为一种可以调节肠道菌群结构的有益菌, 已被考虑用来治

疗 IBS, 现将双歧杆菌对 IBS 的调节作用作如下总结。

2005 年, O'Mahony 等<sup>[48]</sup>研究发现 VSL#3 及 *B.animalis* 可以减缓 IBS 的病理特征, 如腹胀、肠胃气胀、持续的便秘等, 只有很少的产品可以对 IBS 病人的疼痛及全部特征产生影响。而这些产品中, *B.infantis* 35624 是很值得关注的。在一开始的研究中发现, *B.infantis* 35624 对 IBS 主要症状(腹痛、腹胀及便秘)的缓和作用要远优于 *L.salivarius* 及安慰剂。

Whorwell 等<sup>[49]</sup>的进一步研究表明, 持续 4 周的最适剂量的实验结果证实 *B.infantis* 35624 治疗 IBS 的最有效剂量为  $10^8$ CFU/mL, 而 IBS 的所有特征都得到了显著性改变, 在治疗的最后阶段对 IBS 的全部特征进行评价, 发现益生菌的有效剂量治疗效果好于安慰剂大约 20%。

燕善军<sup>[50]</sup>对 84 例 IBS 患者进行口服双歧杆菌治疗, 研究结果发现, 双歧杆菌对 IBS 常见的腹痛、腹胀、排便频率异常及里急后重等主要症状有明显的改善作用, 治疗 4 周后效果更加明显。在双歧杆菌治疗期间, 未见任何不良反应和使用不耐受, 表明口服双歧杆菌可以显著改善 IBS 的各种症状, 且无副作用。

Brigidia 等<sup>[51]</sup>对 10 例临床 IBS 及功能性腹泻患者用 VSL#3 进行治疗, 发现 VSL#3 可以显著改变肠道微生物的组成, 乳酸菌、双歧杆菌及嗜热链球菌的数量显著上升, 而粪肠球菌、大肠杆菌群、拟杆菌、产气荚膜梭状芽孢杆菌的量没有明显变化, 并在接受治疗的粪便中检出了包含在 VSL#3 中的两种双歧杆菌 *B.infantis* Y1 和 *B.breve* Y8, 这些研究结果表明 VSL#3 可以促进益生菌在肠道内的定殖, 并抑制有害菌的繁殖, 显著改善肠道环境, 进而缓解疾病病情。

### 2.3 双歧杆菌调理和改善腹泻的研究

每年在全世界范围内大约有 40 亿人发生腹泻, 因此死亡的人数可以占到所有死亡人数的 4%。腹泻会引起肠道损伤, 包括影响肠道对微量及大量营养素的吸收, 导致肠道营养失调, 使微生物生长迟缓等<sup>[52]</sup>。双歧杆菌因其众多的益生功能被考虑用来治疗腹泻。

在接受抗生素治疗的病人中有  $\leq 20\%$  的人会发生腹泻, 与抗生素相关的腹泻(antibiotic-associated diarrhea, AAD) 源于肠道内菌群失衡, 会导致内源定殖细菌的减少及其发酵能力的降低。*Clostridium difficile* 和 *Klebsiella oxytoca* 是与 AAD 有密切联系的两种细菌。*B.longum* 对红霉素引起的腹泻有显著治疗效果<sup>[53]</sup>。

肠胃炎是引起严重腹泻最主要的原因, 其产生的原因可以归结于一些滤过性的毒菌或细菌, 或是寄生虫等, 最常见的因素是轮状病毒感染。Saavedra 等<sup>[54]</sup>研究表明对住院婴儿喂养 *B.bifidum* 及 *S.thermophilus* 可以降低婴儿患腹泻的危险。双盲安慰实验中, 55 名接受药物治疗的儿童被随机分为两组, 一组接受标准婴儿奶

粉,另一组接受含有 *B.bifidum* 及 *S.thermophilus* 两种益生菌的奶粉。在随后的跟踪监测中发现,接受益生菌治疗的婴儿与对照组相比,腹泻发生率为 7%:31%,具有显著性差异。

