林晓雅, 林莹莹, 张亚飞, 等. 母乳低聚糖改善 D-半乳糖致衰老小鼠的肠道屏障损伤 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(3): 412−419. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025010265

LIN Xiaoya, LIN Yingying, ZHANG Yafei, et al. Human Milk Oligosaccharides Improve the Intestinal Barrier in D-Galactose-induced Aging Mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(3): 412−419. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025010265

·营养与保健·

母乳低聚糖改善 D-半乳糖致衰老小鼠的肠道屏障损伤

林晓雅[1], 林莹莹[1,2], 张亚飞[1], 全　亨[2,3], 郭慧媛[1,2,3,*]

（1.中国农业大学食品科学与工程学院, 北京 100083;
2.中国农业大学营养与健康系功能乳品实验室, 北京 100191;
3.国家乳业技术创新中心, 内蒙古自治区呼和浩特 010110）

摘　要: 目的：探究母乳低聚糖（Human milk oligosaccharides，HMOs）对衰老模型小鼠肠道屏障损伤的改善作用。方法：腹腔注射 450 mg/（kg BW）D-半乳糖建立衰老小鼠模型，同期分别灌胃 500 mg/（kg BW）不同构型 HMOs（2'-FL、3'-SL、LNnT）。8 周后，检测并分析小鼠的体重变化、肠道器官指数、氧化应激水平、肠道渗透率、结肠的形态、干细胞的增殖分化能力。结果：经 HMOs 干预后，衰老模型小鼠的肠道器官指数显著增加 27.16%~33.74%（P<0.05），血清中超氧化物歧化酶活力升高 34.82%~99.83%（P<0.001），丙二醛含量减少 46.21%~61.79%（P<0.05 或 P<0.01），肠道渗出的异硫氰酸荧光素标记葡聚糖含量降低 48.45%~62.84%（P<0.05 或 P<0.01），结肠隐窝数量、深度、增殖细胞核抗原的阳性细胞个数以及分化细胞数量都显著增加（P<0.05 或 P<0.01）。结论：HMOs 干预，特别是 2'-FL 干预，可以显著增强 D-半乳糖致衰老小鼠的肠干细胞的增殖、分化能力，改善结肠隐窝形态萎缩，增强肠道黏液屏障，降低肠道渗透率，进而改善老化的肠道屏障。

关键词: 母乳低聚糖, D-半乳糖, 衰老, 肠道屏障

中图分类号: TS201.4　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)03−0412−08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025010265　　本文网刊:

Human Milk Oligosaccharides Improve the Intestinal Barrier in D-Galactose-induced Aging Mice

LIN Xiaoya[1], LIN Yingying[1,2], ZHANG Yafei[1], QUAN Heng[2,3], GUO Huiyuan[1,2,3,*]

（1.College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China;
2.Key Laboratory of Functional Dairy, Department of Nutrition and Health, China Agricultural University, Beijing 100191, China;
3.National Center of Technology Innovation for Dairy, Hohhot 010110, China）

Abstract: Objective: To evaluate the therapeutic potential of human milk oligosaccharides (HMOs) in mitigating age-related intestinal barrier dysfunction using D-galactose-induced aging mouse model. Methods: Aging was induced in mice via chronic intraperitoneal administration of D-galactose (450 mg/kg body weight [BW]) for 8 weeks. Concurrently, mice were orally administered HMOs—2'-fucosyllactose (2'-FL), 3'-sialyllactose (3'-SL), and lacto-N-neotetraose (LNnT)—at a dose of 500 mg/kg BW daily. After 8 weeks, the body weight changes, intestinal organ indices, oxidative stress levels, intestinal permeability, colonic morphology, and the proliferation and differentiation capabilities of stem cells in mice were measured and analyzed. Results: Following HMOs intervention, aging model mice demonstrated a pronounced recovery of

收稿日期: 2025−01−24

基金项目: 拼多多-中国农业大学研究基金资助（PC2023A02006）; 北京高等学校卓越青年科学家计划（JWZQ2024101019）。

作者简介: 林晓雅（2000−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品营养与肠道健康, E-mail: linxiaoya@cau.edu.cn。

*** 通信作者:** 郭慧媛（1982−）, 女, 博士, 教授, 研究方向: 精准营养与肠道健康, E-mail: guohuiyuan@cau.edu.cn。

intestinal health, with organ indices exhibiting a significant increase of 27.16%~33.74% (P<0.05). Serum superoxide dismutase activity increased significantly by 34.82%~99.83% (P<0.001), while malondialdehyde content decreased by 46.21%~61.79% (P<0.05 or P<0.01). Intestinal barrier integrity was reinforced, with FITC-dextran permeability decreasing by 48.45~62.84% (P<0.05 or P<0.01). Histological analyses revealed remarkable regenerative effects on colonic architecture, including significant increased in crypt number, crypt depth, proliferating cell nuclear antigen (PCNA)-positive cell counts, and cell differentiation (P<0.05 or P<0.01). Conclusion: HMOs intervention, particularly with 2'-FL, significantly enhanced the proliferation and differentiation capabilities of intestinal stem cells in D-galactose-induced aging mice. It improved the atrophy of colonic crypt morphology, strengthened the intestinal mucus barrier, and reduced intestinal permeability, thereby ameliorating the aging intestinal barrier.

