



鼠乳杆菌 ZNL-13 对环磷酰胺诱导犬免疫抑制的效果观察

董奕含^{1,2}, 姚忍鑫¹, 贾海涛¹, 王海阳¹, 张璐瑶¹, 谢雨珊¹, 王翰雨¹, 张建涛^{1,2*}

(1. 东北农业大学动物医学院, 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江省动物疾病致病机制与比较医学重点实验室, 哈尔滨 150030)

摘要: 环磷酰胺(cyclophosphamide, CTX)是临床中常用的犬肿瘤治疗药物,存在较强的免疫抑制作用,会造成犬免疫功能降低,同时改变犬肠道菌群稳态进而继发其他疾病。鼠乳杆菌(*Lactobacillus murinus*, *L. murinus*)目前已被明确报道具有调节免疫细胞活性和保护胃肠道系统的功能,展现出作为临床功能性食品添加剂的潜力。从健康犬新鲜粪便中筛选出一株益生特性最佳的鼠乳杆菌 ZNL-13 进行后续试验。本研究旨在探究犬源鼠乳杆菌 ZNL-13 对 CTX 诱导的犬免疫功能低下的干预效果以及肠道菌群的影响。使用犬血清学和粪便 16S rRNA 测序进行分析。结果显示,与 CTX 组相比,预防性饲喂鼠乳杆菌 ZNL-13 可以显著改善犬白细胞、淋巴细胞降低等趋势($P < 0.05$),缓解肝肾损伤和氧化应激水平($P < 0.05$),降低血清中 DAO、D-LA 水平增强肠道功能($P < 0.01$),改善血清中 IgG 以及免疫细胞因子显著降低的趋势($P < 0.05$)。同时增加了 *Blautia_A*、*Holdemanella* 和 *Peptacetobacter* 等有益菌的含量,恢复肠道菌群稳态。综上所述,鼠乳杆菌 ZNL-13 可以有效升高 CTX 造成的免疫细胞数减少,降低机体氧化应激水平,保护肠道屏障功能,调节肠道菌群结构,从而缓解 CTX 造成的犬免疫功能低下,为其作为一种新型功能性食品的发展提供了研发思路。

关键词: 鼠乳杆菌;免疫抑制;肠道菌群

中图分类号: S852.4

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2026)02-1110-14

Evaluation of the Effects of *Lactobacillus murinus* ZNL-13 on Cyclophosphamide-Induced Immunosuppression in Dogs

DONG Yihan^{1,2}, YAO Renxin¹, JIA Haitao¹, WANG Haiyang¹, ZHANG Luyao¹, XIE Yushan¹,
WANG Hanyu¹, ZHANG Jiantao^{1,2*}

(1. College of Veterinary Medicine, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China;

2. Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Pathogenic Mechanism for Animal Disease and Comparative Medicine, Harbin 150030, China)

Abstract: Cyclophosphamide (CTX) is a widely used chemotherapeutic agent for treating canine tumors; however, its potent immunosuppressive effects can impair immune function and disrupt gut microbiota homeostasis, increasing the risk of secondary complications. *Lactobacillus murinus* (*L. murinus*) has been reported to modulate immune cell activity and protect the gastrointestinal tract, highlighting its potential as a functional food additive. In this study, a probiotic strain with optimal characteristics, *L. murinus* ZNL-13, was isolated from the fresh feces of healthy dogs. The aim was to evaluate the effects of this canine-derived strain on CTX-induced immunosuppression and gut

收稿日期: 2025-05-22

基金项目: “十四五”国家重点研发计划项目(2023YFD1801100)

作者简介: 董奕含, 主要从事动物微生态制剂开发研究, E-mail: dongyh013@163.com

* 通信作者: 张建涛, 主要从事动物普通病诊断与防控技术研究, E-mail: zhangjiantao@neau.edu.cn

microbiota dysbiosis in dogs. Serum immune parameters and fecal 16S rRNA sequencing were used for analysis. Results showed that prophylactic administration of *L. murinus* ZNL-13 significantly improved CTX-induced reductions in white blood cells and lymphocytes ($P < 0.05$), alleviated liver and kidney injury, reduced oxidative stress ($P < 0.05$), and enhanced intestinal barrier function by lowering serum levels of DAO and D-lactic acid ($P < 0.01$). In addition, *L. murinus* ZNL-13 mitigated the CTX-induced decline in serum IgG and key immune cytokines ($P < 0.05$), increased the abundance of beneficial gut bacteria, and restored microbial homeostasis. Meanwhile, the levels of beneficial bacteria such as *Blautia_A*, *Holdemanella*, and *Peptacetobacter* were increased, contributing to the restoration of gut microbiota homeostasis. In conclusion, *L. murinus* ZNL-13 effectively counteracts CTX-induced immunosuppression, oxidative stress, and gut barrier dysfunction, offering a promising strategy for the development of novel functional food additives to support immune health in dogs.