到高发腹泻地区参观的旅行者有一半会发生严重的旅行腹泻。虽然发病症状比较温和,但其发病率还是值得考虑的。由于抗生素的副作用及治疗昂贵,因此选择用合适的益生制剂进行治疗是一种不错的选择。Black 等<sup>[55]</sup>用 *Lactobacillus acidophilus*、*Lactobacillus bulgaricus*、*Bifidobacteria* 及 *S.thermophilus* 对去印度旅游的丹麦游客进行治疗,发现游客的腹泻率从 71% 降到 43%,表明含有双歧杆菌的益生菌制剂对腹泻的治疗有着广阔的前景。

#### 2.4 双歧杆菌调理和改善结直肠癌的研究

结直肠癌是人类常见的恶性肿瘤之一,其发病率位居全球恶性肿瘤第 3 位,在西方国家居第 2 位,亚洲国家发病率在继续上升<sup>[56]</sup>。致癌因素有遗传因素、环境因素等,而饮食是致癌的主要因素之一。在预防及治疗结直肠癌方面,人们越来越关注益生菌的作用。双歧杆菌作为一种重要的益生菌,对结直肠癌的发生发展有一定的调节抑制作用,现将有关研究作如下总结。

Seki 等<sup>[57]</sup>通过测定粪便中双歧杆菌的量可以发现长期食用由双歧杆菌发酵的乳制品可以显著增加肠道双歧杆菌的定殖力。因此可产生更多的乳酸,降低肠道的

pH 值,抑制像大肠杆菌及梭状芽孢杆菌等有害菌的繁殖,优化了肠道的理化环境。

Sekine 等<sup>[58]</sup>发现皮下注射从 *B.infantis* ATCC15697 分离出来的肽聚糖可以有效抑制肿瘤生长。人们认为乳酸菌通过提高宿主的免疫应答来抑制肿瘤。Sekine 等<sup>[59]</sup>提出婴儿双歧杆菌可以刺激宿主的免疫应答,导致肿瘤抑制或退化。向小鼠体内的肿瘤部位注射活的或死的双歧杆菌细胞可以引起肿瘤细胞的退化。Reddy 等<sup>[60]</sup>先前的实验也证明长期摄入长双歧杆菌的冻干培养物可以抑制由 2-氨基 3-甲基咪唑(4,5-f)喹啉(IQ)及食物中的致癌物引起的结肠、小肠及肝脏的癌症。

在食物中添加长双歧杆菌的冻干培养物可以显著抑制由氧化偶氮甲烷(AOM)诱导的结肠癌的发生发展。饮食中补充乳酸杆菌也能延长小鼠结肠癌潜伏期,动物补充乳酸杆菌和双歧杆菌可以抑制癌前体的恶化和肿瘤的发展<sup>[61]</sup>。

### 3 已应用于临床预防及治疗肠道疾病的双歧杆菌相关产品

目前,国际上已报道并在临床上应用了一些双歧杆菌及含双歧杆菌的益生菌制剂和产品,这些产品在保障推荐剂量的条件下对肠道相关疾病的预防及治疗作用均表现出很好的功效,展示出可行的开发前景,现将这些产品归纳总结(表 1)。

表 1 双歧杆菌相关产品对肠道疾病的预防及治疗作用

Table 1 Applications of *Bifidobacterium*-related products in the prevention and treatment of gut-associated diseases

