王刘鹏, 姜懿珊, 何双双, 等. 长双歧杆菌婴儿亚种 Y46 通过提升应激抗性延长线虫寿命 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(6): 437−445. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030291

WANG Liupeng, JIANG Yishan, HE Shuangshuang, et al. *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* Y46 Extended the Lifespan of *Caenorhabditis elegans* by Enhancing Stress Resistance[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(6): 437−445. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030291

· 营养与保健 ·

长双歧杆菌婴儿亚种 Y46 通过提升应激抗性延长线虫寿命

王刘鹏[1,2], 姜懿珊[1,2], 何双双[1,2], 李　欣[2,3], 王　妍[1,2], 吉　宇[1,2], 张莉丽[1,2,*], 韩建春[2,3,*]

（1.东北农业大学乳品科学教育部重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150030;
2.东北农业大学食品学院, 黑龙江哈尔滨 150030;
3.黑龙江省绿色食品科学研究院, 黑龙江哈尔滨 150023）

摘　要: 益生菌被认为可以延缓衰老并延长寿命。然而，其具体分子机制尚未完全明确。本研究以长双歧杆菌婴儿亚种 Y46（BI_Y46）为研究对象，利用模式生物秀丽隐杆线虫探究其抗衰老机制，系统评估了 BI_Y46 对线虫寿命、发育周期、繁殖能力、体型、运动能力、身体摆动频率、应激抗性、脂褐素积累量、活性氧（ROS）水平及基因表达的影响。结果表明，饲喂 BI_Y46 后，线虫寿命显著延长了 12.40%（P<0.05）。此外，BI_Y46 未影响生长发育及繁殖能力，同时显著提升其运动能力（P<0.05），并减少脂褐素积累量与 ROS 水平。同时，BI_Y46 有效增强线虫对氧化应激和热应激的抗性。RNA-seq 分析表明，BI_Y46 主要通过调控角质层的结构完整性和药物代谢来增强线虫的应激抗性。RT-qPCR 结果证实，BI_Y46 能促进抗氧化基因 *gst-2* 的表达。综上，BI_Y46 可通过提升应激抗性延长线虫寿命。该发现为阐明益生菌的健康益处提供了理论依据，并为开发益生菌靶向抗衰老策略奠定了科学基础。

关键词: 双歧杆菌, 秀丽隐杆线虫, 抗衰老, 应激抗性

中图分类号: TS201.3　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)06−0437−09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030291　　本文网刊:

Bifidobacterium longum subsp. *infantis* Y46 Extended the Lifespan of *Caenorhabditis elegans* by Enhancing Stress Resistance

WANG Liupeng[1,2], JIANG Yishan[1,2], HE Shuangshuang[1,2], LI Xin[2,3], WANG Yan[1,2], JI Yu[1,2], ZHANG Lili[1,2,*], HAN Jianchun[2,3,*]

（1.Key Laboratory of Dairy Science, Ministry of Education, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China;
2.College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China;
3.Heilongjiang Green Food Science Research Institute, Harbin 150023, China）

Abstract: Probiotics are thought to slow aging and extend lifespan, yet their exact molecular mechanisms remain unclear. This study investigated the anti-aging effects of *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* Y46 (BI_Y46) using the model organism *Caenorhabditis elegans*. We assessed the effect of BI_Y46 on lifespan, developmental cycle, reproductive capacity, body length, locomotion, stress resistance, lipofuscin accumulation, ROS level and gene expression of *C. elegans*. Findings indicated that BI_Y46 significantly extended *C. elegans* lifespan by 12.40% (P<0.05). Moreover, BI_Y46 significantly improved *C. elegans* motility while reducing lipofuscin accumulation and reactive oxygen species levels, without affecting growth, development, or reproductive capacity. Additionally, BI_Y46 enhances the nematode's resistance

收稿日期: 2025−03−21

基金项目: 黑龙江省重点研发项目（GZ20230023）; 黑龙江省高校学科协同创新成果项目（LJGXCG2023-026）。

作者简介: 王刘鹏（1999−）, 男, 硕士研究生, 研究方向: 功能性乳制品与益生菌, E-mail: wangshupeng101@163.com。

*** 通信作者:** 张莉丽（1981−）, 女, 博士, 教授, 研究方向: 功能性乳制品与益生菌, E-mail: lilizhang2011@163.com。

韩建春（1973−）, 男, 博士, 教授, 研究方向: 农产品加工, E-mail: hanjianchun@hotmail.com。

to oxidative and heat stress. RNA-seq analysis revealed that BI_Y46 bolstered *C. elegans*' antioxidant capacity by regulating cuticle integrity and drug metabolism. RT-qPCR confirmed that BI_Y46 promoted expression of the antioxidant gene *gst-2*. This study demonstrates that BI_Y46 extends the lifespan of nematodes by improving stress resistance, providing a theoretical basis for understanding the health benefits of probiotics and establishing a foundation for probiotic-targeted anti-aging strategies.

Key words: *Bifidobacterium*; *Caenorhabditis elegans*; anti-aging; stress resistance

衰老是一种自然现象,随着年龄的增长,生物体的生理器官会逐渐退化[1]。这种退化过程是不可逆的,不仅会损害代谢功能,还可能引发代谢综合征等疾病,最终导致死亡。随着医疗技术的进步,以及生活水平的提高,人类平均寿命显著延长,同时老年人口比例也持续增加,到 2025 年,全球将有 1/6 的人口超过 65 岁[2]。老龄化不仅是人口结构的转变,还会引发诸多健康问题,例如心血管疾病、糖尿病、阿尔茨海默病和癌症等[3]。这一趋势凸显了应对衰老相关健康挑战的迫切需求,亟需通过创新策略来改善衰老状况和生活质量。

体内自由基平衡失调会引发氧化应激,导致蛋白质、脂质和 DNA 损伤,进而促进心血管疾病、代谢性疾病、癌症和衰老的发生。过氧化氢(H_2O_2)作为关键活性氧(ROS),会通过芬顿(Fenton)反应转化为强氧化性的羟基自由基(·OH),加剧氧化损伤[4]。而双歧杆菌具有高水平的过氧化氢抗性,能够抑制促炎因子的产生,促进紧密连接蛋白(Tight Junction Proteins)和黏蛋白 2(Mucin2)的表达,从而改善肠道粘膜损伤并缓解肠道炎症[5]。这种抗氧化和抗炎特性在抗衰老领域展现出潜力,研究表明,植物乳杆菌可通过增强肠道屏障功能、抑制促炎菌群丰度和促炎因子释放,从而有效抑制肠道炎症并延长小鼠寿命[6]。尽管双歧杆菌已被证实具有类似的生理调节作用,但其调控宿主衰老进程的具体分子机制仍待深入解析[7]。因此,系统研究双歧杆菌在衰老调控中的作用,对于制定促进健康衰老和预防年龄相关疾病的策略具有重要意义。