Keywords: *Lactobacillus murinus*; immunosuppression; gut microbiota

* **Corresponding author:** ZHANG Jiantao, E-mail: zhangjiantao@neau.edu.cn

环磷酰胺(cyclophosphamide, CTX)是目前临床上广泛使用的抗癌药物,常用于白血病、癌症等疾病的治疗^[1]。环磷酰胺(CTX)是一种属于氮芥类的 DNA 烷化剂。它的抗癌活性主要是通过代谢转化为细胞毒性代谢产物磷酰胺芥子来介导的,这种代谢产物会破坏细胞中的 DNA 和蛋白质合成^[2]。CTX 及其代谢产物对胃肠道黏膜具有直接毒性作用,易引发恶心、呕吐等不良反应^[3]。长期使用 CTX 可能会造成免疫抑制,胃肠道屏障受损,泌尿系统毒性,生殖系统毒性,限制了其在兽医临床上的应用范围^[4-5]。此外有研究表明 CTX 会破坏肠道菌群平衡,促进有害菌的定殖,扰乱机体微生物稳态,进而继发其他疾病^[6]。目前临床对 CTX 造成的副作用常采取对症疗法,进行止吐、补液、生长因子支持疗法。近年来,越来越多的具有免疫调节的功能性食品出现,给减轻化疗药物的副作用提供了新思路,缓解了化疗药物对机体的不良影响^[7-8]。因此,寻找安全有效的免疫调节剂是缓解化疗药物副作用的关键途径。

益生菌制剂具有抗氧化、抗菌、增加生长性能、调节免疫功能,维持机体肠道菌群稳态等功能,是目前作为免疫疾病治疗的热点选择^[9]。同时它们在肠道的大规模定殖持续消耗氧气,会形成厌氧环境,剥夺病原菌的氧气从而降低致病菌的繁殖能力,调节肠道菌群环境^[10]。先前的研究表明,植物乳杆菌已被证实可以刺激淋巴细胞反应增加抗炎因子的分泌,增强肠道屏障功能,发挥免疫调节作用,缓解机体免疫功能低下^[11-13]。热灭活的罗伊

氏黏液乳杆菌 PSC102(*Limosilactobacillus reuteri*)增加了白细胞、淋巴细胞等,为造血提供支持,且显著刺激 IgG、T 淋巴细胞亚群的增加,是治疗免疫抑制性疾病的潜在治疗剂^[14]。相比之下,鼠乳杆菌可以增加 M2 巨噬细胞的比例,调节免疫细胞活性,促进 IL-10 的释放,改善机体免疫功能^[15-16]。同时激活 AHR 调节 Th17/Treg 失衡,显著降低例如致病菌的埃希氏菌-志贺菌属的相对丰度,进而维护肠道菌群稳态^[17-19]。目前,鼠乳杆菌在调节免疫细胞活性,抗炎,修复肠道菌群稳态均被报道具有显著效果。因此,本研究为进一步探究鼠乳杆菌的免疫调节效果,以及对 CTX 在犬临床使用中造成的免疫抑制具有一定的缓解作用提供了支持,并为鼠乳杆菌制剂的开发提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 比格犬 18 只,2~4 岁,购自哈尔滨市双城区新兴镇见林养殖场,饲养在温度(18~22℃)和湿度(40%~70%)相对稳定,昼夜交替照明 12 h 的普通级动物饲养室。参照实验动物福利与伦理制度要求进行饲养,自由采食、饮水,每天有专业饲养员打扫犬舍。所有试验均经东北农业大学实验动物伦理委员会(NEAUEC202303126)批准。

1.1.2 试验菌株 鼠乳杆菌 ZNL-13 是由东北农业大学兽医外科教研室分离、保存菌种,分离自警犬基地的健康警犬。试验菌株 37℃ 静置培养

14 h 后进行饲喂。试验菌株应采用 Modified Rogosa and Sharp (MRS) 液体培养基将乳酸菌菌株活化三次, 获得最佳细菌活性状态后进行后续试验。

1.2 分组与模型制备

适应环境预饲喂 7 d 后开始试验。将犬随机分为 3 组, 每组 6 只, 即对照组 (C 组), 环磷酰胺模型组 (CTX 组), 鼠乳杆菌 ZNL-13 预防性饲喂组 (LM 组)。第 1~21 天 C 组、CTX 组灌胃生理盐水 $10 \text{ mL} \cdot \text{d}^{-1}$, LM 组鼠乳杆菌 ZNL-13 灌胃 $10 \text{ mL} \cdot \text{d}^{-1}$ 剂量为 $1 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$, 第 17 天 CTX 组和 LM 组每天饲喂环磷酰胺片剂 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 连续饲喂 5 d, 末次给药后 24 h 采集血液和粪便。在试验完成后对试验犬给予一定的治疗。

1.3 犬体重及临床症状观察

每 7 d 称取犬空腹状态下体重, 并记录。饲喂药物后观察犬的临床表现, 如精神状态、饮食、呕吐、排便等情况, 并根据 Todd 等^[20]和 Mason 等^[21]的方法设定评分表对犬临床症状评分 (表 1)。

表 1 临床症状评分表

Table 1 Clinical Symptom Scoring Scale

临床表现 Clinical manifestations	评分 Score
无明显变化	0
精神沉郁, 食欲减退	1~2
精神萎靡, 食欲不振	3~4
精神重度萎靡伴随共济失调等神经症状, 食欲废绝呕吐, 便血	5

1.4 血常规指标测定

末次给药后 24 h, 空腹采集犬静脉血液置于 EDTA-K2 抗凝管, 使用全自动血液学分析仪 (深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司) 检测白细胞总数 (WBC)、淋巴细胞总数 (LYM)、中性粒细胞数量 (NEU)。

1.5 生化指标测定

末次给药后 24 h, 空腹采集犬静脉血液置于无添加剂真空采血管中, 4°C 静置 2 h, 将血液 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 收集血清, 置于 -80°C 条件下冻存待测。应用全自动生化分析仪检测犬血清总蛋白 (TP)、尿素氮 (BUN)、肌酐 (Cr)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 的含量。

1.6 氧化应激指标测定

从 -80°C 取出血清置于冰上解冻, 按照生化试剂盒 (南京建成科技有限公司) 说明, 检测犬血清中丙二醛 (MDA) 的含量、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 的活性。使用酶标仪分别在 532、405、450 nm 检测吸光度, 计算犬血清相关指标浓度。