病症	产品名称	推荐剂量
对儿童 AAD 的预防	<i>B.lactis</i> <sup>(1)</sup> Bb12+ <i>S.thermophilus</i> <sup>(2)</sup>	(10 <sup>7</sup> +10 <sup>6</sup> )CFU/g 奶粉 <sup>[62]</sup>
对儿童医院内腹泻的预防	<i>B.lactis</i> BB12+ <i>S.thermophilus</i>	(10 <sup>8</sup> +10 <sup>7</sup> )CFU/g 奶粉 <sup>[62]</sup>
	<i>B.lactis</i> BB12	10 <sup>9</sup> CFU/次, 每天两次 <sup>[62]</sup>
	<i>B.infantis</i> <sup>(3)</sup> 35624	10 <sup>8</sup> CFU/次, 一天一次 <sup>[62]</sup>
缓解 IBS 的某些特征	VSL#3 mixture <sup>(4)</sup>	4.5 × 10 <sup>11</sup> CFU/次, 每天两次 <sup>[62]</sup>
	<i>L.rhamnosus</i> <sup>(5)</sup> GG、 <i>L.rhamnosus</i> LC705、 <i>B.breve</i> <sup>(6)</sup> Bb99 及 <i>Propionibacterium freudenreichii</i> ssp. <i>shermanii</i> <sup>(7)</sup>	10 <sup>10</sup> CFU/次, 一天一次 <sup>[62]</sup>
	<i>B.animalis</i> <sup>(8)</sup> DN-173 010 in fermented milk with <i>L.bulgaricus</i> <sup>(9)</sup> + <i>S.thermophilus</i>	(1.25 × 10 <sup>10</sup> )CFU/次 + (1.2 × 10 <sup>9</sup> )CFU/次, 每天两次 <sup>[62]</sup>
对结肠袋炎预防及缓解期的保持	VSL#3 mixture	4.5 × 10 <sup>11</sup> CFU/次, 每天两次 <sup>[62]</sup>
对早产婴儿结肠炎的预防	<i>B.infantis</i> 、 <i>S.thermophilus</i> 、 <i>B.bifidum</i> <sup>[10]</sup>	0.35 × 10 <sup>9</sup> CFU/株, 一天一次 <sup>[62]</sup>
	<i>L.acidophilus</i> <sup>(11)</sup> + <i>B.infantis</i> (Infloran strains)	10 <sup>9</sup> CFU/(株、次), 每天两次 <sup>[62]</sup>
对成年人 AAD 的治疗	<i>B.longum</i> <sup>(12)</sup> BB 536+ <i>L.acidophilus</i> NCFB 1748 (发酵奶粉)	(5 × 10 <sup>7</sup> ~2 × 10 <sup>8</sup> )CFU/mL + (2 × 10 <sup>8</sup> ~3 × 10 <sup>8</sup> )CFU/mL <sup>[52]</sup>
	<i>B.ongum</i> BB 536(发酵奶粉)	(5 × 10 <sup>7</sup> ~2 × 10 <sup>8</sup> )CFU/mL <sup>[52]</sup>
对儿童严重腹泻的治疗	<i>B.bifidum</i> + <i>S.thermophilus</i> (奶粉)	1.9 × 10 <sup>8</sup> CFU/g + 0.14 × 10 <sup>8</sup> CFU/g <sup>[52]</sup>
对儿童感染腹泻的治疗	<i>B.lactis</i> BB12(牛乳粉)	1 × 10 <sup>7</sup> CFU/g 奶粉 <sup>[52]</sup>
对儿童感染腹泻的治疗	<i>B.lactis</i> BB12(酸化婴儿奶粉)	每天至少 10 <sup>8</sup> CFU/g <sup>[52]</sup>

注: (1)动物双歧杆菌乳亚种; (2)嗜热链球菌; (3)婴儿双歧杆菌; (4)包括 3 株双歧杆菌在内的 8 株乳酸菌组成的混合制剂; (5)鼠李糖乳酸杆菌; (6)短双歧杆菌; (7)费氏丙酸杆菌; (8)动物双歧杆菌; (9)保加利亚乳杆菌; (10)两歧双歧杆菌; (11)嗜酸乳杆菌; (12)长双歧杆菌。

