杨卓,伍琪,阮想,等. 羊乳寡糖与两歧双歧杆菌协同改善肠屏障功能及抗炎活性的研究 [J]. 食品工业科技,2026,47(6):397−406. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030107

YANG Zhuo, WU Qi, RUAN Xiang, et al. Research on the Synergistic Improvement of Intestinal Barrier Function and Anti-inflammatory Activity by Goat Milk Oligosaccharides and *Bifidobacterium bifidum*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(6): 397−406. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030107

·营养与保健·

羊乳寡糖与两歧双歧杆菌协同改善肠屏障功能及抗炎活性的研究

杨　卓,伍　琪,阮　想,李梦琪,杨　旭,李　邱,任　静*

（东北农业大学食品学院,乳品科学教育部重点实验室,黑龙江哈尔滨 150030）

摘　要: 本研究主要以从羊乳中分离的羊乳寡糖（Goat Milk Oligosaccharides，GMOs）与两歧双歧杆菌（*Bifidobacterium bifidum* ATCC15696，BB）为原材料，通过构建 Caco-2:HT-29MIX 细胞肠上皮屏障及炎症损伤模型，探究了单独的 GMOs 与 BB 以及二者协同作用对肠屏障完整性与通透性以及对炎症因子表达量的影响。结果表明，单独的 GMOs 以剂量依赖的方式显著提高跨膜电阻（Transepithelial Electrical Resistance，TEER），抑制炎症因子的分泌与促进紧密连接蛋白的表达，且作用效果优于单独的 BB。而 GMOs 与 BB 协同作用时其效果更为显著（P<0.01），当作用浓度为 10.0 mg/mL 时，TEER 值的变化率较 GMOs 组提升 1.62%~3.27%（P<0.01），IL-6、IL-8 与 TNF-α 表达量分别显著降低（2.11~14.93 ng/L）、（7.42~16.27 ng/L）与（7.03~12.29 ng/L）（P<0.05），而 Claudin-1、ZO-1 和 Occludin 三种紧密连接蛋白的表达量提升 1.0~2.0 倍（P<0.001）。总体而言，单独的 GMOs 与 BB 能够改善肠道屏障功能与抑制炎症因子的分泌，但 GMOs 与 BB 协同作用效果更显著，且当作用浓度为 10.0 mg/mL 时对屏障功能的恢复效果最佳，并显著抑制了炎症因子的表达。

关键词: 羊乳寡糖,唾液乳糖,两歧双歧杆菌,肠屏障功能,抗炎作用

中图分类号: TS252.1　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)06−0397−10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030107

本文网刊:

Research on the Synergistic Improvement of Intestinal Barrier Function and Anti-inflammatory Activity by Goat Milk Oligosaccharides and *Bifidobacterium bifidum*

YANG Zhuo，WU Qi，RUAN Xiang，LI Mengqi，YANG Xu，LI Qiu，REN Jing*

（Key Laboratory of Dairy Science, Ministry of Education, College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China）

Abstract: This study used goat milk oligosaccharides (GMOs) isolated from goat milk and *Bifidobacterium bifidum* ATCC15696 (BB) as raw materials. By constructing a Caco-2:HT-29MIX cell intestinal epithelial barrier and an inflammation injury model, the effects of GMOs alone, BB alone, and their synergistic interaction on intestinal barrier integrity, permeability, and the expression levels of inflammatory cytokines were investigated. The results showed that GMOs alone markedly increased transepithelial electrical resistance (TEER) in a dose-dependent manner, inhibited the secretion of inflammatory factors and promoted the expression of tight junction proteins, and the effect was superior to that of BB. However, GMOs and BB acted in synergy, the effect was more significant (P<0.01). When the action concentration was 10.0 mg/mL, the change rate of the TEER increased by 1.62%~3.27% compared with the GMOs group (P<0.01). The expression levels of IL-6, IL-8, and TNF-α decreased (2.11~14.93 ng/L), (7.42~16.27 ng/L) and (7.03~12.29 ng/L)

收稿日期: 2025−03−10

基金项目: 黑龙江省省属本科高校“优秀青年教师基础研究支持计划”（YQJH2023196）。

作者简介: 杨卓（2000−）,女,硕士研究生,研究方向:食品工程,E-mail:y00008307410@163.com。

*** 通信作者:** 任静（1979−）,女,博士,副教授,研究方向:畜产品加工工程,E-mail:jingren@neau.edu.cn。

(P<0.05), respectively. The expression levels of the three tight junction proteins, claudin-1, ZO-1 and occludin, increased by 1.0~2.0 times (P<0.001). Overall, individual GMOs and BB could improve the intestinal barrier function and inhibit the secretion of inflammatory factors. However, the synergistic effect of GMOs and BB was more significant, with the best recovery effect on barrier function and a significant inhibition of inflammatory factor expression at a concentration of 10.0 mg/mL.

Key words: goat milk oligosaccharides; sialyllactose; *Bifidobacterium bifidum*; intestinal barrier function; anti-inflammatory effect

近年来, 随着对疾病发病机制的深入研究, 肠道屏障功能在维持机体健康中的关键作用逐渐受到广泛关注[1]。作为维持肠道稳态的关键防御系统, 肠道屏障结构的完整性在抵御病原体入侵、调节免疫应答和维持肠道微环境平衡中发挥着决定性作用。研究表明, 受到外界因子刺激可引发屏障功能损伤, 会导致黏液层厚度出现异常和屏障通透性增加, 使致病性病原体能够突破防线与肠上皮细胞直接接触, 从而引发一系列的免疫反应[2−3]。例如, 肠道屏障受损后, 细菌和毒素可渗透至肠黏膜固有层, 激活固有层免疫细胞, 释放大量炎症因子(如 IL-1β、TNF-α 等)和蛋白酶, 可直接破坏肠屏障的紧密连接蛋白(如 claudin、occludin), 进一步加剧炎症反应。肠屏障受损是早产儿需要特别关注的问题, 因为它会增加坏死性小肠结肠炎的风险[4]。与配方乳粉喂养的婴儿相比, 母乳喂养的婴儿肠道渗透性下降更快, 这表明母乳含有有助于肠屏障功能成熟的组分[5]。

母乳寡糖(Human Milk Oligosaccharides, HMOs)是母乳中第三大生物活性成分, 对婴儿肠道健康发展起着至关重要的作用[6−7]。然而, 当前市场上婴儿配方乳粉中所添加的 HMOs 主要是人工合成的, 其由于合成工艺复杂、生产成本高昂以及种类单一等问题, 难以充分模拟母乳中 HMOs 的多样性和功能特性。因此, 开发更经济、天然且与 HMOs 功能更接近的寡糖来源, 已成为婴儿配方奶粉强化剂研究的重要方向。羊乳寡糖(Goat Milk Oligosaccharides, GMOs)在结构、功能和应用潜力上与 HMOs 高度相似。目前研究中, 已在羊乳中鉴定出超过 50 种 GMOs, 其核心寡糖组分包含 HMOs 的主要结构类型, 且在分子组成和结构特征上与 HMOs 高度相似, 可能是 HMOs 的理想替代来源[8]。体外研究表明, 单独的 GMOs 能够促进双歧杆菌(*Bifidobacterium*)在肠上皮的黏附, 而将 *Bifidobacterium* 与 GMOs 协同培养后, 发现 *Bifidobacterium* 对肠细胞的黏附能力提升了 8.3 倍, 对致病菌的定植起到了抑制作用[9]。此外在一项针对断奶小鼠的研究中进一步证实, GMOs 的摄入能够显著增加肠道内 *Bifidobacterium* 的数量, 有效促进肠道健康[10]。这些研究结果共同表明, GMOs 与 *Bifidobacterium* 之间具有显著的协同效应, 不仅能够抑制病原菌的定植, 还能调节肠道菌群分布, 为开发基于 GMOs 的婴儿配方奶粉提供了重要的科学依据。