1.7 犬肠道功能、免疫球蛋白、免疫细胞因子指标测定

从 -80°C 取出血清置于冰上解冻, 使用 ELISA 检测试剂盒, 按照说明检测犬血清二胺氧化酶 (DAO)、D-乳酸 (D-LAC)、白细胞介素-2 (IL-2)、白细胞介素-4 (IL-4)、白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-10 (IL-10)、免疫球蛋白 G (IgG) 浓度。酶标仪在 450 nm 进行吸光度检测, 使用标准品 OD 值绘制标准曲线, 换算出犬血清相关指标浓度。

1.8 犬粪便菌群检测

根据 E. Z. N. A.® soil DNA kit (Omega Bio-tek, Norcross, GA, U. S.) 说明书, 提取微生物群落总 DNA。使用上游引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和下游引物 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 进行 16S rRNA 基因 V3-V4 区域的 PCR 扩增。使用 NEXTFLEX® Rapid DNA-Seq Kit 对纯化产物进行建库。利用 Illumina PE300/PE250 平台进行测序。随后, 利用 UPARSE v7.1 软件从质量控制拼接后的序列中操作分类单位 (OTU) 进行聚集, 并去除嵌合体。然后在不同的分类水平上确定每个样本的群落组成。根据测序读数和 OTU 水平, 分析小鼠粪便的微生物多样性。

1.9 统计与分析

试验结果采用 GraphPad Prism 9.5 软件进行统计分析。采用 one-way ANOVA 分析结果统计学差异, 利用 Tukey's post-hoc test 进行组间比较进行分析。差异显著性以 * $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ 、*** $P < 0.001$ 或 **** $P < 0.0001$ 来表示。试验结果用“平均值 $\pm$ 标准误 ($\bar{x} \pm s_x$)”表示。

2 结 果

2.1 鼠乳杆菌 ZNL-13 对犬体重及临床表现的影响

体重数据显示, 在整体试验过程前 17 d 各组犬体重呈平稳上升趋势, 第 17 天对 CTX 组与 LM 组进行 CTX 给药后, CTX 组与 LM 组体重呈现下降

趋势。第 21 天体重相比于 C 组,CTX 组呈现极显著降低,饲喂鼠乳杆菌 ZNL-13 缓解了这一趋势,如图 1 所示。此外 CTX 给药后,CTX 组和 LM 组犬均出现不同程度的临床表现,各组犬临床症状评分如表 2。CTX 给药第 5 天时,CTX 组有 1 只犬出现食

欲废绝,四肢无力无法站立情况,该犬在试验完成后给予了一些紧急治疗,但最终于试验结束后第 11 天死亡,CTX 组其余犬在试验完成后均进行治疗,最终均恢复正常状态。LM 组后续没有经过治疗,最终都恢复正常。

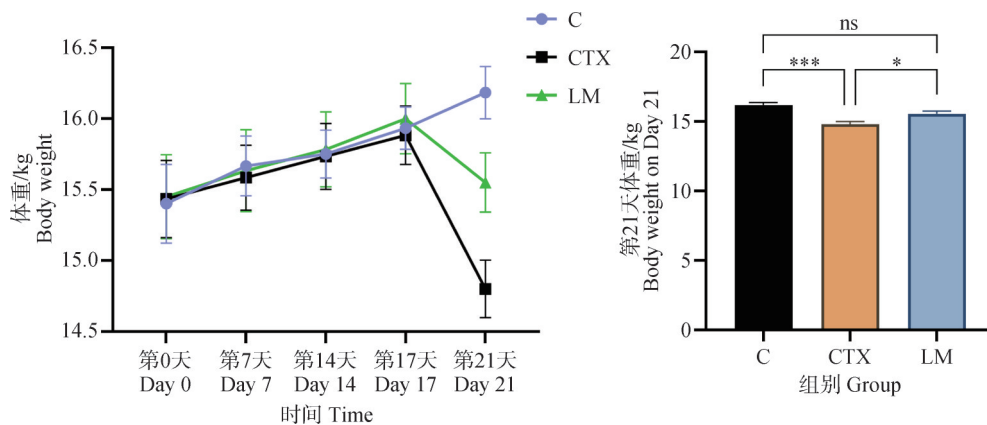
表 2 CTX 给药后各组犬临床症状评分($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Table 2 Clinical symptom scores in each group of dogs after CTX administration ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

时间 Time	组别 Group		
	对照组(C) Control group	环磷酰胺模型组(CTX) Cyclophosphamide group	鼠乳杆菌 ZNL-13 预防性饲喂组(LM) <i>L. murinus</i> preventive feeding group
第 1 天 Day 1	0.00 $\pm$ 0.00	0.50 $\pm$ 0.22	0.25 $\pm$ 0.17
第 2 天 Day 2	0.00 $\pm$ 0.00	1.33 $\pm$ 0.25**	0.83 $\pm$ 0.28*
第 3 天 Day 3	0.00 $\pm$ 0.00	2.25 $\pm$ 0.31***	1.67 $\pm$ 0.33**
第 4 天 Day 4	0.00 $\pm$ 0.00	3.92 $\pm$ 0.38***	2.92 $\pm$ 0.33***
第 5 天 Day 5	0.00 $\pm$ 0.00	4.67 $\pm$ 0.17****	3.42 $\pm$ 0.42****#

与 C 组比较:*. $P < 0.05$, **. $P < 0.01$, ***. $P < 0.001$ 或 ****. $P < 0.0001$; 与 CTX 组比较: #. $P < 0.05$