## 4 展 望

双歧杆菌代表益生菌的一大类。德国早在 20 世纪 40 年代即将双歧杆菌制剂用于婴儿消化道疾病的防治。日本第一个双歧杆菌制品是由森永乳业公司于 1971 年开发的, 至今日本已成为世界最大的双歧杆菌制品的生产国, 已生产约有 70 多个品种, 其中 50 种以上是乳制品<sup>[63]</sup>。在法国、美国、印度、英国等许多国家双歧杆菌制品的生产都增长很快。我国对双歧杆菌的研究和应用只是近十几年的事, 现已有含双歧杆菌的奶粉, 乳饮料“双歧王”等上市<sup>[64]</sup>。随着社会进步, 人们期待着更多高质量的双歧杆菌制品的研究成功及投放市场。

双歧杆菌众多的生理学功能给肠道疾病的治疗提供了一种新的思路。但是由于各种疾病的发病机制、病理特征及临床表现截然不同, 加之同一种益生菌不可能适合患者, 甚至同一患者在病程不同阶段也可能需要不同的益生菌株或同一益生菌株的不同剂量治疗。因此, 菌株及其治疗剂量的选择对肠道疾病的治疗是很关键的。

含双歧杆菌微生态制剂的一个发展方向就是在考虑菌剂安全性的前提下, 开发各类混菌制剂(如 VSL#3), 并确定菌株之间的比例以达到最佳的治疗效果; 另一个方向就是将益生菌和益生元合用, 即共生作用可能比单一成分具有更好的功效, Rowland 等<sup>[65]</sup>研究证实了这种组合的重要性, 给小鼠同时补充菊粉和双歧杆菌, 比单独补充更能有效抑制由氧化偶氮甲烷(AOM)引发的异常隐窝病灶(ACF)。

总之, 随着人们对各类肠道疾病发病机制研究的深入及对包括双歧杆菌在内的多种益生菌的全面了解, 尤其对肠道内微生物菌群的元基因组学认识的深入, 使我们相信: 人类终究会发现便捷、安全而有效的微生态制剂治疗肠道疾病的方法, 为人类创造出高质量的生活环境作出贡献。