Key words: human milk oligosaccharides; D-galactose; aging; intestinal barrier

肠道是人体最重要的器官之一，是消化系统的主要组成部分，除了负责营养物质的消化吸收，还具有屏障功能，对机体的健康至关重要。在衰老的过程中，肠道会发生一系列退行性变化，比如肠上皮结构老化、肠道核心功能退化[1−3]。其具体表现为机体氧化应激水平上升，肠道干细胞耗竭，增殖、分化能力受阻，导致隐窝数量减少、形态萎缩。进一步地，上皮细胞间紧密连接障碍，导致肠通透性增加[4−6]。因此，目前迫切需要针对衰老肠道屏障的变化制定有效的饮食干预策略，来恢复衰老肠道的活力。近些年，食源性糖类延缓肠道衰老成为一大研究热点。研究表明，蘑菇多糖、枸杞多糖等食源性糖类可以增加紧密连接蛋白的表达、提高抗氧化能力、抑制肠道细胞凋亡、调节肠道菌群、增加短链脂肪酸生成，从而延缓肠道衰老[7−9]。然而，这类干预物质存在明显局限性，由于它们大多是从植物中提取，成分复杂且结构尚未完全明确，加之提取与纯化工艺的差异对延缓衰老效果有显著影响，这使得它们难以顺利通过审批流程，限制了其在市场产品中的实际应用。因此，当前亟需寻找一种既能通过工业生产实现规模化，又具备明确应用前景，且能有效延缓肠道衰老的食源性糖类物质。

母乳低聚糖（human milk oligosaccharides, HMOs）是母乳中第三大固体成分，也是保证婴幼儿健康最重要的成分之一[10]，被批准添加至婴配奶粉的食品中。研究发现，HMOs 可以增强肠黏膜屏障，维持菌群平衡，减缓炎症反应，促进婴幼儿和成年期的肠道健康[11−13]。同时，临床研究结果表明，HMOs 可以改善肠易激综合征和溃疡性结肠炎患者的肠屏障损伤[14]。此外，HMOs 还被证实能改善衰老相关症状，如研究证明 2’-岩藻糖基乳糖能够缓解与衰老相关的代谢紊乱、改善与衰老相关的骨质疏松并抑制衰老小鼠的脑细胞凋亡[15−17]。因此，本文猜测 HMOs 具有延缓肠道屏障衰老的潜力。此外，已发现和表征的 HMOs 多达 200 余种，其中被证实具有功能的有 30 余种。根据分子末端连接的单体可以将 HMOs 分为三类：中性岩藻糖基 HMOs、中性非岩藻糖基 HMOs 和酸性 HMOs。HMOs 发挥功能的主要方式是结合特异性受体，与肠道上皮细胞表面受体结合直接调节各类免疫反应，或者以构型依赖的方式调节肠道微生物群进而间接调节机体健康[18]。其中，作为益生元，HMOs 主要通过肠道菌群发挥作用。大部分 HMOs 无法被消化道分解吸收，进而到达结肠，被肠道菌群利用。因此，解析不同构型的 HMOs 对肠道屏障的调节作用是必要且重要的。然而，HMOs 对于改善衰老过程中的肠道健康是否有效，以及不同结构的 HMOs 是否会产生相同效果，目前尚未有明确的结论。

因此，为探究不同结构的 HMOs 对衰老肠道的调控作用，本研究利用 D-半乳糖致衰老小鼠模型，评估三种不同结构 HMOs，包括 2’-岩藻糖基乳糖（2'-Fucosyllactose, 2'-FL）、3’-唾液酸乳糖（3'-Sialyllactose, 3'-SL）、乳糖-N-新四糖（Lacto-N-neotetraose, LNnT）的功能，并检测其在生理、氧化应激水平、肠道渗透率与形态以及肠道增殖与分化等方面的影响，为寻找延缓肠道衰老的食源性物质提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

8 周龄 SPF 级雄性 C57BL/6N 野生型小鼠 30 只，购于江苏集萃药康生物科技股份有限公司，动物生产许可证号 SCXK（苏）2023-0009。经 7 d 适应性饲养，自由饮水饮食，室温 21~23 ℃，湿度 30%~50%，光照明暗交替 12 h；D-半乳糖（D-gal）（货号：G5388）　Sigma Aldrich 公司；母乳低聚糖（2'-FL、3'-SL、LNnT）　Royal DSM 公司；苏木素伊红染色试剂盒（货号：G1120）　北京索莱宝科技有限公司；异硫氰酸荧光素标记葡聚糖（fluorescein isothiocyanate-dextran, FITC-D, 4 kDa）（货号：G2215338）　阿拉丁生化科技股份有限公司；糖原 PAS 试剂盒（货号：DG0005）　北京雷根生物技术有限公司；PCNA 抗体（货号：sc-56）　Santa Cruz 公司；总超氧化物歧化酶（SOD）测定试剂盒（货号：A001-3-2）、MDA 丙二醛试剂盒（货号：A003-1-2）　南京建成生物工程研究所。

Sorvall LYNX 4000 冷冻离心机　美国 Thermo 公司；ALC-210 分析天平　Sartorius；BCD-463 冰箱　海尔公司；DM613 荧光显微镜、HistoCore Arcadia H 石蜡包埋机　德国 Leica 公司；KD-BL 包埋机冷

冻台　浙江金华市科迪仪器设备有限公司；Infinite M200PRO 酶标仪　瑞士 TECAN公司；HP300 全自动组织脱水仪　深圳达科为医有限公司；DHP-035 恒温培养箱　上海一恒仪器有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　动物分组、造模与给药　30 只小鼠经适应性饲养 7 d 后，随机分为 5 组，每组 6 只，分别为对照组（Control）、模型组（D-gal）、2'-FL 干预组（D-gal+2'-FL）、3'-SL 干预组（D-gal+3'-SL）、LNnT 干预组（D-gal+LNnT）。本实验方案通过中国农业大学动物伦理审核，伦理批号：Aw60504202-4-3。D-半乳糖致衰老小鼠造模方法（图 1）：模型组和各个母乳低聚糖干预组均腹腔注射 450 mg/（kg BW）[18]D-半乳糖溶液，对照组注射等体积磷酸盐缓冲溶液。同时，2'-FL 干预组、3'-SL 干预组和 LNnT 干预组分别灌胃 500 mg/（kg BW）[19]2'-FL、3'-SL、LNnT 溶液，对照组和模型组灌胃等体积磷酸盐缓冲溶液。造模与给药持续 56 d 并记录给药前动物体重。