Compared with the C group: *. $P < 0.05$, **. $P < 0.01$, ***. $P < 0.001$, ****. $P < 0.0001$; Compared with the CTX group: #. $P < 0.05$



ns. $P > 0.05$; *. $P < 0.05$; ***. $P < 0.001$

图 1 鼠乳杆菌 ZNL-13 对 CTX 导致犬体重降低的影响

Fig. 1 Effects of *L. murinus* ZNL-13 on CTX-induced body weight reduction in dogs

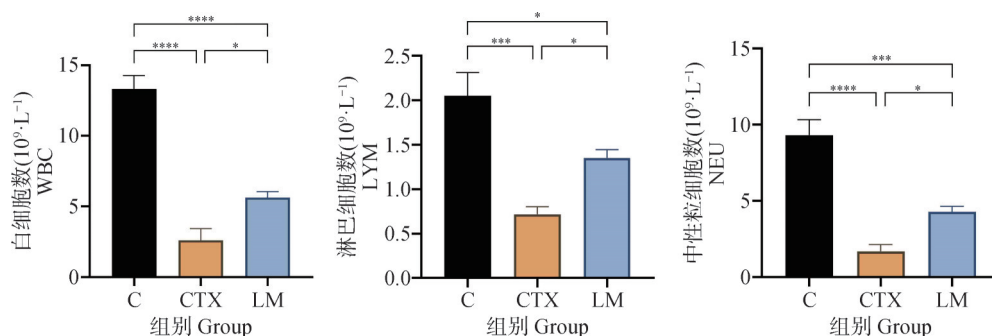
2.2 鼠乳杆菌 ZNL-13 对犬血常规指标的影响

血液学可以直观地反映出机体目前的健康状况。为探究鼠乳杆菌 ZNL-13 对 CTX 血液学的影响,比较了各组血常规指标。如图 2 所示,与 C 组相比,CTX 组白细胞数、淋巴细胞数、中性粒细胞数均极显著降低 ($P < 0.001$ 或 $P < 0.0001$),鼠乳杆菌 ZNL-13 预饲喂呈现明显的缓解趋势,且与 CTX 组存在显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.3 鼠乳杆菌 ZNL-13 对犬生化指标的影响

已有文献报道,环磷酰胺会对肝肾造成损伤。临床表现以及血液学的显著变化使本研究进一步探究了鼠乳杆菌 ZNL-13 对环磷酰胺造成肝肾功能

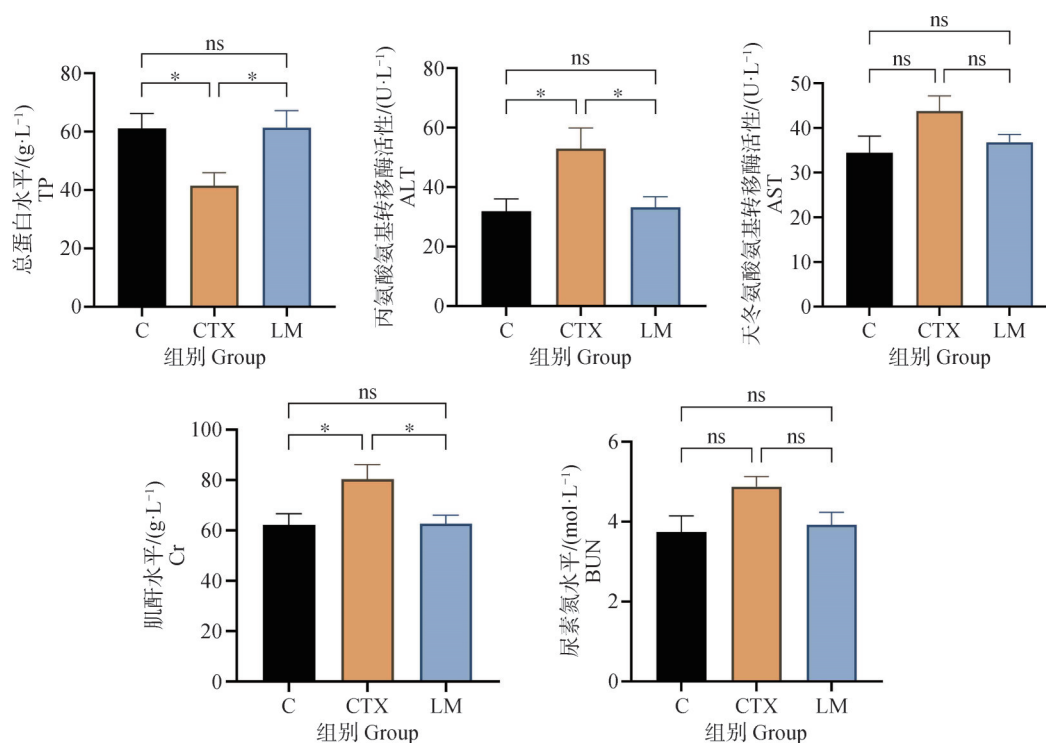
损伤的保护作用。结果如图 3 所示,CTX 组血清总蛋白(TP)水平显著低于 C 组和 LM 组 ($P < 0.05$)。CTX 组丙氨酸氨基转移酶(ALT)活性显著升高 ($P < 0.05$),LM 组呈显著下降趋势 ($P < 0.05$)。另外,天门冬氨酸氨基转移酶(AST)活性三组没有显著性差异 ($P > 0.05$),但 CTX 组呈上调趋势,LM 组缓解了这一情况。为探究对肾脏的保护作用,比较了三组尿素氮(BUN)和肌酐(Cr)水平,与 C 组相比,CTX 组 BUN、Cr 均成升高趋势,而鼠乳杆菌 ZNL-13 预处理会降低 BUN、Cr 的水平,且 Cr 水平存在显著性差异 ($P < 0.05$)。