## 参考文献:

- [1] TISSIER M H. La reaction chromophile d'Escherichel et le *Bacterium coli*[J]. Compts Rendus des Seances de la Societe de Biologie, 1899, 51: 943-945.
- [2] BREED R S, MURRAY E G D, SMITH N R. Bergey's manual of determinative bacteriology[M]. Baltimore: Williams & Wilkins Co, 1957.
- [3] BUCHANAN R E, GIBBONS N E. Bergey's manual of determinative bacteriology[M]. Baltimore: Williams & Wilkins Co. 1974.
- [4] DWORKIN M, FALKOW S, ROSENBERG E, et al. The prokaryotes [M]. New York: Springer, 2006: 322-382.
- [5] TURRONI F, MARCHESI J R, FORONI E, et al. Microbiomic analysis of the bifidobacterial population in the human distal gut[J]. ISME, 2009(3): 745-751.
- [6] BIAVATI B, SGORBATI B, SCARDOVI V. The genus *Bifidobacterium* [M]//BALOWS A, TRUPER G, DWORKIN M, et al. The Prokaryotes. New York: Springer-Verlag, 1991: 816-833.
- [7] CROCIANI F, BIAVATI B, ALESSANDRINI A, et al. *Bifidobacterium inopinatum* sp. nov. and *Bifidobacterium denticolens* sp. nov., two new species isolated from human dental caries[J]. Int J Syst Bacteriol, 1996, 46: 564-571.
- [8] LAUER E. *Bifidobacterium gallicum* sp. nov. isolated from human feces[J]. Int J Syst Bacteriol, 1990, 40: 100-102.
- [9] MASTUKI T, WATANABE K, TANAKA R, et al. Distribution of bifidobacterial species in human intestinal microflora examined with 16S rRNA-gene-targeted species-specific primers[J]. Appl Environ Microbiol, 1999, 65: 4506-4512.
- [10] MCCARTNEY A L, WANG W, TANNOCK G W. Molecular analysis of the composition of the bifidobacterial and *Lactobacillus* microflora of humans[J]. Appl Environ Microbiol, 1996, 62: 4608-4613.
- [11] 陈雪梅, 邱翔. 双歧杆菌的研究进展[J]. 营养与日粮, 2007(2): 15-17.
- [12] 刁治民, 张文静, 马永贵. 双歧杆菌的生理作用及开发前景[J]. 青海科技, 2002(6): 37-40.
- [13] 张延伸, 马燕. 双歧杆菌的生物学特性及其保健功能[J]. 解放军预防医学杂志, 2005, 23(5): 386-389.
- [14] MARTEAU P, RDE-VRESE M, CELLIER C J, et al. Protection from gastrointestinal disease with the use of probiotics[J]. A M J Clin Nutr, 2001, 73(2): 430-436.
- [15] 李文桂, 陈雅棠. 双歧杆菌生物学作用研究进展[J]. 地方病通报, 2006, 21(1): 85-87.
- [16] 吴淑清, 王顺余, 谭克, 等. 双歧杆菌的研究现状[J]. 长春大学学报, 2007, 17(4): 57-61.
- [17] 张金洁, 王立生, 潘令嘉, 等. 双歧杆菌的完整肽聚糖对实验性大肠癌诱导型一氧化氮合酶表达的影响[J]. 中国微生态学杂志, 2001, 13(1): 11-12.
- [18] 陈文学, 史俊华. 双歧杆菌的研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2000, 12(5): 298-300.
- [19] CHEN H C, CHANG C C, MAU W J, et al. Evaluation of N-acetylchitooligosaccharides as the main carbon sources for the growth of intestina bacteria[J]. FEMS Microbiol Lett, 2002, 209(1): 53-56.
- [20] 楚雅烈, 杨娥. 宏基因组学及其技术的研究进展[J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2008, 29(6): 601-608.
- [21] VERMA R, VERMA A K, AHUJA V, et al. Real-time analysis of mucosal flora in patients with inflammatory bowel disease in india[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(11): 4279-4282.
- [22] 郭世奎, 包维民, 龚昆梅, 等. SYBR Green I 实时荧光定量 PCR 法分析结直肠癌患者肠道菌群变化[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2010, 17(5): 463-468.
- [23] 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 J Gastroenterol, 2007, 29(13): 3985-3989.
- [24] MYLONAKI M, RAYMENT N B, RAMPTON D S, et al. Molecular characterization of rectal mucosa associated bacterial flora in inflammatory bowel disease[J]. Inflamm Bowel Dis, 2005, 11(5): 481-487.
- [25] GEIER M S, BUTLER R N, HOWARTH G S, et al. Probiotics, prebiotics and synbiotics: a role in chemoprevention for colorectal cancer? [J]. Cancer Biol Ther, 2006, 5(10): 1265-1269.
- [26] 张蕾, 顾芳, 白鹏, 等. 16S rDNA 荧光定量 PCR 法对肠易激综合征患者肠道目标菌群的分析[J]. 山东医药, 2009, 49(28): 51-52.
- [27] STECHER B, HARDT W D. Mechanisms controlling pathogen colonization of the gut[J]. Current Opinion in Microbiology, 2011, 14: 82-91.
- [28] GIONCHETTI P, RIZZELLO F, VENTURI A, et al. Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial[J]. Gastroenterology, 2000, 119(2): 305-309.
- [29] REIFF C, KELLY D. Inflammatory bowel disease, gut bacteria and probiotic therapy[J]. International Journal of Medical Microbiology,