目前, 关于益生元-益生菌协同作用的研究主要集中在肠道菌群调节效应方面, 而针对肠屏障功能调控的机制研究仍明显不足。然而, 由于伦理的限制和技术瓶颈, 直接评估人体肠道屏障结构和功能仍面临诸多挑战[11]。因此, 建立可靠的体外模型已成为研究肠道屏障功能的重要手段, 相较于传统的人直肠癌细胞 Caco-2 单层细胞模型, 人结肠癌细胞 HT-29 与 Caco-2 共同培养模型克服了 Caco-2 单层细胞模型通透性过高与缺乏黏液分泌的问题, 形成的单层上皮结构形态与功能特征和人体肠道上皮结构高度相似[12]。因此, 本研究主要以从山羊乳中分离的 GMOs 与两歧双歧杆菌标准菌株(*Bifidobacterium bifidum* ATCC-15696, 简称 BB)为原材料, 使用 LPS 刺激 Caco-2: HT-29MIX 细胞形成炎症损伤模型, 研究单独的 GMOs 与 BB 以及二者协同发酵产物对肠屏障的完整性与通透性以及相关炎症因子表达量的影响, 该研究重点揭示了 GMOs 与 BB 协同增效效应对肠道屏障保护作用机制, 也为其在肠道健康领域的应用提供了重要的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

山羊乳汁　黑龙江省哈尔滨市幸福人家牧场提供; *Bifidobacterium bifidum* ATCC-15696 上海微生物菌种保藏中心, 保存在−80 ℃ 超低温环境; 人直肠癌 Caco-2 细胞与人结肠癌 HT-29 细胞　东北农业大学乳品工程重点实验室提供; TPY 液体培养基　青岛海博生物科技有限公司; 高糖培养基(Dulbecco's Modified Eagle Medium, DMEM)　Gibco 公司; PBS　武汉赛维尔生物科技有限公司; 胎牛血清(Fetal Bovine Serum, FBS)、青链霉素混合液、0.5% 胰蛋白酶-EDTA 消化液　北京索莱宝科技有限公司; IL-6、IL-8、TNF-α、NO 试剂盒　南京建成生物工程研究所; CCK-8 试剂盒　上海碧云天生物技术有限公司; 12 孔 Transwell 悬挂式细胞培养皿　美国 Corning 公司。

HF90 型 CO_2 细胞培养箱　上海力申科学仪器有限公司; Concept 厌氧工作站　英国 Ruskinn 公司; SpectraMax i3x 多功能酶仪　美谷分子仪器(上海)有限公司; Opticlean-1300 洁净工作台　力康精密科技(上海)有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　GMOs 的分离　在 Bondue 等[13] 的方法基础上进一步改进，将山羊乳汁经过脱脂与脱蛋白处理后，采用 G-10 葡聚糖凝胶过滤层析法富集寡糖成分并结合高分辨质谱技术进行寡糖成分鉴定与分析，获得主要以唾液乳糖为原料的寡糖组分。

1.2.2　细胞复苏与培养　从液氮中取出细胞，置于 37 ℃ 水浴锅中快速融化，并转移至新的离心管内，加入等体积的 DMEM 培养基充分混匀。在 1000 r/min 条件下离心 5 min，弃掉上清液，将细胞重悬后接种至 T25 培养瓶中隔夜培养。待细胞贴壁长满单层后，使用 PBS 缓冲液清洗两次，加入 1.0 mL 0.5% 胰酶消化培养，并转至新的 T25 瓶中传代培养。

1.2.3　细胞毒性检测　为确定不同处理组的干预浓度，参考欧洲安全局规定的唾液乳糖的添加浓度[14−15]，用基础的 DMEM 培养基稀释四个不同处理组，即：GMOs、BB、GMOs 与 BB、GMOs 与 BB 协同培养的上清液（Cell-free Probiotic Supernatant with GMOs, CFSM），得到了不同浓度（0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mg/mL）的干预液。

在 96 孔板中，每孔接种 100 μL Caco-2:HT-29（接种体积比例为 7∶3）MIX 细胞悬液，培养 24 h 形成单层后，弃去孔中的上清液，用 PBS 溶液清洗 2 次。每孔加入 100 μL 的干预液，将细胞板放于 CO_2 细胞培养箱中孵育 24 h 后重复操作，再向孔中加入 10 μL CCK-8 试剂和 100 μL 无血清培养基，培养 30 min。用酶标仪测定各孔在 450 nm 处的吸光度（Optical Density, OD）。公式为：

$$细胞存活率(\%) = \left(\frac{OD_s - OD_b}{OD_c - OD_b}\right) \times 100$$

式中：OD_s：实验孔吸光度；OD_b：空白组吸光度；OD_c：阴性对照组吸光度。

1.2.4　细胞共培养与 Transwell 模型的建立　将培养好的 Caco-2 和 HT-29 细胞重悬于培养基内，预以 5×10^4 个/孔的密度接种至细胞小室的上室中，并加入 10% FBS 的 DMEM 培养基 0.5 mL，同时在下室内加入 1.5 mL 培养基。细胞培养期间，每次更换细胞培养液时用细胞电阻仪测定电阻值并记录，由下面公式计算单层细胞的跨膜电阻值（Transepithelial Electrical Resistance, TEER）。

$$TEER = (A - A_0) \times S$$

式中：A：测定电阻值；A_0：空白值；S：小室膜面积。

1.2.5　细胞受损模型的建立与评估　用 DMEM 基础培养基稀释一系列浓度（各浓度为 0.0、0.0005、0.001、0.0015、0.002、0.0025、0.005 和 0.050 mg/mL）的脂多糖（Lipopolysaccharide, LPS），将不同浓度的 LPS 溶液作用于根据 1.2.4 方法建立的细胞模型的 AP 侧，置于 CO_2 培养箱内培养 56 h，每个实验组设置 3 个平行。随后利用 1.2.3 的公式，计算细胞的存活率。

1.2.6　GMOs 与 BB 对 Caco-2:HT-29MIX 细胞的干预　当混合细胞模型构建完成后，用基础的 DMEM 培养基稀释一定浓度的 LPS 与单独的 GMOs、BB、GMOs-BB、CFSM 干预液。同时，使用 PBS 清洗 2 次共培养细胞，并在无 FBS 的 DMEM 基础培养基中进行 24 h 的血清饥饿处理。使混合细胞的 AP 侧暴露在 0.0025 mg/mL 的 LPS 同时，用不同浓度的干预液处理 56 h，并设置不含炎症因子的 Caco-2:HT-29MIX 细胞为空白对照组（Control, CON），只含有 LPS 的细胞实验组为阴性对照组。为避免细胞自身 TEER 值在 Transwell 小室的不同孔中存在的差异及其随时间的自然变化对实验结果的影响，通过测量每孔自身的 TEER 值对比计算 TEER 电阻值的变化率。公式为：

$$M(\%) = \frac{TEER_{处理}}{TEER_{空白}} \times 100$$

式中：M 为 TEER 值变化率；$TEER_{处理}$为 LPS 刺激 56 h 后的 TEER 值；$TEER_{空白}$为 LPS 刺激 0 h 的 TEER 值。