长双歧杆菌婴儿亚种 Y46(*Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* Y46, BI_Y46)是本实验室从健康婴儿粪便中分离得到的一株益生菌。前期实验表明,BI_Y46 不仅具有独特的菌毛结构,能够高效利用母乳低聚糖,还表现出较强的生物膜形成能力、表面疏水性、自聚集能力、胆盐耐受能力以及抑菌能力[8]。本研究利用秀丽隐杆线虫模型,对饲喂活性 BI_Y46 后线虫的寿命、生长发育、健康寿命和应激抗性进行测定,并进行 RNA-seq 分析,旨在探究 BI_Y46 的抗衰老效果及其潜在调控机制。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

长双歧杆菌婴儿亚种 Y46(BI_Y46) 从东北地区健康母乳喂养的婴儿粪便分离筛选获得,保存于中国典型培养物保藏中心,保藏编号为 CCTCC M 20221253;大肠杆菌 OP50 和野生型 N2 秀丽隐杆线虫 美国明尼苏达州大学,明尼阿波利斯,秀丽隐杆线虫遗传学中心(CGC);LB 肉汤、MRS 肉汤、NGM 培养基 青岛海博生物技术有限公司;L-半胱氨酸盐酸盐 分析纯,德国 BioFroxx 公司;活性氧(ROS)测定试剂盒 南京建成生物科技有限公司;逆转录试剂盒、qPCR 试剂盒 北京全式金生物技术股份有限公司;其他试剂均为国产分析纯。

SPL-150 生化培养箱 天津莱玻特瑞仪器设备有限公司;TGL-23 离心机 四川蜀科仪器有限公司;GR85DA 立式压力蒸汽灭菌锅 致微仪器有限公司;DM18 荧光倒置显微镜 德国徕卡公司;SZM-42 体视显微镜 深圳奥斯微光学仪器有限公司;ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪 赛默飞世尔科技公司。

1.2 实验方法

1.2.1 菌株培养及实验分组 线虫按标准方法饲养于 NGM 固体培养基,在 20 ℃ 恒温条件下培养[9]。利用漂白法获得同期化线虫。BI_Y46 以 3% 接种量接种于含有 0.05% L-半胱氨酸盐酸盐的 MRS 培养基(MRSC)中,37 ℃ 厌氧培养袋中培养 48 h,连续传代 2~3 次后用于后续实验。大肠杆菌 OP50 在 LB 肉汤中 37 ℃、220 r/min 振荡培养 24 h,作为线虫的标准饲料。

为制备饲养线虫用菌苔,通过离心(2918×g,4 ℃,5 min)收集细菌,用无菌 M9 缓冲液洗涤 2~3 次,重悬并将细菌浓度调整至 0.2 mg/μL 备用。将细菌浓缩液按对照组(OP50 组)50 μL OP50(约 2.17×10^{10} CFU)、实验组(BI_Y46 组)25 μL OP50(1.09×10^{10} CFU)+25 μL BI_Y46(5.60×10^{9} CFU)的配比均匀涂布于 NGM 平板表面,待菌苔形成后转移 30 条同期化线虫进行饲养。每个处理组设置独立培养板,实验过程保持培养条件一致性。

1.2.2 秀丽隐杆线虫寿命的测定 寿命的测定按照赵娇娇等[10] 报道的方法进行。按照 1.2.1 所述方法,每组饲养 60 条线虫。将同期化后处于 L4 时期的线虫作为起始时间(t=0 d)进行寿命测定,每天记录线虫的存活率,当线虫咽部停止抽吸且对外部刺激无反应时,即判定为死亡。对于因操作失误而死亡、意外丢失,以及在繁殖期因身体爆裂而死亡的线虫,均不计入后续数据分析。

1.2.3 秀丽隐杆线虫发育周期、生殖能力和体型测定 发育周期、生殖能力和体型测定均按照赵小萌

等[11] 的方法进行。分别将 30 条同期化后处于 L2 期的线虫转移至 OP50 组或 BI_Y46 组的 NGM 平板上，用体视显微镜每 30 min 观察一次，首次观察到虫卵时的时间点即为发育周期；为了评估生殖能力，分别将 3 条同期化后处于 L4 期的线虫转至 OP50 组或 BI_Y46 组的 NGM 平板上，每 24 h 转移至新平板直至繁殖结束。转移后的平板培养 48 h 后对线虫进行计数；分别对 OP50 组或 BI_Y46 组 3~8 d 的线虫进行体型测定，随机挑选 20 条线虫，在体视显微镜下拍照，使用 ImageJ 软件测量其身体长度和身体投影面积。

1.2.4　秀丽隐杆线虫运动能力测定　对 OP50 组或 BI_Y46 组 9~19 d 的 30 条线虫的运动表现进行等级评定[12]。具体评定标准如下：“A 级”为线虫无需外界刺激即可自发地展现出正弦运动，或在受到刺激时表现出剧烈运动；“B 级”为线虫表现出不规则或不协调的运动；“C 级”为线虫在受到刺激时，仅能做出头部或尾部的轻微摆动，但无法移动身体；“D 级”为线虫对刺激无任何反应，即判定为死亡。

1.2.5　氧化应激抗性测定　氧化应激抗性按照 Kato 等[13] 所述方法进行。将 OP50 组或 BI_Y46 组线虫饲养 5 d 后，随机挑取 20 条转移至含 10 mmol/L 过氧化氢的无菌 NGM 平板上，每小时观察并计算线虫的存活率。

1.2.6　热应激抗性测定　热应激抗性按照 Kato 等[13] 所述方法进行。将 20 条 OP50 组或 BI_Y46 组线虫转移至 35 ℃ 环境中，每小时观察并计算线虫的存活率。

1.2.7　脂褐素积累量和活性氧（ROS）的测量　脂褐素积累量的测定参考 Gao 等[14] 方法。将 20 条 OP50 组或 BI_Y46 组饲养 5 d 的线虫转移至无菌 NGM 平板上，用 M9 溶液洗涤后用 0.1% 四盐酸咪唑麻醉，并将其置于 2% 琼脂糖板上。使用荧光倒置显微镜的蓝色激发光拍摄线虫肠道的自发荧光图像。然后使用 ImageJ 分析荧光图像，计算每条线虫的平均像素强度作为脂褐素积累量的量化指标。

ROS 的测定方法如下：取 20 条 OP50 组或 BI_Y46 组饲养 5 d 的线虫，用 M9 洗涤后转入含有 1 μmol/L 2,7-二氯荧光素二乙酸酯（DCFH-DA，一种可渗透细胞的荧光探针，用于检测细胞内的 ROS 水平）的 M9 溶液中，于 20 ℃ 避光条件下孵育 2 h，麻醉后使用绿色激发光拍摄荧光图像，再使用 ImageJ 分析荧光图像，计算每条线虫的平均像素强度，作为 ROS 水平的量化指标。

1.2.8　身体摆动频率测定　身体摆动频率的测定按照 Huang 等[15] 所述方法进行。具体操作如下：将 20 条 OP50 组或 BI_Y46 组饲养 5 d 和 7 d 的线虫转移至 M9 缓冲溶液中，使其自由游动 30 s 后开始测量，并计算接下来 30 s 内线虫身体的摆动次数。