*, $P < 0.05$; ***, $P < 0.001$; ****, $P < 0.0001$

图2 鼠乳杆菌 ZNL-13 对 CTX 导致犬血常规变化的影响

Fig. 2 Effects of *L. murinus* ZNL-13 on CTX-induced hematological changes in dogs



ns. $P > 0.05$; *, $P < 0.05$

图3 鼠乳杆菌 ZNL-13 对 CTX 导致犬血液生化指标变化的影响

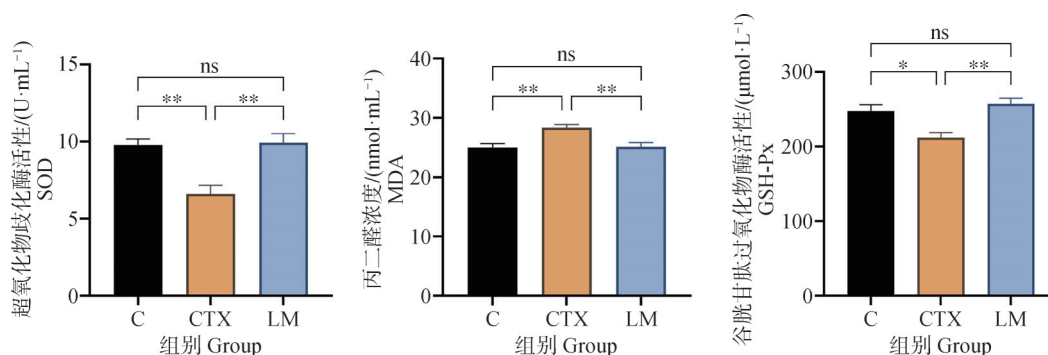
Fig. 3 Effects of *L. murinus* ZNL-13 on CTX-induced changes in blood biochemical parameters in dogs

2.4 鼠乳杆菌 ZNL-13 对犬氧化应激的影响

氧化应激相关结果如图4所示,CTX组SOD活性和GSH-Px活性显著低于C组($P < 0.05$),LM组则呈现相反趋势,且呈现高于C组趋势($P < 0.01$)。表明鼠乳杆菌 ZNL-13 预处理提高了机体氧自由基清除能力。此外相比于C组,CTX组血清MDA浓度极显著升高($P < 0.01$),LM组缓解了这一趋势($P < 0.01$)。以上结果表明鼠乳杆菌 ZNL-13 可以有效缓解犬的脂质过氧化,提高抗氧化能力。

2.5 鼠乳杆菌 ZNL-13 对犬肠道功能指标的影响

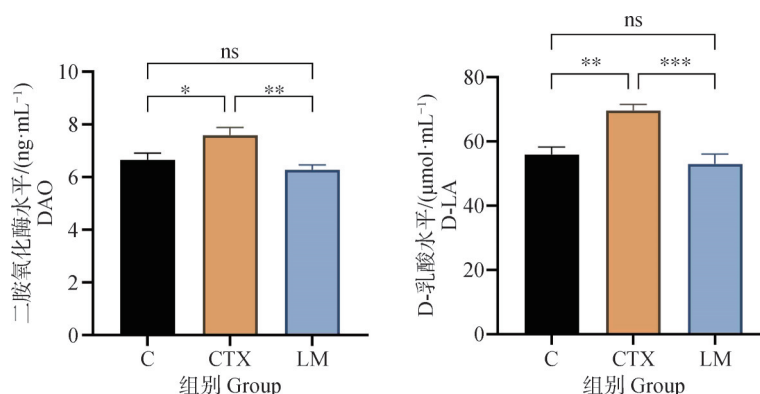
为进一步探究CTX对肠道的损伤作用,以及鼠乳杆菌 ZNL-13 是否对肠道具有保护作用,本研究进行了肠道功能标志物二胺氧化酶(DAO)和D-乳酸(D-LA)的检测。如图5所示,CTX组DAO和D-LA均呈现显著升高趋势($P < 0.05$),表明CTX破坏了肠道黏膜屏障的完整性和功能性,LM组显著缓解了CTX造成肠道黏膜屏障和功能损伤这一情况($P < 0.01$),增强了肠道屏障,改善肠道功能。



ns. $P > 0.05$; *. $P < 0.05$; **. $P < 0.01$

图4 鼠乳杆菌 ZNL-13 对 CTX 导致犬氧化应激损伤的影响

Fig. 4 Effects of *L. murinus* ZNL-13 on CTX-induced oxidative stress injury in dogs



ns. $P > 0.05$; *. $P < 0.05$; **. $P < 0.01$; ***. $P < 0.001$

图5 鼠乳杆菌 ZNL-13 对 CTX 导致犬肠道功能损伤的影响

Fig. 5 Effects of *L. murinus* ZNL-13 on CTX-induced intestinal functional injury in dogs