1.2.7　碱性磷酸酶的活性　按照 1.2.4 的方法建立好细胞模型后，分别从顶端侧（Apical Side, AP）和基底侧（Basolateral Side, BL）收集培养基，在 1000 r/min/的条件下离心 5 min 后取上清液，使用碱性磷酸酶（Alkaline Phosphatase, AKP）试剂盒测定其酶活性。公式为：

$$培养基中\ AKP\ 活性 = \frac{OD_{实测} - OD_{空白}}{OD_{标准} - OD_{空白}} \times 标准品浓度 \times 100\ mL \times 稀释倍数$$

式中：$OD_{实测}$为样品孔吸光度；$OD_{标准}$为标准孔吸光度；$OD_{空白}$为空白组吸光度；标准品为酚标准溶液（浓度为 0.1 mg/mL）。

1.2.8　GMOs 与 BB 对细胞膜通透性的影响　模型经 LPS 与单独的 GMOs、BB、GMOs-BB、CFSM 干预处理后，分别用预热的 Hank's 平衡盐缓冲液（Hank's Balanced Salt Solution, HBSS）清洗 AP 侧和 BL 侧。随后，在 AP 侧加入 0.5 mL 浓度为 20 μg/mL的荧光黄素溶液，BL 侧加入 1.0 mL HBSS 缓冲液，并将细胞置于 37 ℃、5% CO_2 的培养箱中孵育。在 0.5 h 和 1 h 时，分别从 BL 侧吸取 100 μL 样品，并补充相同体积的空白 HBSS。培养完成后，在激发波长 427 nm 和发射波长 526 nm 下测定荧光强度，并计算荧光强度和荧光黄素的表观渗透系数（Apparent Permeability Coefficient, Papp）。

$$Papp = \frac{dQ/dt}{AC_0}$$

式中，dQ/dt 为单位时间荧光黄素转运量（$\mu g/mL \cdot s^{-1}$）；A 为有效膜面积（1.12 cm^2）；C_0 为荧光

黄素的初始浓度(20 μg/mL)。

1.2.9 Caco-2:HT-29MIX 细胞中紧密连接蛋白 mRNA 的表达 收集 Transwell 小室中的细胞培养液,按照 EZ-10 总 RNA 提取试剂盒说明书进行总 RNA 提取。使用超微紫外分光光度计测定 RNA 浓度,随后通过逆转录试剂盒将 RNA 反转录为 cDNA。采用罗氏 Light Cycler 480 Ⅱ PCR 仪进行荧光定量分析,建立 20 μL 反应体系。qPCR 引物序列详见表 1,以 GAPDH 作为内参基因,每个样本设置 3 个平行对照。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')
GAPDH	GGGGTCGTTGATGG CAACA	AGGTCGGTGTGAA CGGATTTG
ZO-1	ATCCCTCAAGGAGC CATTC	CACTTGTTTTGCC AGGTTTTA
Occudin	CCAATGTCGAGGA GTGGG	CGCTGCTGTAACGAGGCT
Claudin-1	TGGGGCTGATCGC AATCTTT	CACTAATGTCGCC AGACCTGA

1.2.10 IL-6、IL-8 与 TNF-α 分泌量测定 将 AP 与 BL 侧的培养液在 2500 r/min 条件下离心 20 min,收集上清液用于检测。使用 ELISA 试剂盒分别对炎症损伤模型的 AP 和 BL 侧培养液中的 IL-6、IL-8 与 TNF-α 分泌量进行检测,根据试剂盒提供的说明书建立标准曲线,并以 ng/L 为单位对三种因子进行定量。

1.2.11 NO 分泌量的测定 将 NO 检测试剂盒置于室温平衡 30 min,将细胞悬液以 2500 r/min 离心 20 min,留细胞沉淀,并用 PBS 缓冲液冲洗 2 次,超声破碎细胞后在 2500 r/min 条件下离心 10 min 取上清液,根据试剂盒提供的说明书利用比色法测定 NO 浓度,从而评估细胞中 NO 的分泌量。

1.3 数据处理

每组实验均重复 3 次,数据用平均值±标准偏差表示,Origin 2024 软件绘图,数据之间的差异采用 IBM SPSS Statistics 27 软件进行单因素方差分析,P<0.05,差异显著。

2 结果与分析

2.1 GMOs 的分离

根据 1.2.1 的方法对 GMOs 进行分离纯化与鉴定,获得以唾液乳糖为主要成分的寡糖混合物,各寡糖的相对分子质量、相对丰度与纯度如表 2 所示。

2.2 GMOs 协同 BB 对 Caco-2:HT-29MIX 的细胞毒性的影响

为了确定 GMOs 与 BB 协同作用的最佳干预浓度,本研究依据国家食品安全标准中 *Bifidobacterium* 的推荐添加浓度[16](7 lg CFU/mL),设置了单独的 GMOs 与 BB 以及二者协同培养的处理组。随后,通过 CCK-8 试验评估不同浓度的 GMOs、BB、GMOs-BB 与 CFSM 对已分化细胞的毒性作用,实验结果如图 1 所示。与空白对照组相比,在各浓度(0.5~10.0 mg/mL)下 GMOs 提升了 Caco-2:HT-29MIX 细胞的存活率,表明 GMOs 对肠道细胞具有一定的积极作用,并未表现出细胞毒性;经 BB 处理的细胞在 0.5~4.0 mg/mL 浓度范围内对细胞存活起到了促进作用,然而当处理浓度进一步升高时则表现细胞存活率下降出现凋亡,这可能是由于 *Bifidobacterium* 在有限空间内占据了细胞生长所需的空间,从而限制了细胞的正常生长[17−18];而经过 GMOs-BB 与 CFSM 组处理的细胞在 0.5~6.0 mg/mL 浓度范围内促进了细胞生长,但随着浓度继续增加,细胞存活率略有下降,这可能是因为 BB 代谢 GMOs 产生的短链脂肪酸(Short Chain Fatty Acid, SCFAs)在低浓度时促进细胞增殖,而在高浓度时抑制细胞生长或诱导细胞凋亡[19−20]。在 0.5~10.0 mg/mL 浓度范围内,上述处理方法在特定条件下对细胞生长表现出轻微的毒性作用,但作用效果并不显著,细胞的存活率仍>95%,适合用于后续实验研究。

表 2 GMOs 组成与相对丰度

Table 2 Composition and relative abundance of GMOs

寡糖	相对分子质量	相对丰度(×10⁴)	纯度(%)
Hex3-1	504.1690	5703.7348	4.50
Hex2HexNAc1-2	545.1956	2405.092	1.90
Hex2HexNAc1-3	545.1956	142.9032	0.11
Hex2Fuc1-1	489.18814	599.1443	0.47
Hex2Fuc1-2	489.18814	86.8597	0.07
Hex2Neu5Ac1-1	633.2116	11093.867	8.76
Hex2Neu5Ac1-2	633.2116	102759.4809	81.13
Hex1HexNAc1Neu5Ac1-1	674.2382	2739.299	2.16
Hex1HexNAc1Neu5Gc1-1	691.2404	643.8522	0.51
Hex2HexNAc1Neu5Ac1-1	836.2905	493.6252	0.39

注:Hex为己糖、HexNAc为己糖胺、Fuc为岩藻糖、Neu5Ac为N-乙酰神经氨酸、Neu5Gc为N-羟乙酰神经氨酸。

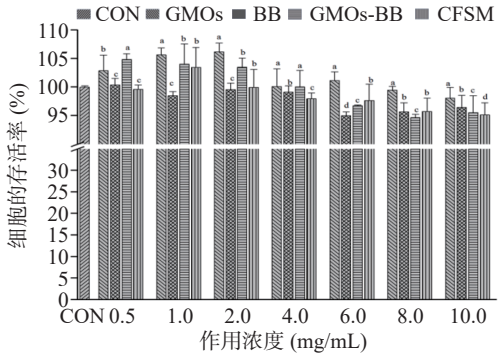


图 1 不同浓度的 GMOs、BB、GMOs-BB、CFSM 对细胞存活率的影响

Fig.1 Effects of different concentrations of GMOs, BB, GMOs-BB, and CFSM on cell survival rate