1.2.9　RNA-seq 分析　收集 1000 条 OP50 组或 BI_Y46 组饲养 5 d 的线虫送至上海派森诺生物科技有限公司完成后续 RNA 提取和分析。为鉴定两个样本间的差异表达基因，使用 HTSeq 0.6.1p2 统计比对到每个基因的 Read Count 值作为原始表达量。为消除测序深度和基因长度的影响，采用 RPKM 方法进行标准化。最后，利用 DESeq 进行差异分析，将 $\log_2|\text{fold change}|>1$ 且 P-value<0.05 的基因视为显著差异表达基因。

1.2.10　逆转录和实时定量 PCR（RT-qPCR）　按照制造商的说明，使用逆转录试剂将 400 ng 的 RNA 转化为 cDNA 模板。随后，利用 RT-qPCR 试剂盒和实时荧光定量 PCR 仪，对获得的 cDNA 进行 RT-qPCR 实验。目标基因的相对 mRNA 表达水平以线虫内参基因 *act-1* 的表达量进行标准化。数据通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法进行分析。实验所使用的引物如表 1 所示，引物序列均基于 Worm Base 官网公布的序列，利用 Primer 3 进行设计。

表 1　RT-qPCR 中使用的引物

Table 1　Primer sequences of the genes used in the RT-qPCR analysis

基因名称	前引（5’→3’）	后引（5’→3’）
act-1	CCCCACTCAATCCAAAGGCT	GTACGTCCGGAAGCGTAGAG
ins-7	TTTCTAATCAATACGATGCCACCA	TGAAGTCGTCGGTGCATTCT
daf-2	TCGAGCTCTTCCTACGGTGT	CATCTTGTCCACCACGTGTC
age-1	AGTGGATTCGGAAACAATGC	GGAATCGATCGACACTTTCA
daf-16	TCAAGCCAATGCCACTACC	TGGAAGAGCCGATGAAGAAG
gst-2	GGCCCCTCCAGGCAATGGTC	TAGCCCCGCGGGCAGCGGG

1.3　数据处理

每个实验均重复 3 次以上，实验数据以平均值±标准误（$\bar{x}$±SEM）的形式表示。数据分析使用 SPSS 软件进行，并通过 GraphPad Prism10 软件进行作图。具体而言，寿命曲线分析采用 Logrank（Mantel-Cox）检验以确定显著性差异，两组间的比较采用 Student’s t 检验。统计学显著性水平设定为 P<0.05。

2　结果与分析

2.1　BI_Y46 能够延长秀丽隐杆线虫的寿命

通过线虫寿命实验评估了婴儿双歧杆菌 BI_Y46 的抗衰老效果。线虫作为一种经典的模式生物，其寿命是评估抗衰老能力的一个重要生物学指标[16]。如图 1 显示，BI_Y46 组线虫的生存曲线较 OP50 组明显右移（图 1A）。具体而言，BI_Y46 组的中位数寿命、平均寿命和最长寿命分别显著延长了 13.70%、12.27% 和 14.07%（P<0.05）（图 1B）。这些结果表明，BI_Y46 能够显著延长秀丽隐杆线虫的寿命。该菌株可能通过特定机制延长线虫生存能力，为后续抗衰老机制研究提供了线索。因此，本研究将系统评估

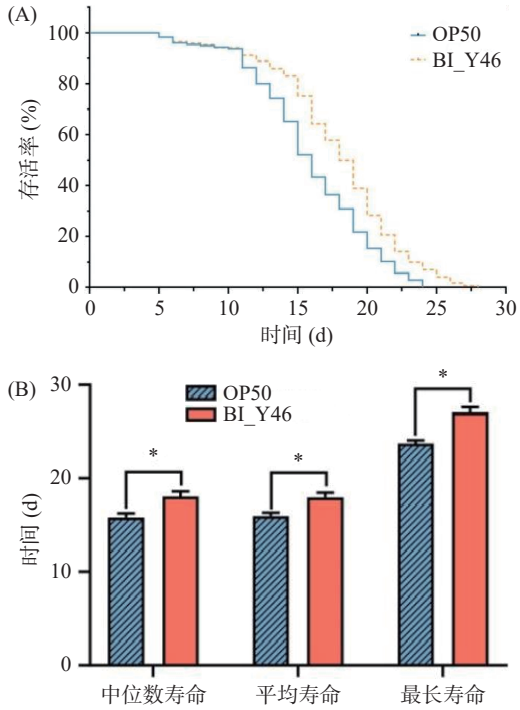


图 1 BI_Y46 对秀丽隐杆线虫寿命的影响

Fig.1 Effects of BI_Y46 on the lifespan of *C. elegans*

注:(A)线虫生存曲线;(B)线虫中位数寿命、平均寿命和最长寿命;*表示数据差异显著,$P<0.05$。

了 BI_Y46 对线虫生长发育、健康寿命、胁迫应答能力及代谢通路的影响。

2.2 BI_Y46 不影响秀丽隐杆线虫的生长发育

如图 2(A)、图 2(B)所示,统计分析显示,BI_Y46 组线虫在孵育第 1、3、5 d 的体长和身体投影面积均与对照组(OP50 组)无显著差异($P>0.05$)。进一步分析显示,两组线虫的发育周期、总繁殖数及日均产卵数亦无显著差异($P>0.05$)(图 2(C)~图 2(E))。上述结果表明,BI_Y46 在延长线虫寿命的同时,并未对其正常生长发育过程产生明显影响。

2.3 BI_Y46 能够延长秀丽隐杆线虫的健康寿命

衰老通常伴随着生理功能的退化。在模式生物秀丽隐杆线虫中,这种退化主要表现为运动能力的下降[17]。为探究 BI_Y46 对线虫健康寿命的影响,本研究分析了与衰老密切相关的三项指标:运动能力、身体摆动频率和脂褐素积累。

如图 3(A)所示,BI_Y46 对线虫运动能力的改善呈现时间依赖性增强。第 9 d 时,OP50 组和 BI_Y46 组的“A 级”线虫比例无显著差异($P>0.05$)。而在第 10~19 d,BI_Y46 组线虫的运动能力均显著优于 OP50 组($P<0.05$)。图 3(B)展示了成年后线虫第 5 d和第 7 d 的身体摆动频率。结果显示,无论是第 5 d还是第 7 d,BI_Y46 组线虫的身体摆动频率均极显著高于 OP50 组($P<0.0001$)。脂褐素是一种随着机体衰老逐渐积累的自发荧光类化合物,其积累水平与机体衰老程度呈正相关[18]。如图 3(C)和图 3(D)所示,BI_Y46 组线虫脂褐素积累量仅为 OP50 组的 62.56%($P<0.0001$)。以上结果表明,BI_Y46 通过改善线虫的运动能力、提高身体摆动频率,并减少脂褐素的积累,从而延长秀丽隐杆线虫的健康寿命。