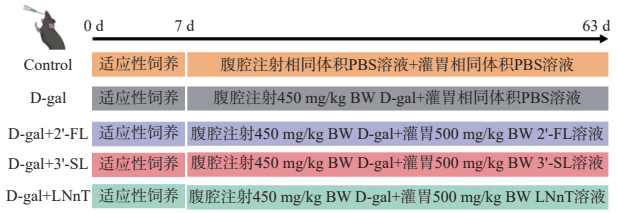


图 1　小鼠的造模与干预示意图

Fig.1　Schematic diagram of modeling and intervention in mice

1.2.2　肠道器官指数　采血前记录动物体重，采血后处死小鼠测定肠道重量。计算公式为：

$$\text{肠道器官指数}(\%)=\frac{\text{肠道重量}}{\text{小鼠体重}}\times 100$$

1.2.3　生化指标检测　干预结束后，麻醉小鼠眼眶采血，室温静置 3 h 后，3500 r/min 离心 10 min，吸取上清液即为小鼠血清。按照试剂说明书，分别检测血清中超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）活力和丙二醛（malondialdehyde，MDA）含量，同时计算总抗氧化水平，计算公式为[20]：

$$\text{总抗氧化水平}(\text{U/nmol})=\frac{\text{SOD活力}}{\text{MDA含量}}$$

1.2.4　肠道屏障渗透率检测　取 7 cm 左右的空肠肠段，灌注 0.001 mol/L 异硫氰酸荧光素标记葡聚糖（fluorescein isothiocyanate-dextran，FITC-D）溶液 200 μL 后，两端结扎，操作过程中避免 FITC-D 溶液外流，将肠段置于装有缓冲溶液的避光小管中，于 37 ℃ 水浴中孵育 20 min 后，取 200 μL 缓冲溶液用酶标仪测定其荧光强度，其中激发波长 480 nm，发射波长为 520 nm，根据标准曲线换算成 KHBB 缓冲溶液中 FITC-D 的含量 n（μmol/L），以 FITC-D 渗出量的荧光强度表示肠道屏障的通透性，并记录肠段长度 d（cm）和孵育开始到上机测定的准确时间 t（min）。计算公式为：

$$\text{FITC渗透率}(\mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{cm}\cdot\text{min}))=\frac{\text{n}}{\text{d}\times\text{t}}$$

1.2.5　结肠组织病理学检测　取 2~3 cm 结肠组织于 4% 多聚甲醛溶液中固定 24 h，石蜡包埋，切片，脱蜡，苏木素染色，伊红衬染，脱水封片，显微镜下观察结肠形态变化并测定隐窝深度[21]。

1.2.6　增殖检测　结肠组织取样到脱蜡的步骤同 1.2.5，脱蜡后用柠檬酸钠缓冲液（pH6.0）进行抗原修复，滴加 3% 过氧化氢溶液去除过氧化氢酶，透膜，用免疫染色封闭液进行封闭，增殖细胞核抗原（proliferating cell nuclear antigen，PCNA）抗体过夜 4 ℃ 孵育，DAPI 衬染，抗荧光淬灭封片液封片，显微镜下观察并统计 PCNA 阳性信号个数[21]。

1.2.7　结肠组织分化检测　结肠组织取样到脱蜡的步骤同 1.2.5，脱蜡后高碘酸溶液染色，水洗，再用 Schiff 溶液染色，水洗后苏木素衬染，脱水封片，显微镜下观察并统计阳性信号个数[21]。

1.3　数据处理

采用 Graphpad Prism 9.0.0 软件进行数据统计，每个实验至少重复三次，所有数据均以平均值±标准误差（SEM）表示，两组间比较采用独立样本 t 检验，多组间比较采用单因素方差分析，$P<0.05$ 表示具有统计学差异。

2　结果与分析

2.1　HMOs 对 D-半乳糖致衰老小鼠生理指标的影响

为评估 HMOs 干预对小鼠生理的影响，在干预周期中记录小鼠体重变化，并在取样后计算肠道器官指数。由图 2A 可见，随时间增加，各组小鼠的体重缓慢增加。在干预结束时，2'-FL 组的小鼠体重呈现高于模型组的趋势，3'-SL 组和 LNnT 组的小鼠体重与模型组没有明显差异。由图 2B 可见，干预结束后，总体来说各组小鼠的体重增加量无明显差异。其中，2'-FL 组小鼠的体重增加量有高于模型组的趋势，3'-SL 组小鼠体重增加量与模型组无差异，LNnT 组小鼠体重增加量较少。由图 2C 可见，与对照组相比，模型组的小鼠肠道器官指数显著下降（$P<0.05$）；与模型组相比，母乳低聚糖干预组的小鼠肠道器官指数均显著增加（$P<0.05$），表明 D-半乳糖造模导致小鼠肠道器官指数下降，经 HMOs 干预后，小鼠肠道器官指数有明显改善。

2.2　HMOs 对 D-半乳糖致衰老小鼠生化指标的影响

过量的 D-半乳糖进入小鼠体内，造成小鼠氧化应激而导致其衰老。因此，检测血清中的氧化应激指标，可以反映母乳低聚糖对 D-半乳糖致衰老小鼠的改善作用。由图 3A 可见，与对照组相比，模型组小鼠的血清中 SOD 活力显著下降（$P<0.0001$）；与模型组相比，2'-FL 干预组和 LNnT 干预组的小鼠血清中 SOD 活力显著上升（$P<0.001$），3'-SL 干预组有增加

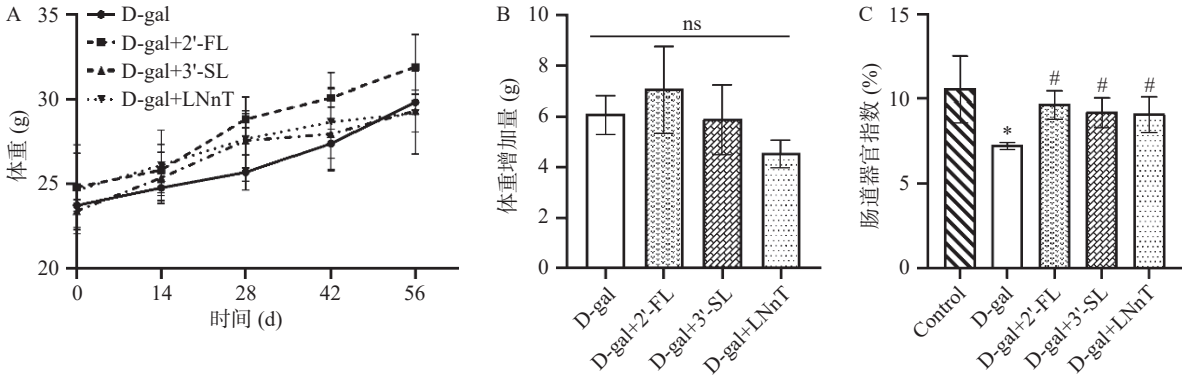


图 2　母乳低聚糖对 D-半乳糖致衰老小鼠体重和肠道器官指数的影响

Fig.2　Effect of HMOs on body weight and intestinal organ index in D-gal-induced aging mice