注:不同小写字母表示处理组内的显著性差异(P<0.05);图 2 同。

2.3 肠上皮细胞受损模型的建立

LPS 是革兰氏阴性菌细胞壁中的一种特有成

分，因其能够模拟细菌感染诱导的炎症反应，且具有高度的重现性和测量的方便性，被广泛应用于建立肠道屏障损伤模型[19]。为了确定 LPS 诱导的 Caco-2:HT-29MIX 细胞导致肠屏障受损的最佳浓度，分别使用不同浓度的 LPS 处理细胞 56 h，通过 CCK-8 试验评估对细胞存活率的影响，结果如图 2 所示。当 LPS 浓度在 0.0005~0.0015 mg/mL 时，细胞的存活率随 LPS 的浓度增加而出现降低，但存活率仍>90%；当 LPS 浓度达到 0.0025 mg/mL 时，细胞增殖受到明显抑制，此时细胞存活率<70%，表明该浓度能够有效诱导肠上皮损伤，同时未造成过度细胞死亡。但随着 LPS 浓度继续增加，会导致细胞大量死亡，表明高浓度 LPS 对细胞具有强烈的毒性作用。基于上述结果，本研究选择 0.0025 mg/mL LPS 刺激 56 h 作为建立肠屏障损伤模型的最佳条件。这一浓度既能有效模拟炎症诱导的肠屏障损伤，又可避免因细胞过度死亡而影响后续实验的稳定性和可重复性。

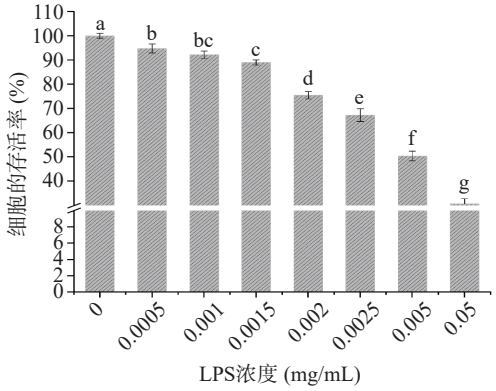


图 2　Caco-2:HT-29MIX 细胞的存活率随 LPS 刺激浓度的变化

Fig.2　Survival rate values of Caco-2:HT-29MIX cells vary with the concentration of LPS stimulation

2.4　GMOs 协同 BB 对肠上皮细胞跨膜电阻值的影响

在建立细胞模型时，TEER 值逐渐增加，当增加至 200~500 Ω·cm² 之间时，表明 Caco-2:HT-29MIX 细胞已成功分化为具有极性的单层上皮结构，可用于后续实验研究[21]。图 3A 可知，在 0~12 d 时 Caco-2:HT-29MIX 细胞的 TEER 值逐渐增加，在 13 d 时 TEER 值达到了 200 Ω·cm²，并增长至第 18 d 后趋于稳定，表明肠上皮屏障模型建立成功，可用于后续实验研究。由图 3B 可知，与 GMOs 和 BB 处理组相比，经 GMOs-BB 和 CFSM 干预培养 56 h 后，低、中、高浓度均能显著提高细胞屏障的 TEER 值，使 TEER 值的变化率增加，增强肠屏障的完整性（P<0.05）。相比之下，单独使用的 GMOs 仅在较高浓度下对细胞屏障的 TEER 值产生显著影响，当处理浓度为 10.0 mg/mL 时，使 LPS 诱导的损伤模型 TEER 值的变化率恢复至对照组的 73.83%±2.95%，表明 GMOs 对细胞 TEER 值的影响具有剂量依赖效应（P<0.05）；当单独使用 BB 时，未能有效抑制 LPS 引起的 TEER 值下降；当 GMOs 与 BB 协同作用时，随着处理浓度的增加细胞屏障的 TEER 值的变化率呈现出先增加后降低的动态变化趋势。这可能是因为 GMOs 与 BB 在 0.5~4.0 mg/mL 浓度范围内通过协同调控紧密连接蛋白表达和细胞间信号通路，增强了肠道屏障功能；然而，当浓度升高至 10.0 mg/mL 时，可能因代谢副产物的过度累积最终对肠道屏障功能产生抑制作用[22]，然而其 TEER 值的变化率较 GMOs 组仍提升 1.62%~3.27%（P<0.01）。TEER 值是肠上皮屏障功能完整性和紧密性的非特异性标志物，反映了细胞渗透性和紧密连接蛋白的状态[23]。与 LPS 处理组相比，经 GMOs、GMOs-BB 与 CFSM 处理的样品 TEER 值的显著增加（P<0.01），表明这些处理对细胞的紧密性有显著的增强作用。

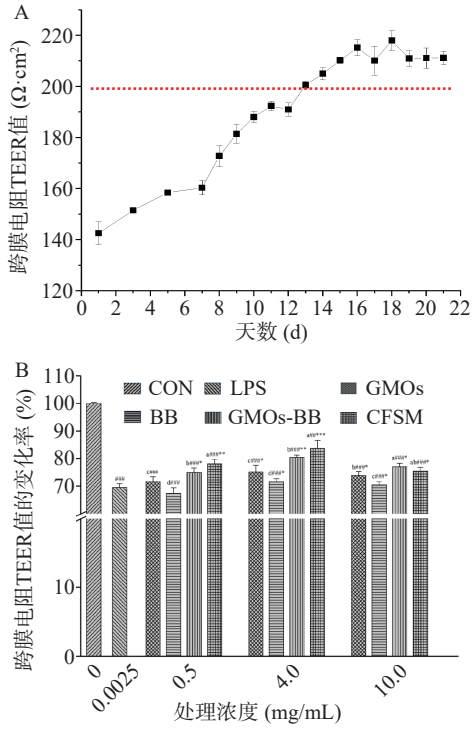


图 3　GMOs、BB、GMOs-BB、CFSM 和 LPS 对细胞屏障模型 TEER 的影响

Fig.3　Effects of GMOs, BB, GMOs-BB, CFSM and LPS on the TEER of the cell barrier model

注：A 为建模期间 TEER 值的变化；B 为经 LPS、GMOs、BB、GMOs-BB、CFSM 处理前后对 TEER 值变化率的影响。不同小写字母表示处理组内的显著性差异（P<0.05）；#, *表示各处理组与 CON、LPS 间显著性差异（#: P<0.05, ##: P<0.01, ###: P<0.001；*: P<0.05, **: P<0.01, ***: P<0.001），图 4~图 8 同。

2.5　GMOs 协同 BB 对肠屏障碱性磷酸酶的影响

AKP 的活力水平能够反映细胞的分化和成熟程度，是肠道黏膜通透性的主要调节因子。在成功构建 Caco-2: HT-29MIX 细胞模型后，该模型可分化为类似小肠粘膜上皮结构，而 AKP 通常存在于肠上皮细胞的刷状缘（即 AP 侧），当 AP 与 BL 的 AKP 比值（即 AP/BL）处于 4.0~7.0 范围内，说明细胞在培养过程中成功地实现了极化，形成了类似于体内组织的