- 2010, 300(1): 25-33.
- [30] BRIGIDI P, SWENNEN E, VITALI B. PCR detection of *Bifidobacterium* strains and *Streptococcus thermophilus* in feces of human subjects after oral bacteriotherapy and yogurt consumption[J]. Int J Food Microbiol, 2003, 81(3): 203-209.
- [31] BARTOSH S, WOODMANSEY E J, PATERSON J C, et al. Microbiological effects of consuming a symbiotic containing *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*, and oligofructose in elderly persons, determined by real-time polymerase chain reaction and counting of viable bacteria[J]. Clin Infect Dis, 2005, 40(1): 28-37.
- [32] FUJIWARA M, KANEKO T, IWANA H, et al. Inhibitory effects of *Bifidobacterium longum* on experimental ulcerative colitis induced in mice by synthetic dextran sulfate sodium[J]. Digestion, 2003, 67(1/2): 90-95.
- [33] MADSEN K L. The use of probiotics in gastrointestinal disease[J]. Can J Gastroenterol, 2001, 12: 817-822.
- [34] 金丹, 孟繁平, 崔逢德, 等. 特定双歧杆菌菌株对炎症性肠病小鼠的影响[J]. 微生物学通报, 2011, 38(3): 383-387.
- [35] BAI A P, OUYANG Q, XIAO X R. Probiotics modulate inflammatory cytokine secretion from inflamed mucosa in active ulcerative colitis[J]. Int J Clin Pract, 2006, 60(3): 284-288.
- [36] HOARAU C, MARTIN L, FAUGARET D, et al. Supernatant from *Bifidobacterium* differentially modulates transduction signaling pathways for biological functions of human dendritic cells[J]. PLoS One, 2008, 3(7): e2753.
- [37] PHILIPPE D, HEUPEL E, BLUM-SPERISEN S, et al. Treatment with *Bifidobacterium bifidum* 17 partially protects mice from Th1-driven inflammation in a chemically induced model of colitis[J]. Int J Food Microbiol, 2010(2): 1-5.
- [38] PREISING J, PHILIPPE D, GLEINSER M, et al. Selection of bifidobacteria for amelioration of murine colitis based on adhesion and anti-inflammatory capacity *in vitro*[J]. Appl Environ Microbiol, 2010, 76(9): 3048-3051.
- [39] RIEDEL C U, FOATA F, PHILIPPE D, et al. Anti inflammatory effects of bifidobacteria by inhibition of LPS-induced NF-kappaB activation[J]. World J Gastroenterol, 2006, 12(23): 3729-3735.
- [40] KIM N, KUNISAWA J, KWEON MN, et al. Oral feeding of *Bifidobacterium bifidum* (BGN4) prevents CD4<sup>+</sup> CD45RB<sup>high</sup> T cell-mediated inflammatory bowel disease by inhibition of disordered T cell activation[J]. Clinical Immunology, 2007, 123(1): 30-39.
- [41] MCCARTHY J, O'MAHONY L, O'CALLAGHAN L, et al. Double blind, placebo controlled trial of two probiotic strains in interleukin 10 knockout mice and mechanistic link with cytokine balance[J]. Gut, 2003, 52 (7): 975-980.
- [42] QUIGLEY E M M. Prebiotics and probiotics, modifying and mining the microbiota[J]. Pharmacol Res, 2010, 61(3): 213-218.
- [43] OSMAN N, ADAWI D, AHME S, et al. Modulation of the effect of dextran sulfate sodium-induced acute colitis by the administration of different probiotic strains of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*[J]. Digest Dis Sci, 2004, 49(2): 320-327.
- [44] SETOYAMA H, IMAOKA A, ISHIKAWA H, et al. Prevention of gut inflammation by *Bifidobacterium* in dextran sulfate-treated gnotobiotic mice associated with *Bacteroides* strains isolated from ulcerative colitis patients[J]. Microbes Infect, 2003(5): 115-122.
- [45] LIEVIN V, PEIFFER I, HUDAULT S, et al. *Bifidobacterium* strains form resident infant human gastrointestinal microflora exert antimicrobial activity[J]. Gut, 2000, 47(5): 646-652.