注: n=3~5; 与对照组比较, *P<0.05, 与模型组比较, #P<0.05, 图 3~图 7 同。

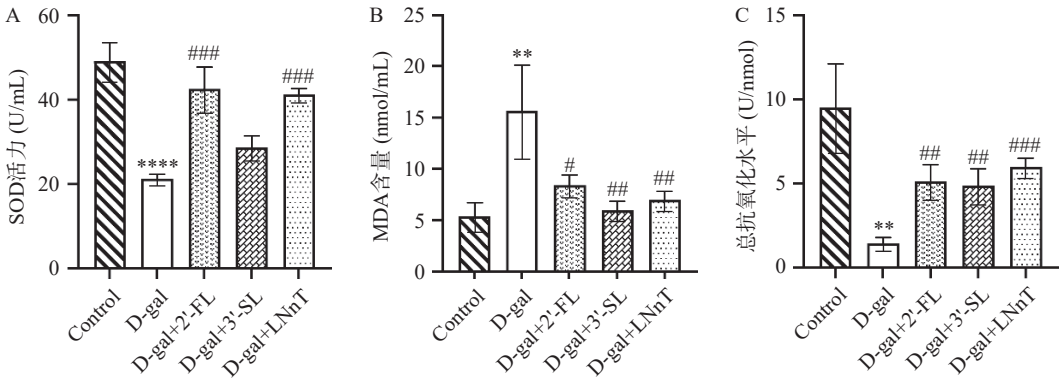


图 3　母乳低聚糖对 D-半乳糖致衰老小鼠氧化应激水平的影响

Fig.3　Effect of HMOs on oxidative stress levels in D-gal-induced aging mice

注: n=3~5; 与对照组比较, **P<0.01, ****P<0.0001, 与模型组比较, ##P<0.01, ###P<0.001, 图 4~图 7 同。

的趋势但不显著。由图 3B 可见, 与对照组相比, 模型组的小鼠血清中 MDA 含量显著上升(P<0.01); 与模型组相比, 母乳低聚糖干预组的小鼠血清中 MDA 含量显著下降(P<0.05 或 P<0.01)。由图 3C 可见, 与对照组相比, 模型组的小鼠的总抗氧化水平显著下降(P<0.01); 与模型组相比, 母乳低聚糖干预组的小鼠的总抗氧化水平显著上升(P<0.01 或 P<0.001)。结果表明母乳低聚糖干预可以改善 D-半乳糖干预导致小鼠氧化应激水平的上升。

2.3　HMOs 对 D-半乳糖致衰老小鼠肠道屏障渗透率的影响

肠道屏障渗透率增加是衰老肠道屏障受损的重要表现之一。因此, 检测小鼠的肠道屏障渗透率, 可以反映 HMOs 对 D-半乳糖致衰老小鼠肠道屏障的改善作用。由图 4 可见, 与对照组相比, 模型组小鼠的肠道屏障渗透率显著增加(P<0.0001); 与模型组相比, HMOs 干预组的小鼠肠道屏障渗透率显著下降(P<0.05 或 P<0.01), 其中, 2'-FL 干预的小鼠改善效果最佳。结果表明 HMOs 干预可以改善 D-半乳糖干预导致小鼠肠道屏障渗透率的增加。

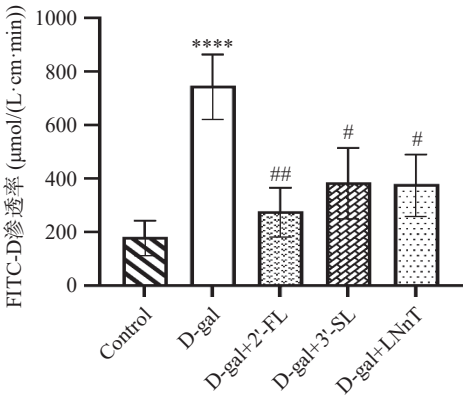


图 4　母乳低聚糖对 D-半乳糖致衰老小鼠肠道屏障渗透率的影响

Fig.4　Effect of HMOs on intestinal barrier permeability in D-gal-induced aging mice

2.4　HMOs 对 D-半乳糖致衰老小鼠肠道形态的影响

为进一步探究 HMOs 对 D-半乳糖致衰老小鼠肠道屏障的改善作用, 利用 HE 染色检测小鼠的结肠上皮形态。由图 5 可见, 对照组的小鼠结肠组织完整, 隐窝深度和数量正常, 模型组小鼠的结肠隐窝萎缩。与对照组相比, 模型组的小鼠肠道隐窝深度显著缩短(P<0.001), 个数显著减少(P<0.01); 与模型组相比, HMOs 干预组的小鼠肠道隐窝深度和个数显著增加(P<0.05 或 P<0.01)。结果表明 HMOs 干预可以改善 D-半乳糖干预导致小鼠肠道隐窝深度和数量的减少。