结构和功能特征。因此，通过检测 Transwell 小室 AP 与 BL 侧 AKP 含量可以评估模型的建立情况[12,24]，结果如图 4A。

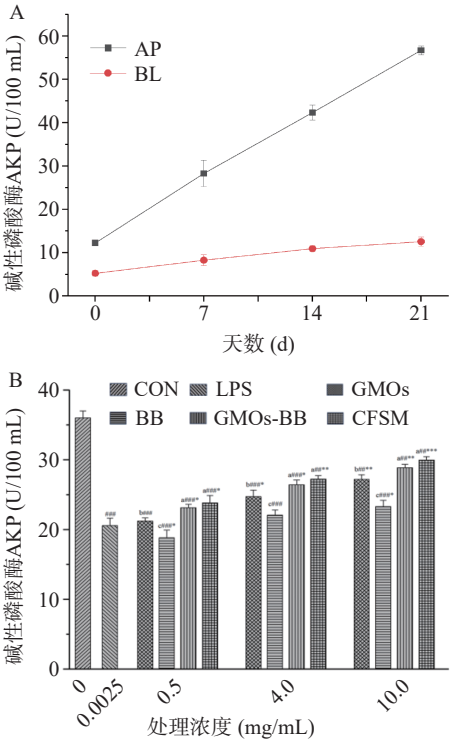


图 4 GMOs、BB、GMOs-BB、CFSM 和 LPS 对细胞屏障模型 AKP 的影响

Fig.4 Effects of GMOs, BB, GMOs-BB, CFSM and LPS on the cell barrier model AKP

注：A 为建模期间 AKP 的变化；B 为经 LPS、GMOs、BB、GMOs-BB、CFSM 处理后 AKP 的变化。

在模型建立初期，AP/BL 的值为 2.4；当细胞模型培养至 7 d 时，此时 AP/BL 的值约为 3.5，随着培养时间的延长，模型进一步分化；在第 14 d 时，AP/BL 值约为 4.2，第 21 d 时，AP/BL 值为 4.6，细胞模型达到相对稳定状态，AKP 逐渐向刷状缘集中，细胞分化具有明显的极性。使用 LPS、GMOs 及 BB 以及协同作用产物干预屏障模型，结果如图 4B 所示。在 LPS 诱导的肠屏障损伤模型中，AKP 含量显著降低，模型组 AKP 活性为(20.59±1.071)U/100 mL，较正常对照组下降了 44.4%(P<0.001)。而经过单独 GMOs 处理的模型 AKP 的含量有所恢复，且作用效果优于单独的 BB。当 GMOs 与 BB 协同作用时，AKP 活性显著增加，并且随着浓度增加，其恢复效果呈现剂量依赖增强趋势，当作用浓度为 10.0 mg/mL 时 AKP 的含量较单独处理组提升 6.67%~23.3%(P<0.01)，促进了肠屏障功能的恢复。

2.6 GMOs 协同 BB 对细胞膜通透性的影响

荧光黄素是评估细胞通透性的关键指标，通过测量荧光黄素的渗透量评估细胞模型的通透性。当 Papp 值低于 5×10^{-7} cm^2/s 时，表明肠屏障的通透性和紧密性良好[22]。图 5A 展示了细胞在 21 d 分化过程 AP 与 BL 侧荧光黄素表达量的变化。在细胞模型建立初期，荧光黄素的表达量变化不明显，始终高于 5×10^{-7} cm^2/s，这表明细胞间的紧密连接尚未完全形成，通透性较高，屏障功能尚未成熟[25]。而在培养中期，当细胞密度达到 60% 时，荧光黄素的表达量下降并低于 5×10^{-7} cm^2/s，表明此时细胞间紧密连接逐渐形成，通透性降低，屏障功能趋于完善，适合用于后续的实验研究。由图 5B 可知，与对照组相比，使用 LPS、GMOs、BB、GMOs-BB 以及 CFSM 处理后的模型中，单独使用 LPS 处理的模型 Papp 值显著增加，对肠道屏障功能造成了显著损伤，导致细胞间紧密连接被破坏，通透性显著升高(P<0.001)；而经过单独的 GMOs 和 BB 干预的模型，Papp 值低于 LPS 对照组(P<0.05)。然而，当 GMOs 和 BB 协同作用时，Papp 值进一步显著降低至(3.888±0.150)$\times10^{-7}$ cm^2/s(P<0.01)，表明 GMOs 和 BB 在协同作用下能够更有效地改善肠屏障的通透性，减轻 LPS 引起的损伤；此外，与 LPS 处理组相比，随着干预浓度的增加，Papp 值也呈现下降趋势，当作用浓度为 10.0 mg/mL 时，作用效果最显著(P<0.01)。

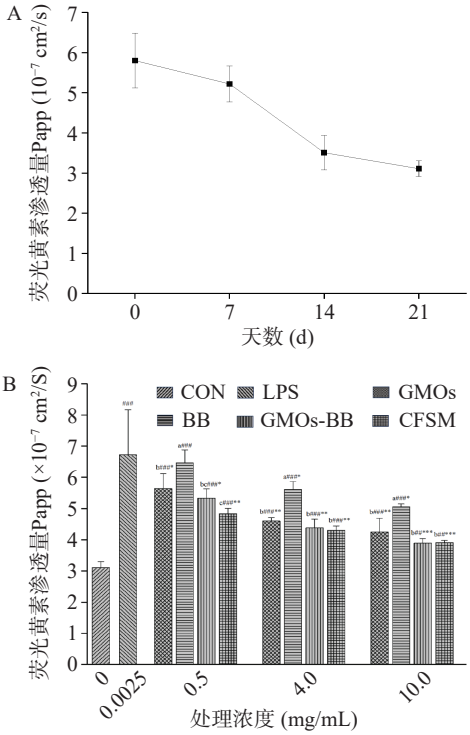


图 5 GMOs、BB、GMOs-BB、CFSM 和 LPS 对细胞屏障模型 Papp 的影响

Fig.5 Effects of GMOs, BB GMOs-BB, CFSM and LPS on the Papp of the cell barrier model

注：A 为建模期间 Papp 的变化；B 为经 LPS、GMOs、BB、GMOs-BB、CFSM 处理后 Papp 的变化。

2.7 紧密连接蛋白的表达

紧密连接蛋白(Tight Junction Proteins, TJPs)作为肠上皮屏障通透性的重要组成成分，主要是由 Claudins、Occludin 等跨膜蛋白与 ZO-1 等胞质附着蛋白通过特异性相互作用形成的功能复合体，并与细

胞骨架网络建立动态连接[26]。在肠上皮细胞中，TJPs 的分子组成和功能状态直接决定了肠道屏障的完整性，其表达水平和功能异常与多种胃肠道疾病的发展显著相关[27]。为进一步评价 GMOs、BB、GMOs-BB 和 CFSM 对肠上皮屏障功能的影响以及减轻炎症反应可能的机制，通过 qPCR 技术对对照组以及各处理组细胞中多种紧密连接蛋白 mRNA 的相对表达量进行检测，结果如图 6 所示。