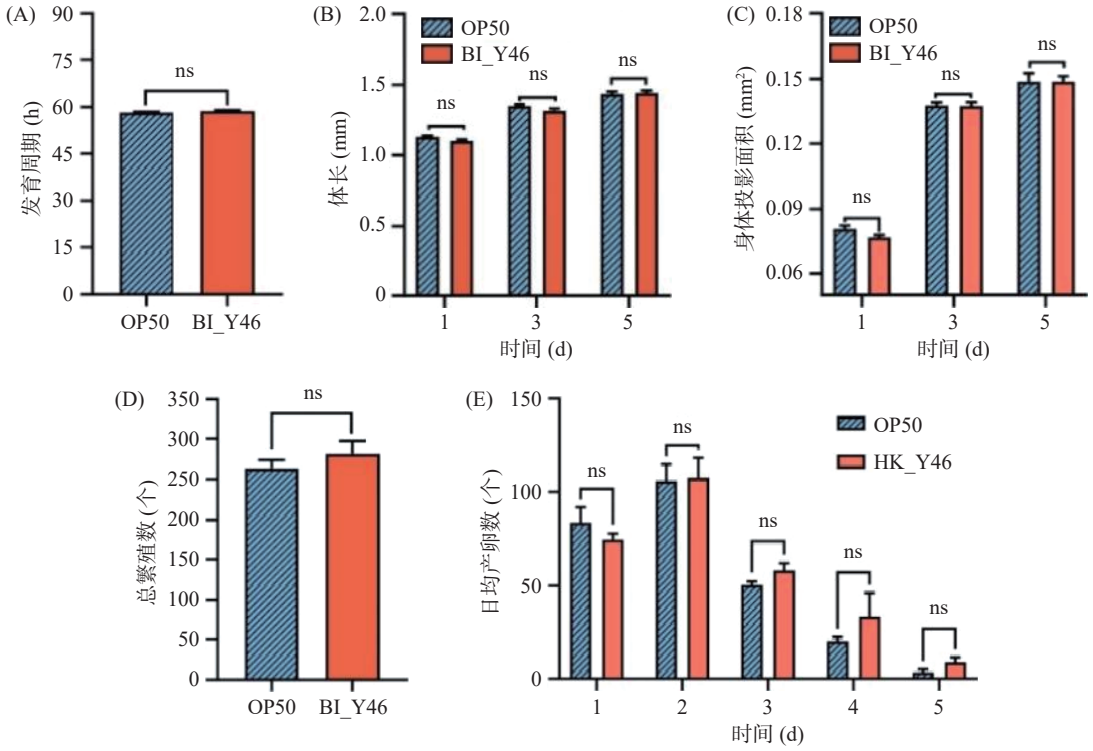


图 2 BI_Y46 对秀丽隐杆线虫生长发育的影响

Fig.2 Effects of BI_Y46 on the growth and development of *C. elegans*

注:(A)发育周期;(B)体长;(C)身体投影面积;(D)5 d 的总繁殖数;(E)日均产卵数;ns 表示数据差异不显著($P>0.05$)。

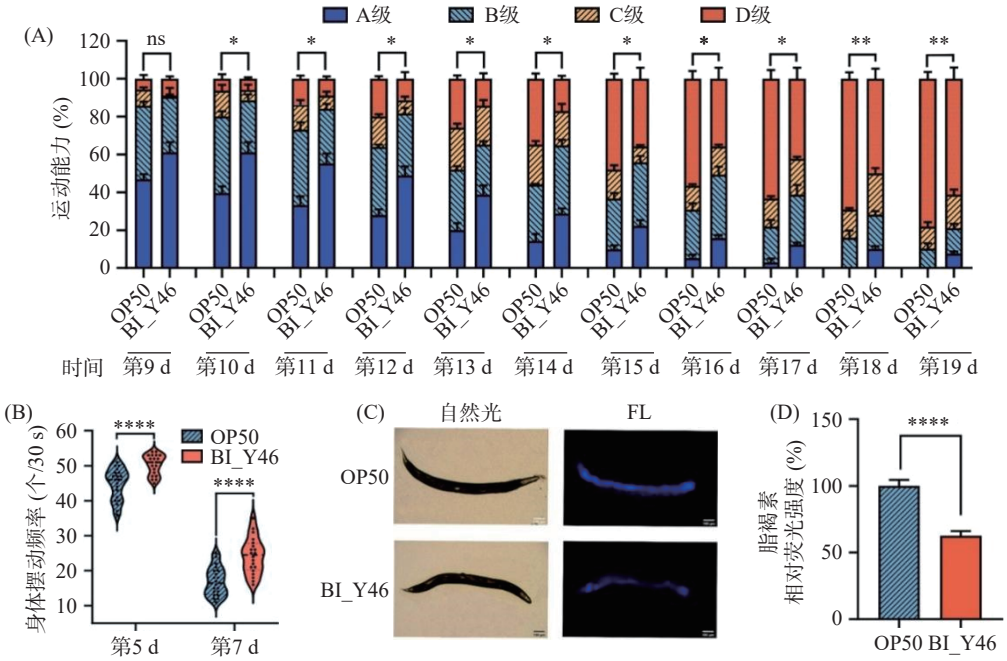


图 3　BI_Y46 对秀丽隐杆线虫健康寿命的影响

Fig.3　Effects of BI_Y46 on the aging process of *C. elegans*

注：(A)线虫在成年后 9~19 d 的运动能力；(B)身体摆动频率；(C)倒置荧光显微观察第 5 d 线虫体内脂褐素积累量荧光图像；(D)第 5 d 线虫的脂褐素相对荧光强度；ns 表示数据差异不显著(P>0.05)，*表示 P<0.05，**P<0.01，****P<0.0001。

2.4　BI_Y46 能够增强秀丽隐杆线虫的应激抗性

应激是加速生物体衰老的关键因素。增强应激抗性不仅能够延缓衰老，还能有效预防相关疾病的发生[7]。氧化应激和热应激结果如图 4(A)和图 4(B)所示，BI_Y46 组线虫在氧化应激和热应激下的存活率显著优于 OP50 组(P<0.0001)。在氧化应激实验中，OP50 组线虫在第 3 h 开始出现死亡，而 BI_Y46 组在第 5 h 才出现死亡。在热应激实验中，两组线虫均在第 4 h 开始死亡，但 BI_Y46 的死亡率要低于 OP50 组。在第 9 h 时，OP50 组线虫全部死亡，而 BI_Y46 组存活率为 20.93%。