- [46] FORBES A L, HUNTER J O. Irritable bowel syndrome[J]. Motility and Functional Bowel Disease, 2007, 35(5): 267-271.
- [47] 孙颖, 刘建湘, 谢鹏雁. 肠易激综合征的药物治疗[J]. 临床荟萃, 2003, 18(14): 837-839.
- [48] O'MAHONY L, MCCARTHY J, KELLY P, et al. A Randomized, placebo-controlled, double-blind comparison of the probiotic bacteria *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* in irritable bowel syndrome (IBS): symptom responses and relationship to cytokine profiles[J]. Gastroenterology, 2005, 128: 541-551.
- [49] WHORWELL P J, ALTRINGERI L, MOREL J, et al. Efficacy of an encapsulated probiotic *Bifidobacterium infantis* 35624 in women with irritable bowel syndrome[J]. Am J Gastroenterol, 2006, 101(7): 1581-1590.
- [50] 燕善军. 双歧杆菌对肠易激综合征的治疗价值[J]. 蚌埠医学院学报, 2005, 30(5): 394-395.
- [51] BRIGIDIA P, VITALIA B, SWENNENA E, et al. Effects of probiotic administration upon the composition and enzymatic activity of human fecal microbiota in patients with irritable bowel syndrome or functional diarrhea[J]. Res Microbiol, 2001, 152: 735-741.
- [52] SAZAWAL S, HIREMATH G, DHINGRA U, et al. Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomised, placebo-controlled trials[J]. Lancet Infect Dis, 2006, 6: 374-382.
- [53] MARTEAU P R, VRESE M, CELLIER C J, et al. Protection from gastrointestinal diseases with the use of Probiotics[J]. Am J Clin Nutr, 2001, 73(2): 430S-436S.
- [54] SAAVEDRA J M, BAUMAN N A, OUNG I, et al. Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus[J]. Lancet, 1994, 344: 1046-1049.
- [55] BLACK F T, ANDERSEN P L, ORSKOV J, et al. Prophylactic efficacy of *Lactobacilli* on traveler's diarrhea[J]. Travel Med, 1989, 7: 333-335.
- [56] 郭世奎. 16S rRNA 基因与结直肠癌患者肠道相关分子微生态研究进展[J]. 云南医药, 2010, 32(2): 211-215.
- [57] SEKI M, IGARASHI M, FUKUD Y, et al. The effect of *Bifidobacterium* cultured milk on the 'regularity' among an aged group[J]. Jpn Soc Nutr Fd Sci, 1978, 34: 279-333.
- [58] SEKINE K, KAWASHIMA T, HASHIMOTO Y. Comparison of the TNF-(levels induced by human-derived *Bifidobacterium longum* and rat-derived *Bifidobacterium animalis* in mouse peritoneal cells[J]. Bifidobacteria Microflora, 1994, 13: 79-89.
- [59] SEKINE K, TOIDA T, SAITO M, et al. A new morphologically characterized cell wall preparation (whole peptidoglycan) from *Bifidobacterium infantis* with a higher efficacy on the regression of an established tumor in mice[J]. Cancer Res, 1985, 45: 1300-1307.
- [60] REDDY B S, RIVENSON A. Inhibitory effect of *Bifidobacterium longum* on colon, mammary and liver carcinogenesis induced by 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, a food mutagen[J]. Cancer Res, 1993, 53: 3914-3918.
- [61] SINGH J, RIVENSON A, TOMITAL M, et al. *Bifidobacterium longum*, a lactic acid-producing intestinal bacterium inhibits colon cancer and modulates the intermediate biomarkers of colon carcinogenesis[J]. Carcinogenesis, 1997, 18(4): 833-841.
- [62] GUAMER F, KHAN A G, GARISCH J, et al. World gastroenterology organisation practice guidelines: probiotics and prebiotics[J]. Arab J Gastroenterol, 2009, 10: 33-42.
- [63] 曾庆坤, 章纯熙, 杨炳壮, 等. 水牛奶双歧酸奶的研制[J]. 食品研究与开发, 2001, 22(3): 22-24.
- [64] 江晓, 贾力敏. 双歧杆菌检测与鉴定技术进展[J]. 中国乳品工业, 2002, 30(1): 19-21.
- [65] ROWLAND I R, RUMNEY C J, COUTTS J T, et al. Effect of *Bifidobacterium longum* and inulin on gut bacterial metabolism and carcinogen-induced aberrant-crypt foci in rats[J]. Carcinogenesis, 1998, 1(2): 281-285.