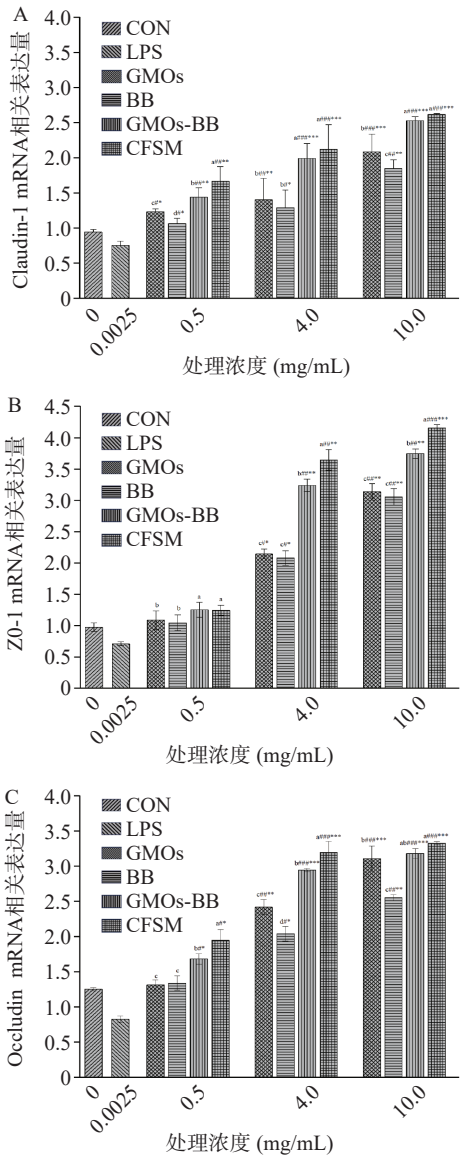


图 6　GMOs、BB、GMOs-BB、CFSM 和 LPS 对紧密连接蛋白的 mRNA 相对表达水平的影响

Fig.6　Effects of GMOs, BB, GMOs-BB, CFSM and LPS on the relative mRNA expression levels of TJPs

与对照组相比，当模型使用 LPS 刺激 56 h 后，显著降低了 Claudin-1、ZO-1 与 Occludin 三种紧密连接蛋白 mRNA 的表达，其中 Occludin 降低的较为显著（P<0.01），这可能是因为 LPS 通过激活 NF-κB 等炎症信号通路抑制 TJPs 的转录活性，使 TJPs 表达水平降低导致肠上皮屏障结构完整性受到损伤，诱发或加剧局部及全身性炎症反应[28]。经 GMOs、BB、GMOs-BB 与 CFSM 干预后，Claudin-1、Occludin 及 ZO-1 等紧密连接蛋白的基因表达水平显著上调，约为阴性对照组的 3.0~4.0 倍（P<0.001），结果表明 GMOs 与 BB 及其代谢产物可能通过调控 TJPs 的转录活性，从而修复受损的肠上皮屏障功能。与 TEER 值检测结果一致的是，单独使用 GMOs 处理的样本中 TPJs 的表达量优于 BB 组；而 GMOs 与 BB 共同作用的样本中 TJPs 的表达量更高，约为 GMOs 组的 1.0~2.0 倍。这种协同效应可能源于 *Bifidobacterium bifidum* 所具有的独特糖苷水解酶系统，其能够有效分解寡糖组分生成单糖分子或通过转糖基化作用生成其他益生元低聚糖，进而通过相应的酵解途径生成 SCFAs[29−30]。然而，在本研究中协同处理组的样本 TJPs 的表达量与 TEER 值并未呈现严格的正比例关系。当作用浓度为 4.0 mg/mL 时，TEER 值达到峰值，表明此时肠上皮的物理屏障功能恢复最为显著；而当浓度升至 10.0 mg/mL 时 TJPs 的 mRNA 表达量达到最高水平，这可能是由于 TJPs mRNA 表达上调且未完全转化为功能性蛋白或低浓度时 MUC2、F-actin 等成分协同作用已恢复屏障功能[31]，然而具体的原因仍需通过蛋白质组学及时间动力学实验进一步验证。

2.8　GMOs 协同 BB 对 IL-6、IL-8 及 TNF-α 分泌的影响

通过测定细胞炎症因子（IL-8、IL-6 和 TNF-α）的表达量，探讨了 GMOs 和 BB 以及二者协同作用时对受损肠上皮细胞炎症反应的影响，结果如图 7 所示。总体而言，在 Caco-2:HT-29MIX 细胞培养液中，IL-8 分泌量高于 IL-6 和 TNF-α，且 AP 侧的 IL-6、IL-8 及 TNF-α 浓度高于 BL 侧。虽然不同处理组对炎症因子的抑制效果存在差异，但在一定程度上均减轻了 LPS 引起的肠上皮损伤，且在高浓度条件下显著抑制了炎症因子的表达（P<0.05）。与对照组相比，当处理浓度为 0.5 mg/mL 时，GMOs 与 BB 组对 IL-6、IL-8 和 TNF-α 的表达量无显著影响，这可能与其作用浓度较低或作用机制尚未充分激活有关；而 GMOs-BB 组和 CFSM 作用时，对炎症因子的抑制作用高于单独的 GMOs 与 BB，尤其是 CFSM 组对 IL-8 的抑制作用更为突出，IL-8 作为炎症反应中的关键趋化因子，通过 CXCR1/2 受体介导中性粒细胞趋化迁移，同时促进吞噬体形成及活性氧释放，从而放大炎症信号传导[32]。当 CFSM 作用后可能通过多靶点调控机制抑制 IL-8 的表达，其活性成分能够特异性阻断 IκBα 蛋白的 Ser32/36 位点磷酸化及 NF-κB 蛋白核转位过程；同时通过干预相关的信号通路降低 AP-1 复合体的 DNA 结合活性，实现对 IL-8 基因转录的双通路协同抑制[33]。当处理浓度为 4.0 mg/mL 时 GMOs 组对 IL-6 的抑制效果优于 IL-8，这可能与 IL-6 和 IL-8 在炎症反应中的调控机制有关。IL-6 通常被认为是急性反应的核心因子，可通过 JAK/STAT3 通路促进炎症反应，进一步促进 NF-

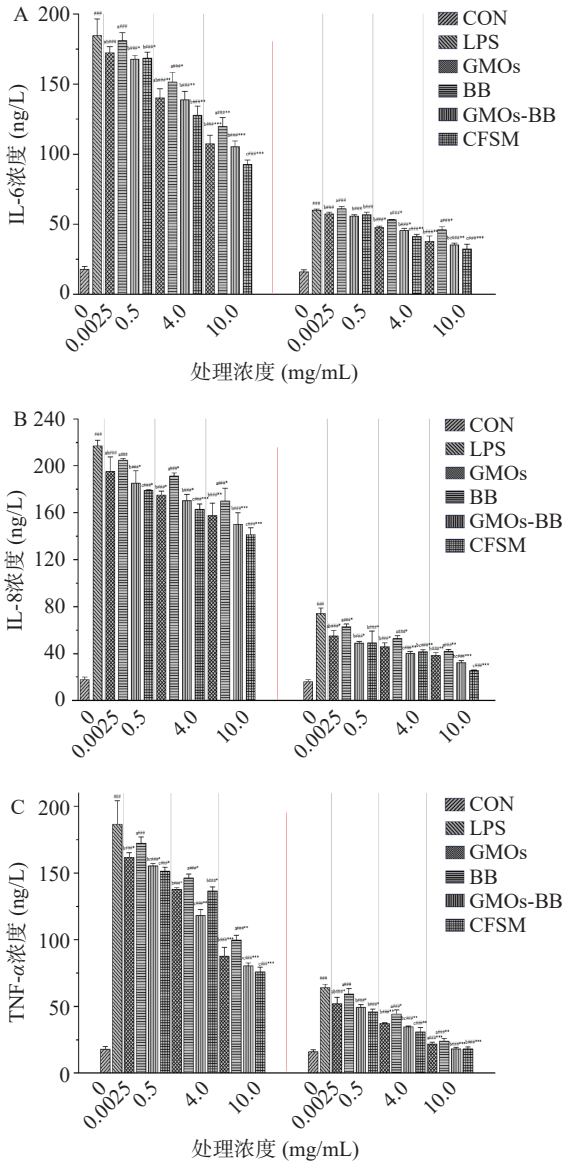


图 7 LPS、GMOs、BB、GMOs-BB、CFSM 处理对 AP 侧(左)与 BL 侧(右)炎症因子分泌量的影响

Fig.7 Effects of LPS, GMOs, BB, GMOs-BB, and CFSM treatments on the secretion of inflammatory factors on the AP side (left) and BL side (right)