2.6 鼠乳杆菌 ZNL-13 对犬免疫球蛋白和免疫因子的影响

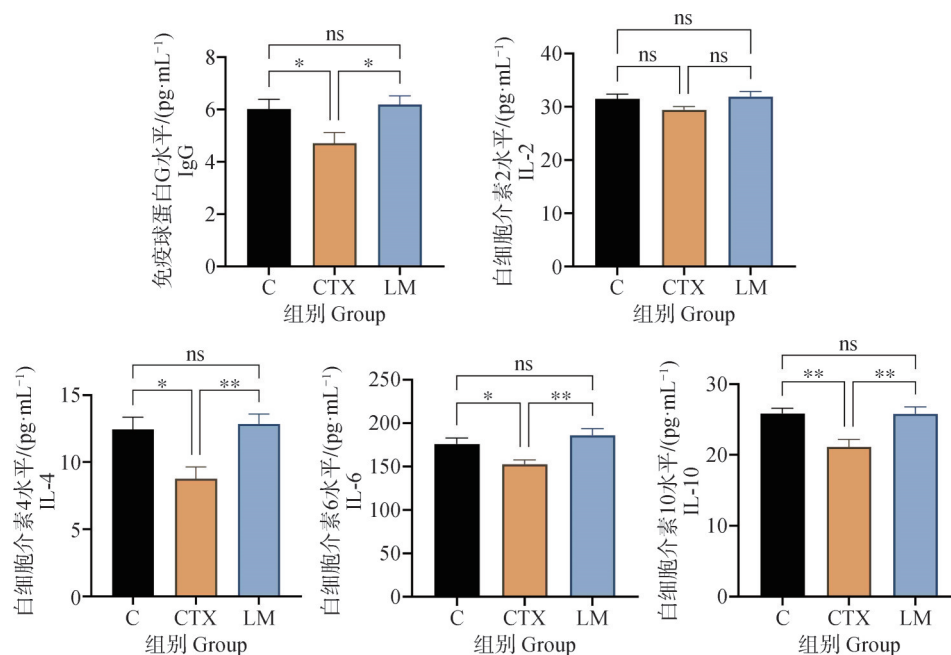
犬血清免疫球蛋白检查结果如图6所示,观察 CTX 犬血清中免疫球蛋白 IgG 显著降低 ($P < 0.05$), LM 组显著改善了这种趋势且存在显著性差异 ($P < 0.05$)。同时检测血清中免疫因子水平, CTX 给药后严重降低了 IL-2、IL-4、IL-6、IL-10 的水平,其中 IL-4、IL-6、IL-10 存在显著性差异 ($P < 0.05$),饲喂鼠乳杆菌 ZNL-13 有明显的缓解趋势,且相比于 CTX 组, LM 组有极显著升高的趋势 ($P < 0.01$)。表明 CTX 存在较强的抑制犬免疫细胞功能的水平,鼠乳杆菌 ZNL-13 有潜在的增强免疫细胞活性促进免疫细胞因子释放的能力。

2.7 鼠乳杆菌 ZNL-13 对犬肠道菌群的影响

采用 16S rRNA 高通量测序探究 CTX 和鼠乳杆菌 ZNL-13 通过粪便样本分析其对犬肠道菌群组成的影响。如图7所示,分类学组成分析显示在门水平上,三组犬粪便样本中优势菌种相似,分别为

Fusobacteriota、Proteobacteria、Actinobacteriota、Bacteroidota、Firmicutes_A 和 Firmicutes_D。CTX 组 Bacteroidota 呈现增多趋势,鼠乳杆菌 ZNL-13 显著增加了 Firmicutes_A、Fusobacteriota、Proteobacteria。从属水平上看, CTX 显著增加了 *Prevotella*、*Limosilactobacillus* 的相对丰度,减少了 *Holdemanella*、*Peptacetobacter* 的相对丰度,预饲喂鼠乳杆菌 ZNL-13 显著抵抗了他们的趋势,同时增加了 *Escherichia*、*Blautia* A、*Phocaeicola* A 的丰度。微生物 Alpha 多样性分析显示,各组在 Chao1、simpson、shannon、Pielou_e、observed_species、Faith_pd、Goods_coverage 指数均存在显著差异 ($P < 0.05$)。利用主坐标分析 (PCOA) 对各组样本群落进行 Beta 多样性分析。结果显示 CTX 与鼠乳杆菌 ZNL-13 显著改变了原有肠道微生物群落组成。

如图 8A 所示, Venn 图反映了 3 组的菌群构成的特有 OTU 和共有 OTU, 其中 3 组共有 OUT 数目为 6.61%。LM 组标志性差异物种较为广泛,侧面



ns. $P > 0.05$; *. $P < 0.05$; **. $P < 0.01$

图6 鼠乳杆菌 ZNL-13 对 CTX 导致犬免疫球蛋白和免疫因子变化的影响

Fig. 6 Effects of *L. murinus* ZNL-13 on CTX-induced changes in immunoglobulins and immune factors in dogs

反映了预饲喂鼠乳杆菌 ZNL-13 可以增加菌群结构的丰富性。为将差异物种可视化,进行物种组成热图分析,如图 8B 所示。同时为探究不同组间已经具有显著差异的 ASV,是否在不同分类学水平上具有富集趋势,通过 MetagenomeSeq 分析和随机森林分析(ROC)进一步寻找显著差异性物种及标志性物种。如图 8C 和 D 所示,对 HLM 组与 HCTX 组进行 MetagenomeSeq 分析,结果显示相比于 HCTX 组, HLM 组在 Firmicutes、Actinobacteriota 中正相关的分类水平更集中。主要为 Lachnospirales、Peptostreptococcales、Mycobacteriales、Erysipelotrichales。随机森林分析显示,从上到下菌种对模型影响的重要程度依次递减, Dwaynesavagella、Faecalimonas、GCA-900066495、Dorea_A、Bifidobacterium 为模型中排名前 5 的菌种。其中 Dwaynesavagella、Faecalimonas、GCA-900066495 在 HLM 组中为差异显著的标志性菌种, Dorea_A 在 HLM 和 HCTX 组中均存在较高相关性, Bifidobacterium 为 HCTX 组的特有标志性菌种。在随机森林分析中, Peptacetobacter 在对照(HC)组中丰度中等偏高,在 CTX(HCTX)组显著下降,鼠乳杆菌 ZNL-13 治疗(HLM)组中其丰度恢复至接近或高于健康水平,提示其可能与肠道微生态健康维持及治疗响应相关。