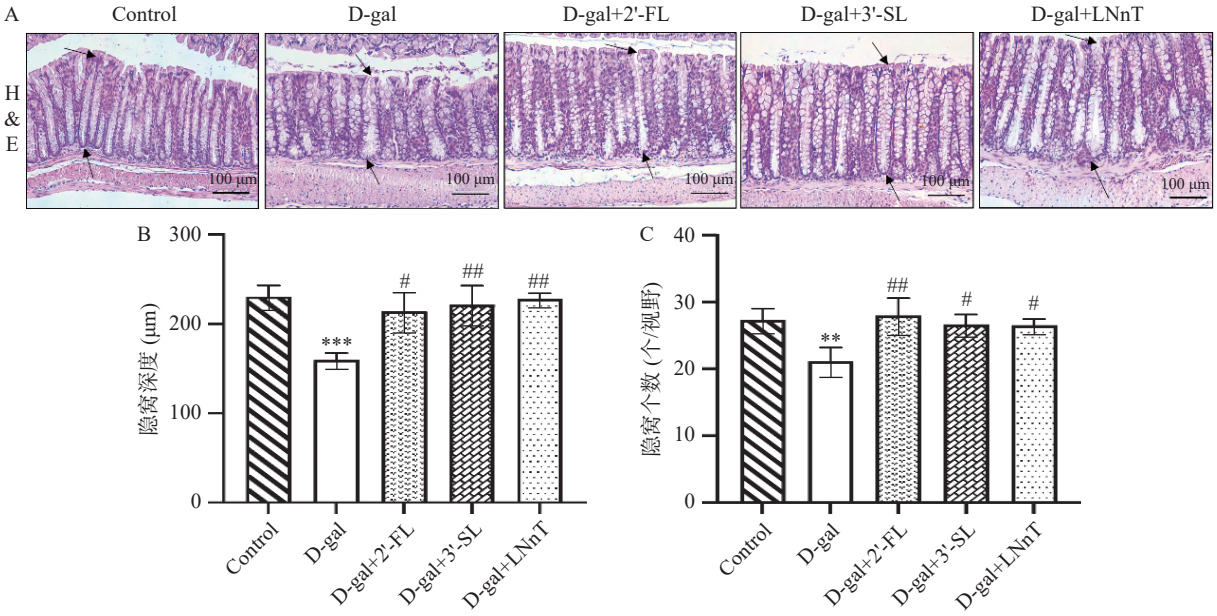


图 5　母乳低聚糖对 D-半乳糖致衰老小鼠肠道形态的影响

Fig.5　Effect of HMOs on intestinal morphology in D-gal-induced aging mice

注: 与对照组比较, ***P<0.001。

2.5　HMOs 对 D-半乳糖致衰老小鼠肠道增殖的影响

PCNA(增殖细胞核抗原)是一种在细胞增殖过程中起关键作用的蛋白质, 它主要表达于增殖细胞的细胞核中, 参与 DNA 复制过程。衰老导致肠道细胞的增殖能力减弱, 进而导致 PCNA+细胞数量的减少[21]。因此, 检测小鼠的肠道 PCNA+细胞数量, 可以反映 HMOs 对 D-半乳糖致衰老小鼠肠道增殖的改善作用。由图 6 可见, 与对照组相比, 模型组的小鼠肠道单个隐窝中的 PCNA+细胞数量显著减少(P<0.01); 与模型组相比, 母乳低聚糖干预组的小鼠肠道单个隐窝中的 PCNA+细胞数量显著增加(P<0.05)。结果表明 HMOs 干预可以改善 D-半乳糖干预导致小鼠肠道增殖能力的下降。

2.6　HMOs 对 D-半乳糖致衰老小鼠肠道分化的影响

肠道干细胞分化的杯状细胞负责合成并分泌黏蛋白, 形成黏膜屏障。衰老影响肠道干细胞分化, 导致杯状细胞数量减少[22]。为探究母乳低聚糖对 D-半乳糖致衰老小鼠肠道分化的改善作用, 利用 PAS 染色, 可以反映小鼠的肠道分泌黏蛋白的分化细胞(如杯状细胞)数量。由图 7 可见, 与对照组相比, 模型组的小鼠肠道单个隐窝中的分泌黏蛋白的分化细胞数量显著减少(P<0.0001); 与模型组相比, 母乳低聚糖干预组的小鼠肠道单个隐窝中的分泌黏蛋白的分化细胞数量显著增加(P<0.05 或 P<0.01)。结果表明