内源性 ROS 主要由线粒体电子传递链产生。降

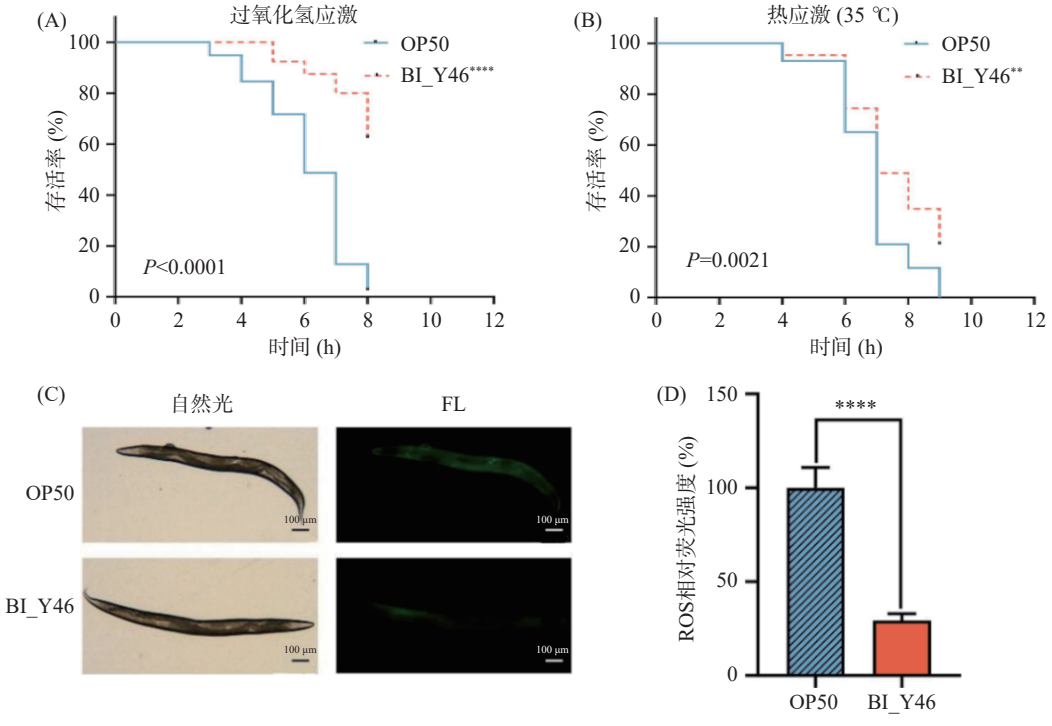


图 4　BI_Y46 对秀丽隐杆线虫应激抵抗力的影响

Fig.4　Effects of BI_Y46 on stress resistance of *C. elegans*

注：(A)线虫在 10 mmol/L 过氧化氢中的存活曲线；(B)线虫在 35 ℃ 环境中的存活曲线；(C)倒置荧光显微观察第 5 d 线虫体内 ROS 水平荧光图像；(D)ROS 相对荧光强度；**P<0.01，****P<0.0001。

低其浓度可以减少氧化应激对细胞和组织的损伤[19]。如图 4(C)和图 4(D)所示，BI_Y46 组线虫体内 ROS 水平仅为 OP50 组的 29.18%(P<0.0001)。这表明 BI_Y46 可能通过清除自由基、降低 ROS 水平来增强线虫的应激抗性。

2.5 BI_Y46 可激活线虫应激抵抗基因

为深入研究 BI_Y46 延长秀丽隐杆线虫寿命的分子机制，本研究对 OP50 组和 BI_Y46 组的线虫进行了 RNA-seq 分析，旨在揭示 BI_Y46 对基因表达谱的作用及其潜在调控网络。

如图 5(A)火山图显示，共检测到 18450 个基因。与 OP50 组比，BI_Y46 组有 402 个差异表达基因，包括 62 个上调基因和 340 个下调基因。基因聚类分析显示(图 5(B))，与 OP50 组样本相比，BI_Y46 组样本中基因簇 G-C8 和 G-C9 中的基因表达量显著升高，其余基因簇中的基因均显著下调。以上结果表明，BI_Y46 组样本和 OP50 组样本间存在着显著的转录组差异。

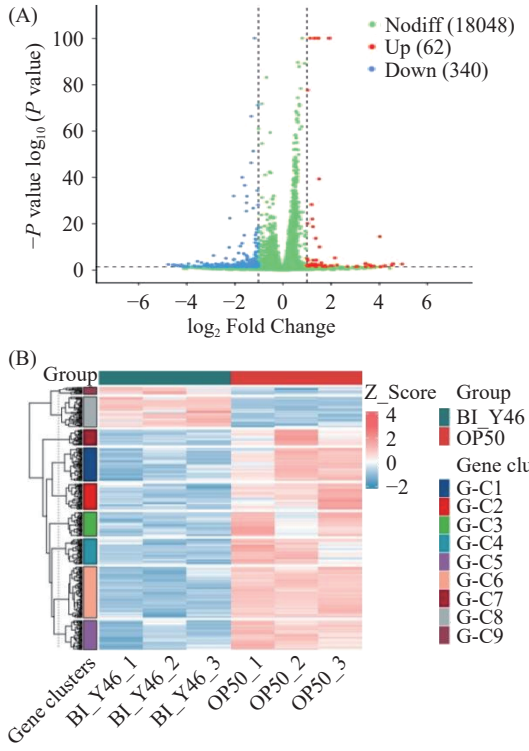


图 5 差异表达基因分析

Fig.5 Differentially expressed gene analysis

注：(A)火山图(BI_Y46/OP50)；(B)基因聚类分析，图中横向表示基因，纵向表示样本，红色表示表达量升高，蓝色表示表达量下降，Gene Clusters 为基因簇，是通过无监督聚类将表达模式相似的基因分组的结果。

为进一步揭示这些差异表达基因的生物学功能及其意义，本研究通过 GO 功能注释和 KEGG 代谢通路富集分析进行探究。图 6(A)和图 6(B)分别展示了前 20 个显著富集的 GO 条目的柱状图和因子图，这些条目涵盖细胞组分、分子功能和生物学过程 3 个类别。其中，上调基因的功能聚焦于水解酶活