κB 的核转位,从而调控炎症因子如 IL-6、IL-1β 和 TNF-α 的表达[34]。当 GMOs 作用后与肠上皮细胞表面凝集素(如 DC-SIGN)结合,激活相关的信号通路促进细胞增殖与分化,或是通过调节代谢性炎症信号通路,从而减少促炎因子的分泌。此外有研究表明在炎症性肠病中,寡糖通过调节 Th1/Th2 平衡,增强抗炎细胞因子 IL-10 的产生,同时抑制了促炎细胞因子的分泌[35]。而 GMOs-BB 组对 IL-6 和 TNF-α 的抑制作用进一步表明,二者的协同效应可能通过多靶点调控炎症因子的表达。*Bifidobacterium* 代谢 GMOs 产生的 SCFAs(如丁酸、丙酸)通过抑制 IKK 激酶活性阻断 IκBα 蛋白降解,同时下调 MEK1/2-ERK1/2 信号通路磷酸化水平,形成双重抗炎效应;此外,*Bifidobacterium* 代谢寡糖产生的胞外多糖及其内源性糖苷水解酶降解寡糖生成的功能性寡糖片段诱导 IL-10 分泌,同时激活相应的信号通路促进 Foxp3+调节性 T 细胞(Treg)分化与抑制 Th17 细胞活性,最终实现 Th1/Th2 免疫平衡的精准调控,从而在转录水平和细胞免疫层面协同下调 IL-6 和 TNF-α 等促炎因子的表达[36-37]。CFSM 组对 IL-6 和 IL-8 的抑制效果也再次表明了其在抗炎方面的优势,而经 CFSM 处理的样品对 TNF-α 的作用不明显,可能与其作用机制的选择性有关;当处理浓度为 10.0 mg/mL 时,相较于单独的 GMOs 与 BB,二者协同作用对 IL-6、IL-8 与 TNF-α 抑制效果更显著,表达量分别降低(2.11~14.93 ng/L)、(7.42~16.27 ng/L)与(7.03~12.29 ng/L)(P<0.05),这可能是由于高浓度下协同作用进一步增强,提升了在抗炎方面的潜力。

2.9 GMOs 协同 BB 对 NO 分泌的影响

有研究表明促炎的一氧化氮合酶(Inducible Nitric Oxide Synthase, iNOS)可以催化 L-精氨酸的氧化脱氨作用生成 NO[38]。而 NO 是一种常见且关键的肠道炎症介质,过度生产的 NO 可导致炎症状况,增加粘膜的通透性,从而引发炎症性肠病。因此,本研究使用 Griess 法探究了单独 GMOs 与 BB 以及协同代谢作用对受损肠上皮细胞 NO 产量情况,如图 8 所示。与 LPS 处理组相比,除高浓度的 CFSM 组外,其他处理组间均以剂量依赖的方式抑制了 NO 的表达(P<0.01),然而高浓度的 CFSM 抑制 NO 能力下降,这可能是因为代谢产物(如 SCFAs)降低了模型的 pH,肠上皮细胞的能量代谢转向糖酵解,导致活性氧积累和 iNOS 激活导致 NO 的水平略微增加[39]。

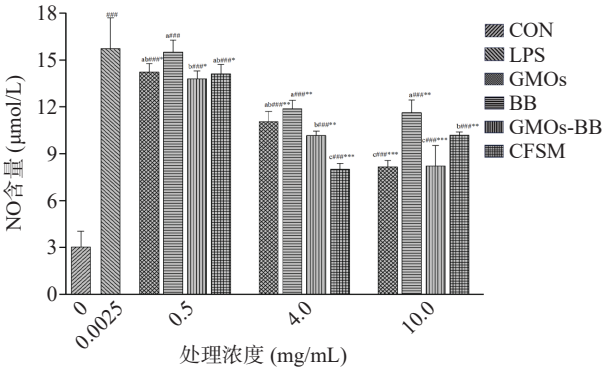


图 8 经 LPS、GMOs、BB、GMOs-BB、CFSM 处理后对 NO 分泌量的影响

Fig.8 Effects of LPS, GMOs, BB, GMOs-BB, and CFSM treatments on the secretion of NO

3 结论

本研究通过构建 LPS 诱导的体外肠上皮细胞屏障损伤模型,探究了单独的 GMOs 与 BB 以及二者协同作用对肠道屏障功能的影响。研究结果表明,GMOs 与 BB 主要以剂量依赖的方式保护肠屏障完整性,当二者协同作用时对肠屏障完整性的恢复效果显著提升(P<0.01),对炎症因子的抑制作用也更为显著(P<0.05),同时紧密连接蛋白的表达量也提高了

1.0~2.0 倍（$P<0.05$）。然而，本研究仍存在一定局限性：研究仅初步探讨了单独 GMOs、BB 以及协同作用对肠屏障功能的部分指标影响，相关机制尚未完全阐明。例如，研究虽证实了 GMOs 对炎症因子表达水平的调控作用，但未深入探讨相关基因表达变化及参与的信号通路（如 NF-κB、MAPK 等）的分子机制。为了更全面理解 GMOs 与 BB 的益生特性及其对肠道健康的影响，未来应该开展多维度的研究最大程度揭示 GMOs 与 BB 的协同作用机制，为开发新型肠道健康干预方案提供理论依据。

© 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］ FU Q, SONG T, MA X, et al. Research progress on the relationship between intestinal microecology and intestinal bowel disease[J]. Animal Models and Experimental Medicine, 2022, 5(4): 297−310.

［2］ YAN W, LUO J, YU Z, et al. A critical review on intestinal mucosal barrier protection effects of dietary polysaccharides[J]. Food & Function, 2024, 15(2): 481−492.

［3］ CHEN Y, CUI W, LI X, et al. Interaction between commensal bacteria, immune response and the intestinal barrier in inflammatory bowel disease[J]. Frontiers in Immunology, 2021, 12: 761981.

［4］ NOLAN L S, RIMER J M, GOOD M. The role of human milk oligosaccharides and probiotics on the neonatal microbiome and risk of necrotizing enterocolitis: A narrative review[J]. Nutrients, 2020, 12(10): 3052.

［5］ O'SULLIVAN A, FARVER M, SMILOWITZ J T. The influence of early infant-feeding practices on the intestinal microbiome and body composition in infants[J]. Nutrition and Metabolic Insights, 2015, 8(Suppl 1): 1−9.

［6］ ZHANG S, LI T, XIE J, et al. Gold standard for nutrition: a review of human milk oligosaccharide and its effects on infant gut microbiota[J]. Microbial Cell Factories, 2021, 20(1): 108.

［7］ SPRENGER N, TYTGAT H L P, BINIA A, et al. Biology of human milk oligosaccharides: From basic science to clinical evidence[J]. Journal of Human Nutrition and Dietetics, 2022, 35(2): 280−299.

［8］ LU J, ZHANG Y, SONG B, et al. Comparative analysis of oligosaccharides in Guanzhong and Saanen goat milk by using LC–MS/MS[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 235: 115965.

［9］ QUINN E M, SLATTERY H, WALSH D, et al. Bifidobacterium longum subsp. infantis ATCC 15697 and goat milk oligosaccharides show synergism *in vitro* as anti-infectives against *Campylobacter jejuni*[J]. Foods, 2020, 9(3): 348.