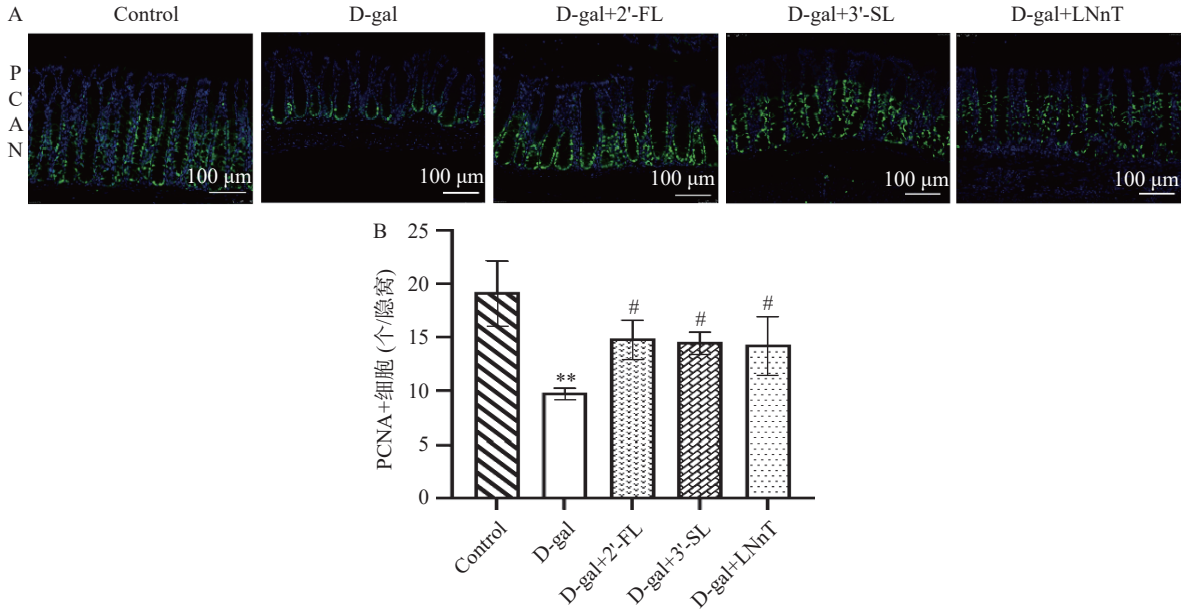


图 6　母乳低聚糖对 D-半乳糖致衰老小鼠肠道增殖的影响

Fig.6　Effect of HMOs on intestinal proliferation in D-gal-induced aging mice

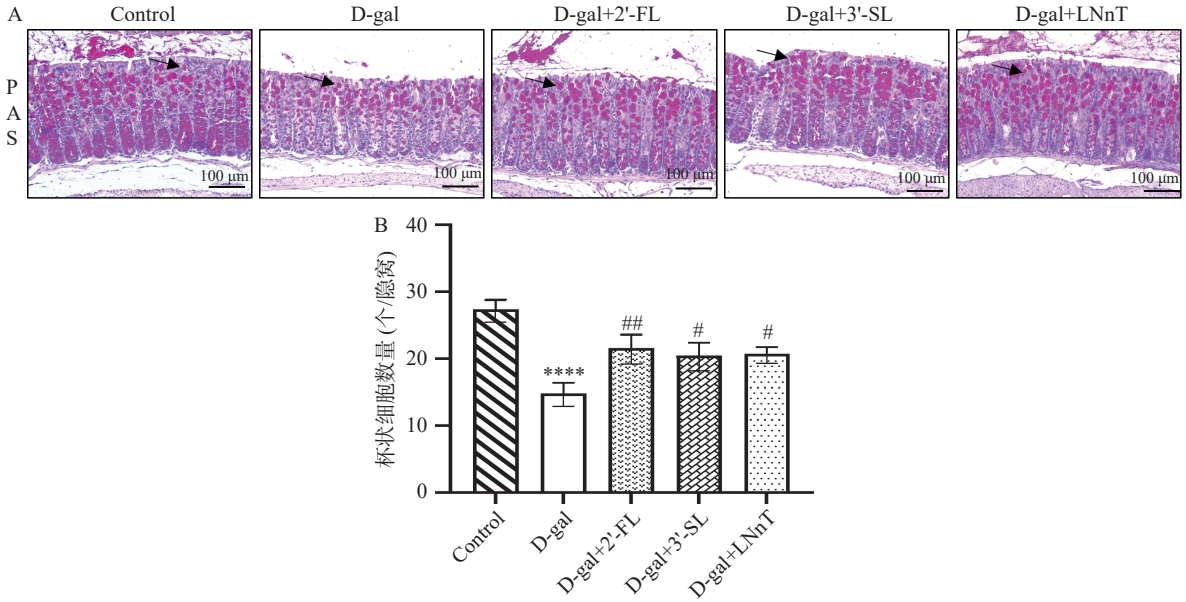


图 7　母乳低聚糖对 D-半乳糖致衰老小鼠肠道分化的影响

Fig.7　Effect of HMOs on intestinal differentiation in D-gal-induced aging mice

HMOs 干预可以改善 D-半乳糖干预导致小鼠肠道分化能力的下降。

3　讨论与结论

衰老会导致肠道屏障受损、肠道菌群紊乱，进一步引发慢性疾病。为探究 HMOs 对衰老肠道屏障的改善作用，本文利用 D-半乳糖致衰老小鼠模型，评估 HMOs 干预后小鼠肠道的生理指标、氧化应激水平、肠道渗透率以及增殖、分化能力。

研究表明，长期注射高剂量的 D-半乳糖，造成过量的半乳糖累积，形成醛糖和氢过氧化物，进一步形成活性氧，产生氧化应激，并引起多个器官出现类似自然衰老的早衰现象。在 8 周造模实验中，模型组因长期 D-半乳糖给药，肠道生长受到抑制，肠道器官指数下降。HMOs 干预后有所缓解。同时，模型组小鼠血清氧化应激水平增加，抗氧化酶 SOD 活力低，过氧化物 MDA 含量高，表明 D-半乳糖长期干预后，小鼠抗氧化能力失衡，诱发全身性氧化应激。HMOs 干预后，这一趋势有效逆转，其中，2'-FL、LNnT 干预表现出更好的抗氧化活性。Yan 等[23] 的研究也表明经 2'-FL 干预的小鼠通过增加吲哚-3-乳酸的含量来促进 SOD 的含量，进而改善肠道的氧化应激。可见，HMOs 干预改善小鼠整体的氧化应激反应，而这种改善对肠道屏障的完整性有积极作用。

肠道屏障的完整性是维持肠道健康的重要条件之一。利用 FITC-D 法检测肠道渗透率，结果证明 D-半乳糖长期给药后，模型组小鼠肠道渗透率显著高于对照组，经 HMOs 干预后，小鼠肠道渗透率明显降低，表明 HMOs 可以缓解 D-半乳糖致衰老小鼠的肠道屏障通透性增加，具有改善衰老小鼠肠道屏障受损的能力，其中，2'-FL 相较 3'-SL、LNnT 的改善效果更佳。本实验结果与其他文献的结果一致，如 Chleilat 等[24] 的研究表明 2'-FL、3'-SL 干预可以降低大鼠的肠道通透性。Wu 等[25] 的研究证实母乳中提取的 HMOs 能够增强肠道屏障。Boll 等[26] 的实验结果证明在体外 2'-FL、3FL、LNT 和 LNT2 可以支持屏障的完整性。这表明，HMOs 可以改善小鼠肠道屏障受损的情况，包括衰老过程中的受损情况。

位于隐窝底部的肠道干细胞是肠道更新和修复的动力，是维持肠道屏障完整性的重要保障。H&E 染色结果表明，模型组小鼠的结肠隐窝萎缩，隐窝数量显著少于对照组。经 HMOs 干预后，这一现象得到改善。Li 等[15] 研究也表明 2'-FL 干预明显改善了老龄鼠的结肠隐窝结构损伤。这说明，HMOs 可以改善 D-半乳糖致衰老小鼠的隐窝形态改变。肠道隐窝形态发生变化的根本原因在于干细胞的增殖和分化过程受到影响。对于肠道上皮增殖的影响，PCNA 免疫荧光染色的结果显示，模型组的增殖细胞数量显著下降，说明 D-半乳糖给药会导致小鼠肠道增殖能力异常降低。而 HMOs 干预后会显著增加肠道增殖细胞数量，说明 HMOs 可以改善 D-半乳糖致衰老小鼠的增殖细胞数量下降。这与 Holscher 等[27] 研究结果不一致，他们利用融合前的 HT-29 细胞和 Caco-2Bbe 细胞以及融合后的 Caco-2Bbe 细胞组成的小肠隐窝-绒毛轴的体外模型，发现 HMOs 处理抑制增殖，并在一定程度上促进上皮分化。结果不一致的原因可能是他们利用细胞系在体外验证，并没有模拟肠道内真实情况，缺少了肠道菌群的参与，或是可能 HMOs 浓度不同造成不同的实验结果。对于肠道上皮分化的影响，PAS 染色的结果显示，模型组的杯状细胞数量显著低于对照组，这表明长期过量的 D-半乳糖给药导致小鼠分化细胞数量异常。杯状细胞分泌大量的 mucin 2（MUC2）黏蛋白，形成黏液屏障，从而保护肠道免受内外源性刺激剂和致病菌的侵袭[22]。这表明，杯状细胞数量减少也说明长期过量的