3 讨论

环磷酰胺是目前抗癌治疗,自身免疫性疾病的主要药物,长期服用可导致犬体重迅速下降,诱导活性氧(ROS)的产生,导致脂质过氧化,损伤肝肾等器官^[22]。此外 CTX 还可侵害免疫器官,抑制细胞和体液免疫反应,破坏肠道菌群平衡,进而继发其他疾病^[23]。益生菌有较好的调节免疫功能的作用,目前研究表明,长期食用约氏乳杆菌可以促进 M2 巨噬细胞极化,促进 IL-10 的分泌,调节机体免疫功能^[24]。罗伊氏黏液乳杆菌可以调节体内辅助性 T 细胞的比例,缓解利妥昔单抗造成的免疫抑制效应^[25]。此外本研究使用犬源益生菌优势在于同源菌种与宿主生物相容性更佳,并且犬源提取可增强菌株在肠道适应性,促进存活率。本研究结果表明,预防性给药鼠乳杆菌 ZNL-13 显著缓解了 CTX 造成的犬体重降低,减轻了临床症状并提高了犬的存活率。

血液学是衡量机体健康状态的直观指标。在机体新陈代谢、体内外循环中扮演着重要的角色。白细胞是机体免疫系统的重要组成部分也是临床鉴别诊断的重要依据,负责识别和消灭病原体,白细胞数过低会使机体对病毒及细菌的抵抗能力降低,增加致病风险。CTX 给药后,严重抑制了机体

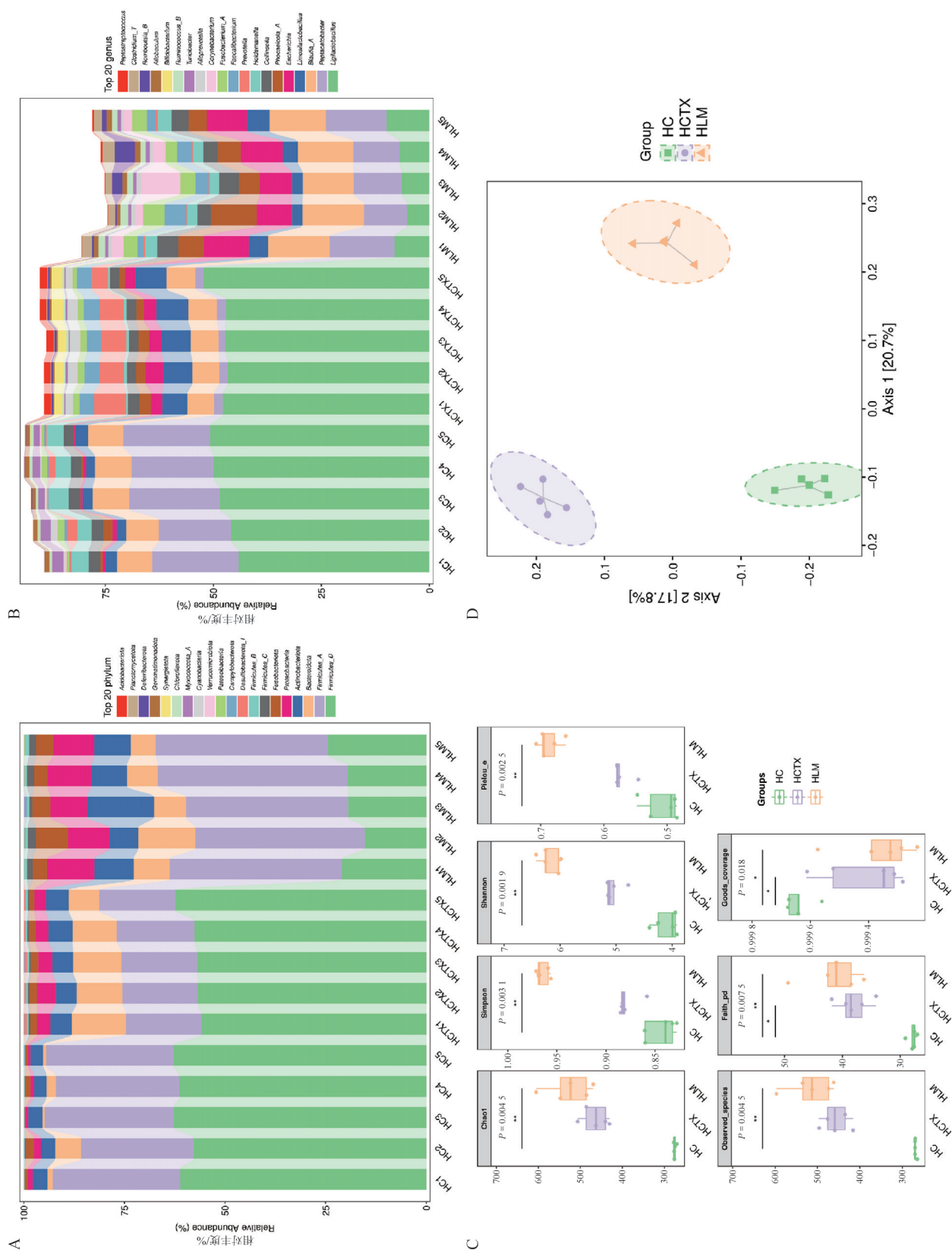


图 7 鼠乳杆菌 ZNL-13 对 CTX 导致犬肠道微生物结构组成变化的影响

Fig. 7 Effects of *L. murinus* ZNL-13 on CTX-induced alterations in the intestinal microbial composition in dogs