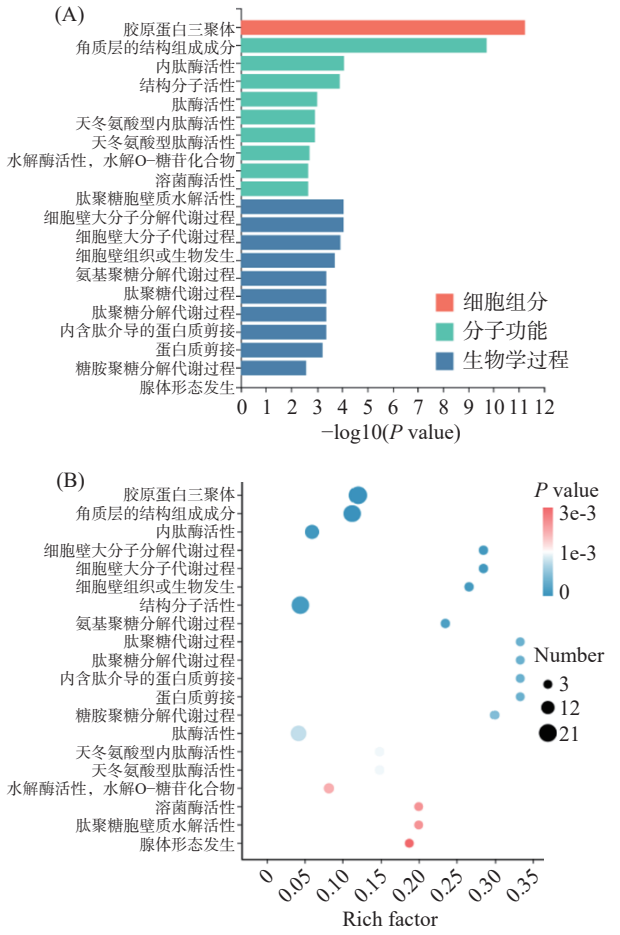


图 6 差异表达基因 GO 功能富集分析

Fig.6 GO functional enrichment analysis of differentially expressed genes

注：(A)GO 富集分析柱状图；(B)GO 富集分析因子图，红色代表上调，蓝色代表下调。

性，水解 O-糖苷化合物、溶菌酶活性和肽聚糖胞壁质水解活性，上述功能与糖类代谢和细胞壁的稳定性密切相关。下调的基因主要涉及以下三类功能：细胞外基质结构相关(如胶原蛋白三聚体和角质层结构组分)、细胞壁代谢相关(包括细胞壁大分子分解代谢和细胞壁组织或生物发生)以及与蛋白质加工相关(如内肽酶活性、天冬氨酸型内肽酶活性和蛋白质剪接)。上述结果揭示，BI_Y46 通过调控肽酶活性、蛋白质剪切及细胞壁代谢等过程，干扰角质层结构和细胞壁动态平衡，最终调控线虫寿命。

图 7(A)和图 7(B)展示了 KEGG 富集分析中前 10 个代谢通路的柱状图和因子图。富集到的代谢通路主要包括代谢、生物系统、环境信息处理和细胞过程 4 个功能类别。其中，下调基因显著富集于异源物质代谢、寿命调控和细胞外基质信号传导；而上调基因则主要参与糖胺聚糖生物合成-硫酸肝素/肝素、过氧化物酶体和其他糖降解。这些结果表明，BI_Y46 通过调控药物代谢、糖胺聚糖生物合成、过氧化物酶体功能及长寿调节途径，最终实现延长寿命的生物学效应。

BI_Y46 能够显著增强线虫的应激抗性，并调

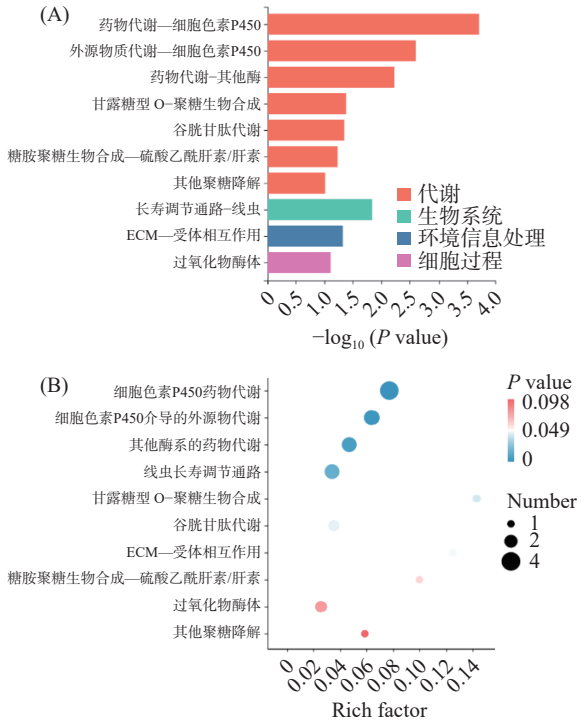


图 7　差异表达基因 KEGG 代谢通路富集结果

Fig.7　Results of KEGG metabolic pathway for differentially expressed genes

注：(A)KEGG 富集分析柱状图；(B)KEGG 富集分析因子图，红色代表上调，蓝色代表下调。

控与衰老密切相关的长寿调节途径-蠕虫信号通路（图 8(A)）。基于 RNA-seq 结果，本研究选择了与应激抗性相关的关键基因 *gst-2*[20]（谷胱甘肽 S-转移酶 2，$\log_2|\text{fold change}|=2.6987$，*P*-value=0.03736）以及在长寿调节途径-蠕虫信号通路中的上游基因（*ins-7*、*daf-2*、*age-1*、*daf-16*）进行 RT-qPCR 验证。

如图 8(B)所示，*gst-2* 的表达显著上调（$P<0.05$），而 *ins-7*、*daf-2*、*age-1* 和 *daf-16* 的表达水平未发生显著变化（$P>0.05$）。这表明，BI_Y46 确实可以通过调控 *gst-2* 的表达来增强线虫的抗氧化应激能力，但这一过程可能独立于长寿调节途径-蠕虫信号通路。

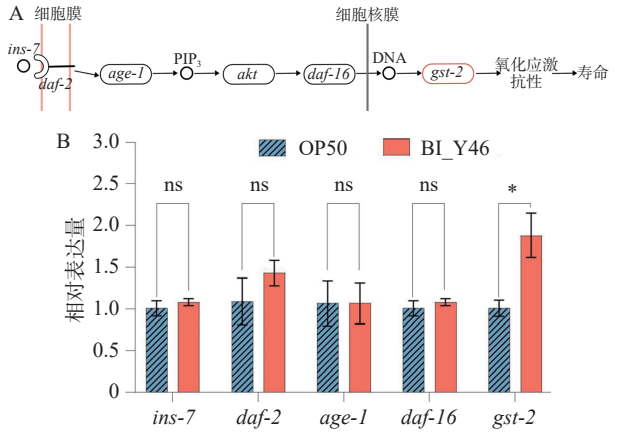


图 8　RT-qPCR 实验结果

Fig.8　Results of RT-qPCR experiments

注：A. 长寿调节途径-蠕虫信号通路图；B. RT-qPCR 结果；ns 为不显著（$P>0.05$），*$P<0.05$。

除长寿调节途径-蠕虫信号通路外，*gst-2* 还在多个代谢通路中显著富集，包括药物代谢-细胞色素 P450、细胞色素 P450 对异种生物的代谢、谷胱甘肽代谢以及药物代谢-其他酶等通路。该结果提示 BI_Y46 很可能通过上述通路增强线虫的应激抗性，最终延长线虫寿命。

3　讨论

本研究通过分别给线虫饲喂 OP50 或 OP50 与 BI_Y46 的混合物（1∶1，w/w），以系统评估 BI_Y46 对其寿命的影响。结果显示，添加 BI_Y46 组的线虫在生存状况、平均寿命、中位数寿命和最长寿命方面均显著优于 OP50 对照组。

饮食限制作为一种经典的延长寿命的方式，其作用机制主要表现为延缓生殖发育和降低与年龄相关疾病的发病率[21]。Zhao 等[22] 发现，饲喂唾液乳杆菌 FDB89 在延长线虫寿命的同时，显著抑制了线虫的生殖能力、咽部抽吸频率并延缓了发育周期。然而，本研究的结果显示，BI_Y46 组线虫的体长、发育周期和生殖能力均与 OP50 组无显著差异，这表明 BI_Y46 并非通过饮食限制的方式延长线虫寿命，而是通过其他机制发挥抗衰老作用。