D-半乳糖给药导致小鼠肠道黏液屏障受损。HMOs 干预显著增加杯状细胞数量，其中，2'-FL 改善效果更佳。这表明 HMOs 干预改善 D-半乳糖致衰老小鼠的杯状细胞数量下降。Cheng 等[28] 的研究也表明 HMOs 的添加可以增强 Caco-2 细胞中 MUC2 的表达，从而调节肠道杯状细胞，增强黏液屏障功能。Yao 等[29] 发现在炎症情况下，2'-FL 可以增加 MUC2 的 mRNA 表达量。因而，HMOs 可以改善小鼠肠道分化能力，增加产黏蛋白的肠道细胞（如杯状细胞）数量。

在 D-半乳糖致衰老小鼠模型中，三种不同结构的 HMOs，即 2'-FL、3'-SL 和 LNnT，均展现出对肠道屏障损伤的修复作用，其中，2'-FL 对于衰老肠道屏障的改善效果更佳，可能是由于 2'-FL 独有的岩藻糖基结构。由于 HMOs 主要通过肠道菌群发挥作用，因此，推测岩藻糖基结构 HMOs 可能特别促进某种益生菌的增殖，进而发挥改善衰老肠道屏障的功能。Weiss 等[30] 发现添加岩藻糖基乳糖（2'-FL、3'-FL）增加小鼠肠道中巴氏球菌的含量，降低对结肠炎的易感性。Lü等[31] 的研究发现岩藻糖基乳糖（2'-FL）通过抑制肠道炎症和调节肠道微生物群来预防肠道疾病。Schalich 等[32] 发现岩藻糖基乳糖（2'-FL）通过肠道微生物群落和细菌代谢产物保护成年期肠道完整性并预防肠道炎症。Paone 等[33] 研究也发现补充岩藻糖基乳糖（2'-FL）改变小鼠肠道黏液的产生、组成和降解，防止高脂饮食诱发肥胖症。同时，孙伟乐等[34] 研究发现岩藻糖基乳糖（2'-FL）可以缓解 LPS 诱导的细胞炎症应答和屏障损伤。可见，综合以上文献结果说明岩藻糖基结构可能是 2'-FL 具有良好的改善衰老肠道屏障的原因。

综上，本研究利用 D-半乳糖致衰老小鼠模型探究了不同结构的 HMOs 在改善衰老肠道屏障中的作用。研究发现 HMOs 可以提高 D-半乳糖致衰老小鼠的肠道器官指数，改善结肠隐窝形态，加强肠道细胞的增殖和分化能力，增强肠道黏液屏障，降低肠道渗透率，从而改善衰老的肠道屏障，其中，含岩藻糖基结构的 HMOs 改善肠道衰老效果更佳。然而，实验只包含单一剂量，缺少不同剂量 HMOs 组的评价，同时，本研究并未对 HMOs 改善衰老肠道屏障的机制进行更深入的探究。因此，后续还需要更多的研究深入挖掘 HMOs 改善衰老肠道屏障的途径和机制。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] KIM J, KIM K M, NOH J H, et al. Long noncoding RNAs in diseases of aging[J]. Biochimica et Biophysica Acta-Gene Regulatory Mechanisms, 2016, 1859(1): 209−221.

[2] DELANO F A, SCHMID-SCHÖNBEIN G W. Aging by autodigestion[J]. PLoS One, 2024, 19(10): e0312149.

[3] DU K, DIEHL A M. Ferroptotic stress drives liver aging and metabolic dysfunction[J]. Nature Aging, 2024, 4(7): 911−912.

[4] JIANG L X, TIAN J, YANG J, et al. p21 Regulates Wnt-Notch balance via DREAM/MMB/Rb-E2F1 and maintains intestinal stem cell homeostasis[J]. Cell Death Discovery, 2024, 10(1): 413.

[5] TICINESI A, SINISCALCHI C, MESCHI T, et al. Gut microbiome and bone health: Update on mechanisms, clinical correlations, and possible treatment strategies[J]. Osteoporosis International, 2025, 36(2): 167−191.

[6] REN B, WANG L F, MULATI A, et al. Methionine restriction improves gut barrier function by reshaping diurnal rhythms of inflammation-related microbes in aged mice[J]. Frontiers in Nutrition, 2021, 8(1): 746592.

[7] 杨萍, 李蓉, 李明鉴, 等. 发酵枸杞多糖对 D-半乳糖致衰老模型小鼠肠道的保护作用[J]. 食品科学, 2024, 45(19): 77−86. [YANG P, LI R, LI M J, et al. Protective effects of fermented *Lycium barbarum* polysaccharides on the intestine in D-galactose-induced aging mouse model[J]. Food Science, 2024, 45(19): 77−86.]

[8] GUO X L, LUO J J, QI J Y, et al. The role and mechanism of polysaccharides in anti-aging[J]. Nutrients, 2022, 14(24): 5330.

[9] PAN W J, SHI L L, REN Y R, et al. Polysaccharide ORP-1 isolated from *Oudemansiella raphanipes* ameliorates age-associated intestinal epithelial barrier dysfunction in Caco-2 cells monolayer[J]. Food Research International, 2022, 162(6): 112038.

[10] LI W S, WANG J X, LIN Y Y, et al. How far is it from infant formula to human milk? A look at the human milk oligosaccharides[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 118(1): 374−387.