［10］ BASHIR S, FEZEU L K, LEVIATAN BEN-ARYE S, et al. Association between Neu5Gc carbohydrate and serum antibodies against it provides the molecular link to cancer: French NutriNet-Santé study[J]. BMC Medicine, 2020, 18(1): 262.

［11］ VANCAMELBEKE M, VERMEIRE S. The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease[J]. Expert Review of Gastroenterology & Hepatology, 2017, 11(9): 821−834.

［12］ DING X, HU X, CHEN Y, et al. Differentiated Caco-2 cell models in food-intestine interaction study: Current applications and future trends[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 107: 455−465.

［13］ BONDUE P, LEBRUN S, TAMINIAU B, et al. Effect of Bifidobacterium crudilactis and 3′-sialyllactose on the toddler microbiota using the SHIME® model[J]. Food Research International, 2020, 138: 109755.

［14］ GORMAN A, GOLOVANOV A P. Lipopolysaccharide structure and the phenomenon of low endotoxin recovery[J]. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2022, 180: 289−307.

［15］ Efsa Panel on Nutrition, Novel Foods and Food Allergens (Nda), TURCK D, CASTENMILLER J, et al. Safety of 6′-sialyllactose (6′-SL) sodium salt as a novel food pursuant to regulation (EU) 2015/2283[J]. EFSA Journal, 2020, 18(5): e06097.

［16］ 中华人民共和国国家卫生健康委员会. GB 10765-2021 食品安全国家标准婴儿配方食品[S]. 北京：中国标准出版社, 2021. ［National Health Commission of the People's Republic of China. GB 10765-2021 National food safety standard: Infant formula food [S]. Beijing: Standards Press of China, 2021.］

［17］ MA J, PIAO X, MAHFUZ S, et al. The interaction among gut microbes, the intestinal barrier and short chain fatty acids[J]. Animal Nutrition, 2022, 9: 159−174.

［18］ MOLINARO C, CUNHA V D, GORLAS A, et al. Are bacteria claustrophobic? The problem of micrometric spatial confinement for the culturing of micro-organisms[J]. RSC Advances, 2021, 11(21): 12500−12506.

［19］ MALDONADO R F, SÁ-CORREIA I, VALVANO M A. Lipopolysaccharide modification in Gram-negative bacteria during chronic infection[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2016, 40(4): 480−493.

［20］ SALIMI V, SHAHSAVARI Z, SAFIZADEH B, et al. Sodium butyrate promotes apoptosis in breast cancer cells through reactive oxygen species (ROS) formation and mitochondrial impairment[J]. Lipids in Health and Disease, 2017, 16: 208.

［21］ YAN F, FAN K, BAI Z, et al. Fluorescein applications as fluorescent probes for the detection of analytes[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2017, 97: 15−35.

［22］ 汪小东，刘铭洋，翟纯毅，等. 动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 对小鼠肠道的益生作用[J]. 现代食品科技，2024, 40(9): 27−36. ［WANG X D, LIU M Y, ZHAI C Y, et al. The probiotic effect of *Bifidobacterium animalis* milk subspecies XLTG11 on the intestinal tract of mice[J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(9): 27−36.］

［23］ DOORN M S. Translocation of the food-related amyloid fibrils hen egg-white lysozyme and α-synuclein in *in vitro* cell models of the epithelial intestinal barrier for the evaluation of risks associated with amyloid fibrils[EB/OL]. University of Twente, 2021.

［24］ HOFFMANN P, BURMESTER M, LANGEHEINE M, et al. Caco-2/HT29-MTX co-cultured cells as a model for studying physiological properties and toxin-induced effects on intestinal cells[J]. PLoS ONE, 2021, 16(10): e0257824.

［25］ FELIX K, TOBIAS S, JAN H, et al. Measurements of transepithelial electrical resistance (TEER) are affected by junctional length in immature epithelial monolayers[J]. Histochemistry and Cell Biology, 2021, 156(6): 609−616.

［26］ KUO W T, ODENWALD M A, TURNER J R, et al. Tight junction proteins occludin and ZO-1 as regulators of epithelial proliferation and survival[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2022, 1514(1): 21−33.

[27] NEURATH M F, ARTIS D, BECKER C. The intestinal barrier: A pivotal role in health, inflammation, and cancer[J]. The Lancet Gastroenterology & Hepatology, 2025.
[28] NIGHOT M, RAWAT M, AL-SADI R, et al. Lipopolysaccharide-induced increase in intestinal permeability is mediated by TAK-1 activation of IKK and *MLCK/MYLK* gene[J]. The American Journal of Pathology, 2019, 189(4): 797−812.
[29] LI L Q, CHEN X, ZHU J, et al. Advances and challenges in interaction between heteroglycans and *Bifidobacterium*: Utilization strategies, intestinal health and future perspectives[J]. Trends in Food Science & Technology, 2023, 134: 112−122.
[30] LIU P, WANG Y, YANG G, et al. The role of short-chain fatty acids in intestinal barrier function, inflammation, oxidative stress, and colonic carcinogenesis[J]. Pharmacological Research, 2021, 165: 105420.
[31] ZHENG X, REN B, GAO Y. Tight junction proteins related to blood-brain barrier and their regulatory signaling pathways in ischemic stroke[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2023, 165: 115272.
[32] TEIJEIRA A, GARASA S, OCHOA M D C, et al. Differential Interleukin-8 thresholds for chemotaxis and netosis in human neutrophils[J]. European Journal of Immunology, 2021, 51(9): 2274−2280.
[33] OECKINGHAUS A, GHOSH S. The NF-*κ*B family of transcription factors and its regulation[J]. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2009, 1(4): a000034.
[34] UNVER N, MCALLISTER F. IL-6 family cytokines: Key inflammatory mediators as biomarkers and potential therapeutic targets[J]. Cytokine & Growth Factor Reviews, 2018, 41: 10−17.
[35] BHOL N K, BHANJADEO M M, SINGH A K, et al. The interplay between cytokines, inflammation, and antioxidants: mechanistic insights and therapeutic potentials of various antioxidants and anti-cytokine compounds[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2024, 178: 117177.
[36] KIRSCHNER S K, ENGELEN M P K J, HAAS P, et al. Short-chain fatty acid kinetics and concentrations are higher after inulin supplementation in young and older adults. A randomized trial[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2021, 40(4): 2270−2277.
[37] MARKOWIAK-KOPEĆ P, ŚLIŻEWSKA K. The effect of probiotics on the production of short-chain fatty acids by human intestinal microbiome[J]. Nutrients, 2020, 12(4): 1107.
[38] 刘海婷, 母得志. 诱导型一氧化氮合酶和缺氧缺血脑损伤[J]. 中国当代儿科杂志, 2014, 16(9): 962−967. [LIU H T, MU D Z. Inducible nitric oxide synthase and hypoxic-ischemic brain injury[J]. Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2014, 16(9): 962−967.]
[39] 宋亚芳, 蒋诗媛, 庄艺, 等. 基于肠道菌群-短链脂肪酸-肠 PPAR*γ* 介导肠上皮代谢探讨针灸修复 IBS 肠黏膜屏障损伤的可行性[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2024, 26(10): 2748−2754. [SONG Y F, JIANG S Y, ZHUANG Y, et al. To explore the feasibility of acupuncture in repairing intestinal mucosal barrier injury in IBS based on intestinal flora-short-chain fatty acids-intestinal PPAR*γ* -mediated intestinal epithelial metabolism[J]. World Science and Technology-Modernization of Traditional Chinese Medicine, 2024, 26(10): 2748−2754.]