衰老通常伴随着肌肉功能的衰退和脂褐素积累量的增加。本研究结果表明，BI_Y46 能够显著提升线虫在 10~19 d 内的运动能力，第 5 d 和第 7 d 的身体摆动频率，并降低第 5 d 体内脂褐素的积累量。这一结果优于 Hu 等[23] 从发酵泡菜中分离的乳酸片球菌的效果。乳酸片球菌虽然能够延长线虫的寿命，但并未改善线虫成年后 1~6 d 内的运动能力。这可能是由于双歧杆菌能够高效产生短链脂肪酸（如丁酸、乙酸和丙酸），这些短链脂肪酸在抗衰老方面具有重要作用，而乳杆菌和大肠杆菌的短链脂肪酸产量相对较低[24]，这一代谢差异可能是导致不同菌株改善线虫运动能力效果差异显著的原因之一。

氧化应激对机体的损伤随着年龄增长而加剧，并与胃肠道疾病、神经退行性疾病和类风湿关节炎等疾病的病理过程密切相关[25]。构建应激模型是探索抗氧化能力的重要方法[26]，本研究发现饲喂 BI_Y46 可显著提高线虫对热应激和氧化应激的抗性，同时降低体内 ROS 水平。

为阐明 BI_Y46 的抗衰老机制，本研究采用 RNA-seq 技术对线虫进行了转录组分析。GO 富集分析结果显示，大部分条目集中于角质层和细胞壁的分解代谢相关通路。有研究表明，胶原蛋白和糖胺聚糖是细胞外基质（ECM）的主要成分，对维持线虫角质层结构完整性起关键作用[27−28]；而角质层完整性的提升可显著增强线虫对环境胁迫的抵抗力[29]。这一发现与 BI_Y46 能够增强线虫热应激生存能力的实验结果高度吻合。值得注意的是，内肽酶作为水解蛋白质内部肽键的关键酶，不仅可通过清除角质层中受损或错误折叠的蛋白质来维持细胞外基质的平衡[30]，

还能激活线虫的先天免疫系统以降解外源病原体，从而抵御致病菌入侵[31]。综合上述结果可知，BI_Y46 通过调控角质层动态平衡来维持细胞外基质稳定性，进而提升线虫的综合应激抗性。

KEGG 富集分析显示，药物代谢-细胞色素 P450 是显著富集的代谢通路之一。细胞色素 P450 酶作为血红素结合蛋白超家族成员，在代谢内源性和外源性化合物的过程中发挥重要作用[32]。该酶可将药物、农药及其他环境中的化学物质转化为水溶性更强的形式排除体外，对清除药物和毒素至关重要[33]，此机制与 BI_Y46 显著提升线虫氧化应激抗性的实验结果一致。此外，细胞色素 P450 还参与氧化还原酶活性调节及异源物质代谢[34]，通过维持体内平衡、调节炎症及免疫反应等生理过程发挥关键作用[35]。

RT-qPCR 实验结果与 RNA-seq 分析一致，证实 BI_Y46 组中线虫的应激抗性基因 *gst-2* 显著上调。*gst-2* 是谷胱甘肽 S-转移酶家族的重要成员，通过催化谷胱甘肽与氧化应激产物或外源性毒素的结合反应，帮助细胞清除有害物质，从而维持细胞的氧化还原平衡[36]。

上述结果表明，饲喂 BI_Y46 通过多靶点机制显著增强秀丽隐杆线虫的应激抗性，包括降低 ROS 水平、调控角质层结构、激活内肽酶和先天免疫通路、介导肽聚糖信号通路、调节细胞色素 P450 药物代谢通路以及上调应激抗性基因等。本研究系统阐明了 BI_Y46 在延长线虫寿命和增强应激抗性方面的潜在机制，但仍存在一些局限性，未来需在哺乳动物模型或临床试验中进一步验证。

4 结论

本研究表明，长双歧杆菌婴儿亚种 Y46（BI_Y46）能够有效延长秀丽隐杆线虫的寿命，且其作用机制不依赖于饮食限制。通过评估线虫的运动能力、身体摆动频率、脂褐素积累量、热应激、过氧化氢应激和 ROS 水平，发现 BI_Y46 能够显著延长线虫的健康寿命并增强其应激抗性。RNA-seq 和 RT-qPCR 实验进一步揭示了 BI_Y46 的作用机制，即通过调控角质层的结构完整性和药物代谢途径，促进 *gst-2* 表达，从而增强线虫的应激抗性而延长其寿命。这些发现为益生菌在抗衰老和促进健康领域的应用提供了重要的理论依据，同时也为进一步探索益生菌在延缓衰老中的作用机制奠定了坚实的基础。

© 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] LONGO V D, ANDERSON R M. Nutrition, longevity and disease: from molecular mechanisms to interventions[J]. Cell, 2022, 185(9): 1455−1470.

[2] VALL-GARCIA E, DELGADO-ORTIZ L, ALCOCK L, et al. Aging towards walkable futures: insights from a multidisciplinary workshop held in Barcelona, Spain[J]. BMC Public Health, 2025, 25(1): 195−206.

[3] RAHIMPOUR S, CLARY B L, NASOOHI S, et al. Immunometabolism in Brain aging and neurodegeneration: bridging metabolic pathways and immune responses[J]. Aging and Disease, 2025, 16(1): 1−20.

[4] CANEQUE T, BARON L, MULLER S, et al. Activation of lysosomal iron triggers ferroptosis in cancer[J]. Nature, 2025.

[5] CHUGH B, KAMAL-ELDIN A. Bioactive compounds produced by probiotics in food products[J]. Current Opinion in Food Science, 2020, 32: 76−82.

[6] YU X, WEI M, YANG D, et al. *Lactiplantibacillus plantarum* strain FLPL05 promotes longevity in mice by improving intestinal barrier[J]. Probiotics Antimicro, 2023, 15(5): 1193−1205.

[7] KIM M J, SONG M H, JI Y S, et al. Cell free supernatants of *Bifidobacterium* adolescentis and *Bifidobacterium longum* suppress the tumor growth in colorectal cancer organoid model[J]. Scientific Reports, 2025, 15(1): 935−953.

[8] 孙慧, 肖利红, 何明雪, 等. 利用低聚半乳糖双歧杆菌的筛选及益生特性研究[J]. 中国食品学报, 2023, 23(11): 36−45. [SUN H, XIAO L H, HE M X, et al. Studies on screening and probiotic characterization of *Bifidobacteria* with the ability to utilize galacto-oligogalactosaccharides[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(11): 36−45.]

[9] 裴晋红, 栗学清, 张建斌, 等. 葡萄籽粗多糖的体内外抗氧化作用[J]. 食品科学技术学报, 2022, 40(5): 93−100. [PEI J H, LI X Q, ZHANG J B, et al. Antioxidant effect of crude polysaccharides from grape seeds *in vitro* and *in vivo*[J]. Journal of Food Science and Technology, 2022, 40(5): 93−100.]