[11] HUANG Z Y, LI Y R, LUO Y J, GUO H Y. Human milk oligosaccharides 3'-sialyllactose and 6'-sialyllactose protect intestine against necrotizing enterocolitis damage induced by hypoxia[J]. Journal of Functional Foods, 2021, 86(6): 104708.

[12] RYAN J J, MONTEAGUDO-MERA A, CONTRACTOR N, et al. Impact of 2'-fucosyllactose on gut microbiota composition in adults with chronic gastrointestinal conditions: Batch culture fermentation model and pilot clinical trial findings[J]. Nutrients, 2021, 13(3): 938.

[13] MASI A C, EMBLETON N D, LAMB C A, et al. Human milk oligosaccharide DSLNT and gut microbiome in preterm infants predicts necrotising enterocolitis[J]. Gut, 2021, 70(12): 2273−2282.

[14] LI J T, WEI Y P, LIU C, et al. 2'-Fucosyllactose restores the intestinal mucosal barrier in ulcerative colitis by inhibiting STAT3 palmitoylation and phosphorylation[J]. Clinical Nutrition, 2024, 43(2): 380−394.

[15] LI A, KOU R X, WANG R S, et al. 2'-Fucosyllactose attenuates aging-related metabolic disorders through modulating gut microbiome-T cell axis[J]. Aging Cell, 2024, 23(9): e14343.

[16] LI A, KOU R, WANG J, et al. 2'-Fucosyllactose ameliorates aging-related osteoporosis by restoring gut microbial and innate immune homeostasis[J]. Journal of Advanced Research, 2024, 60: 1−16.

[17] WANG J, HU J Q, SONG Y J, et al. 2'-Fucosyllactose ameliorates oxidative stress damage in D-galactose-induced aging mice by regulating gut microbiota and AMPK/SIRT1/FOXO1 pathway[J]. Foods, 2022, 11(2): 151.

［18］ WANG J, CHEN M S, WANG R S, et al. Current advances in structure-function relationships and dose-dependent effects of human milk oligosaccharides[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(21): 6328−6353.
［19］ SAHU Y, JAMADADE P, CH MAHARANA K, et al. Role of mitochondrial homeostasis in D-galactose-induced cardiovascular ageing from bench to bedside[J]. Mitochondrion, 2024, 78: 101923.
［20］ WEI M X, WU Y M, CHEN D Z, et al. Changes of free radicals and digestive enzymes in saliva in cases with deficiency in spleen-yin syndrome[J]. Journal of Biomedical Research, 2010, 24(3): 250−255.
［21］ LIN Y Y, LU Y, WANG Y Q, et al. The regeneration of intestinal stem cells is driven by miR-29-induced metabolic reprogramming[J]. Engineering, 2024, 42(11): 39−58.
［22］ JASPER H. Intestinal stem cell aging: Origins and interventions[J]. Annual Review of Physiology, 2020, 82: 203−226.
［23］ YAN S K, YU L L, TIAN F W, et al. 2'-Fucosyllactose alleviate immune checkpoint blockade-associated colitis by reshaping gut microbiota and activating AHR pathway[J]. Food Science and Human Wellness, 2024, 13(5): 2543−2561.
［24］ CHLEILAT F, KLANCIC T, MA K, et al. Human milk oligosaccharide supplementation affects intestinal barrier function and microbial composition in the gastrointestinal tract of young sprague dawley rats[J]. Nutrients, 2020, 12(5): 1532.
［25］ WU R Y, BOTTS S R, JOHNSON-HENRY K C, et al. Variations in the composition of human milk oligosaccharides correlates with effects on both the intestinal epithelial barrier and host inflammation: A pilot study[J]. Nutrients, 2022, 14(5): 1014.
［26］ BOLL E J, LOPEZ D V, TERNE M, et al. Human milk oligosaccharides differentially support gut barrier integrity and enhance Th1 and Th17 cell effector responses *in vitro*[J]. Frontiers in Immunology, 2024, 15: 1359499.
［27］ HOLSCHER H D, BODE L, TAPPENDEN K A. Human milk oligosaccharides influence intestinal epithelial cell maturation *in vitro*[J]. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 2017, 64(2): 296−301.
［28］ CHENG L H, KONG C L, WALVOORT M T C, et al. Human milk oligosaccharides differently modulate goblet cells under homeostatic, proinflammatory conditions and ER stress[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2020, 64(5): 1900976.
［29］ YAO Q Q, LI H Y, GAO Y A, et al. The milk active ingredient, 2'-fucosyllactose, inhibits inflammation and promotes MUC2 secretion in LS174T goblet cells *in vitro*[J]. Foods, 2023, 12(1): 186.
［30］ WEISS G A, CHASSARD C, HENNET T. Selective proliferation of intestinal *Barnesiella* under fucosyllactose supplementation in mice[J]. The British Journal of Nutrition, 2014, 111(9): 1602−1610.
［31］ LÜ H Q, LI Q Q, ZHOU Z N, et al. The protective effect of 2'-fucosyllactose on LPS-induced colitis suckling mice by ameliorating intestinal inflammation and modulating gut microbiota[J]. Food Bioscience, 2023, 51(1): 102317.
［32］ SCHALICH K M, BUENDIA M A, KAUR H, et al. A human milk oligosaccharide prevents intestinal inflammation in adulthood via modulating gut microbial metabolism[J]. Microbiology and Infectious Diseases, 2024, 15(4): e00298−24.
［33］ PAONE P, LATOUSAKIS D, TERRASI R, et al. Human milk oligosaccharide 2'-fucosyllactose protects against high-fat diet-induced obesity by changing intestinal mucus production, composition and degradation linked to changes in gut microbiota and faecal proteome profiles in mice[J]. Gut, 2024, 73(10): 1632−1649.
［34］ 孙伟乐, 李轩, 慕春龙, 等. 2′-岩藻糖基乳糖缓解 LPS 诱导的细胞炎症应答和屏障损伤的功能研究[J]. 南京农业大学学报, 2024, 47(6): 1130−1138. ［SUN W L, LI X, MU C L, et al. Function of 2'-fucosyllactose in alleviating LPS-induced cellular inflammatory response and barrier damage[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2024, 47(6): 1130−1138.］