[10] 赵娇娇, 司茜媛, 张琨霖, 等. 燕麦 *β*-葡聚糖-槲皮素复合物的制备及其对秀丽隐杆线虫寿命的影响[J]. 食品科学技术学报, 2022, 40(3): 34−42. [ZHAO J J, SI X Y, ZHANG K L, et al. Preparation of complex of oats *β*-glucan and quercetin and its effect on lifespan of *Caenorhabditis elegans*[J]. Journal of Food Science and Technology, 2022, 40(3): 34−42.]

[11] 赵小萌, 龚春淼, 陈树兴, 等. 驼乳免疫球蛋白 G 对秀丽隐杆线虫的抗衰老作用[J]. 食品科学, 2024, 45(22): 112−117. [ZHAO X M, GONG C M, CHEN S X, et al. Anti-aging effects of camel milk immunoglobulin G on *Caenorhabditis elegans*[J]. Food Science, 2024, 45(22): 112−117.]

[12] SUGAWARA T, SAKAMOTO K. Killed *Bifidobacterium longum* enhanced stress tolerance and prolonged life span of *Caenorhabditis elegans* via DAF-16[J]. British Journal of Nutrition, 2018, 120(8): 872−880.

[13] KATO M, HAMAZAKI Y, SUN S, et al. *Clostridium butyricum* MIYAIRI 588 increases the Lifespan and multiple-stress resistance of *Caenorhabditis elegans*[J]. Nutrients, 2018, 10(12): 1921.

[14] GAO Y, LI C, LI J, et al. *Weizmannia coagulans* BC99 alleviates hyperuricemia and oxidative stress via DAF-16/SKN-1 activation in *Caenorhabditis elegans*[J]. Frontiers in Microbiology, 2024, 15: 1−12.

[15] HUANG X, YE Q, DAI W, et al. Cadmium exposure induces multigenerational inheritance of germ cell apoptosis and fertility suppression in *Caenorhabditis elegans*[J]. Environment International, 2024, 191: 108952.

[16] KUMAR A, BARUAH A, TOMIOKA M, et al. *Caenorhabditis elegans*: A model to understand host-microbe interactions[J].

Cellular and Molecular Life Sciences, 2020, 77(7): 1229−1249.
[17] ZHANG J, ZHAO Y, SUN Z, et al. *Lacticaseibacillus rhamnosus* Probio-M9 extends the lifespan of *Caenorhabditis elegans*[J]. Communications Biology, 2022, 5(1): 1139−1155.
[18] OH M, YEOM J, SCHRAERMEYER U, et al. Remofuscin induces xenobiotic detoxification via a lysosome-to-nucleus signaling pathway to extend the *Caenorhabditis elegans* lifespan[J]. Scientific Reports, 2022, 12(1): 7161.
[19] ZHOU B, KREUZER J, KUMSTA C, et al. Mitochondrial permeability uncouples elevated autophagy and lifespan extension[J]. Cell, 2019, 177(2): 299−314.
[20] KIRAN K, SALIM C, PRIYANKA P S, et al. Neuroprotective effect of *Decalepis hamiltonii* aqueous root extract and purified 2-hydroxy-4-methoxy benzaldehyde on 6-OHDA induced neurotoxicity in *Caenorhabditis elegans*[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018, 105: 997−1005.
[21] 张俊桃, 赵艳梅, 孙天松. 益生菌延长秀丽隐杆线虫寿命分子机制研究进展[J]. 中国食品学报, 2023, 23(2): 365−373.
[HANG J T, ZHAO Y M, SUN T S. Advances in molecular mechanisms of probiotics extending the lifespan of *Caenorhabditis elegans*[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(2): 365−373.]
[22] ZHAO Y, ZHAO L, ZHENG X, et al. *Lactobacillus salivarius* strain FDB89 induced longevity in *Caenorhabditis elegans* by dietary restriction[J]. Journal of Microbiology, 2013, 51(2): 183−188.
[23] HU R, ZHANG Y, QIAN W, et al. *Pediococcus acidilactici* promotes the longevity of *C. elegans* by regulating the insulin/IGF-1 and JNK/MAPK signaling, fat accumulation and chloride ion[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 821685.
[24] RIVIERE A, SELAK M, LANTIN D, et al. Bifidobacteria and butyrate-producing colon bacteria: Importance and strategies for their stimulation in the human gut[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 979−999.
[25] KUMAR A, SAHA M K, KUMAR V, et al. Heat-killed probiotic *Levilactobacillus brevis* MKAK9 and its exopolysaccharide promote longevity by modulating aging hallmarks and enhancing immune responses in *Caenorhabditis elegans*[J]. Immunity & Ageing, 2024, 21(1): 52−77.
[26] WU J S, LIN C G, JIN C L, et al. *Planococcus maritimu* ML1206 strain enhances stress resistance and extends the lifespan in *Caenorhabditis elegans* via FOXO/DAF-16[J]. Marine Drugs, 2023, 21(1): 1−15.
[27] LEE K E, CHO J H, SONG H O. Calcium-binding protein CALU-1 is essential for proper collagen formation in *Caenorhabditis elegans*[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2025, 82(1): 62−83.
[28] HAYES A J, MELROSE J. Neural tissue homeostasis and repair is regulated via CS and DS proteoglycan motifs[J]. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2021, 9: 696640.
[29] KOTOWSKA A M, HIRAMATSU F, ALEXANDER M R, et al. Surface lipids in nematodes are influenced by development and species-specific adaptations[J]. Journal of the American Chemical Society, 2025, 147(8): 6439−6449.
[30] PENG F, ZOU Y, LIU X, et al. The murein endopeptidase MepA regulated by MtrAB and MprAB participate in cell wall homeostasis[J]. Research in Microbiology, 2024, 175(5−6): 104188.
[31] ENGELMANN I, PUJOL N. Innate immunity in *C. elegans*[M]. New York: Invertebrate Immunity. 2010: 105−121.
[32] LIM S Y M, AL BISHTAWI B, LIM W. Role of cytochrome P450 2C9 in COVID-19 treatment: current status and future directions[J]. European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, 2023, 48(3): 221−240.
[33] LARIGOT L, MANSUY D, BOROWSKI I, et al. Cytochromes P450 of *Caenorhabditis elegans*: implication in biological functions and metabolism of xenobiotics[J]. Biomolecules, 2022, 12(3): 342−356.
[34] LIM S Y M, LIM W, PETER A P, et al. *Caenorhabditis elegans* CYP33 family in eicosanoid regulation, xenobiotic metabolism, nanotoxicity and spermatogenesis[J]. Journal of Applied Toxicology, 2024, 45(5): 714−720.
[35] ABDELMONEM B H, ABDELAAL N M, ANWER E K E, et al. Decoding the role of CYP450 enzymes in metabolism and disease: a comprehensive review[J]. Biomedicines, 2024, 12(7): 1467−1481.
[36] NICKOVIC V P, MIRIC D, KISIC B, et al. Oxidative stress, NOx/L-arginine ratio and glutathione/glutathione S-transferase ratio as predictors of "sterile inflammation' in patients with alcoholic cirrhosis and hepatorenal syndrome type II[J]. Renal Failure, 2018, 40(1): 340−349.