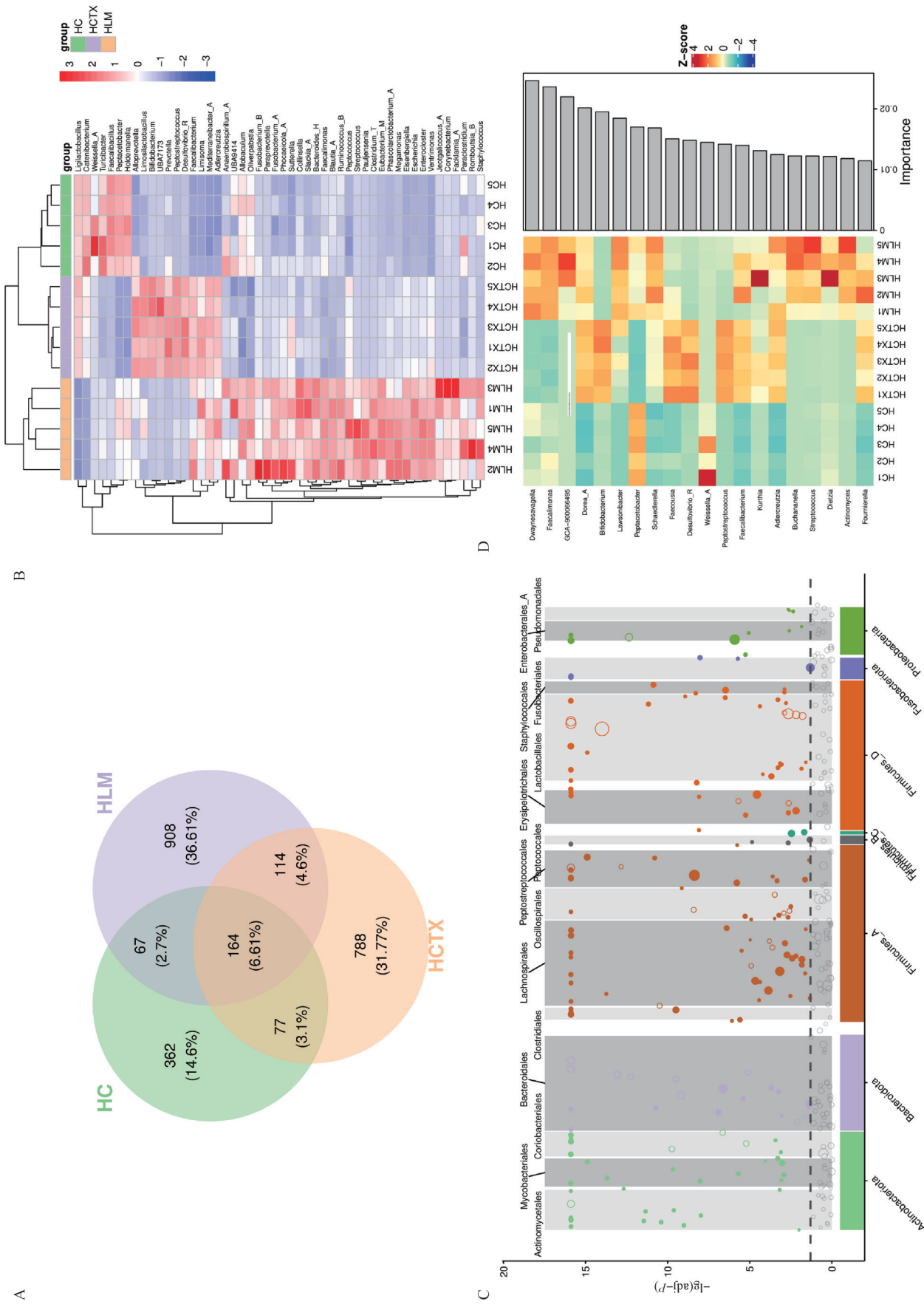


图 8 鼠乳杆菌 ZNL-13 对 CTX 导致犬肠道微生物标志物多样性变化的影响
Fig. 8 Effect of pretreatment with *L. murinus* ZNL-13 on changes in alpha diversity of intestinal microbiota in dogs induced by CTX

的正常免疫功能,导致 WBC、LYM、NEU 显著下调,而预饲喂鼠乳杆菌 ZNL-13 组呈现明显缓解趋势,表明鼠乳杆菌 ZNL-13 具有潜在的激活免疫细胞活性的功能。在血清生化指标中,TP 具有维持胶体渗透压、解毒、营养、免疫等多种功能,代表着血清中白蛋白和球蛋白含量,间接反映着动物对蛋白质的吸收水平^[26]。TP 过低可能提示肝肾综合征、肠道营养吸收障碍等消耗性疾病^[27-28]。同时 AST 是肝脏疾病的重要诊断指标之一,平时主要分布于心脏、线粒体、以及肝脏组织中,当肝组织受到损伤时,血清中该浓度会显著升高^[29]。同时肝脏细胞受损或肝细胞膜通透性增加时,ALT 水平也会明显升高^[30]。BUN 通常由肾脏排出,是一种蛋白质代谢产物,同时也作为肾小球滤过功能的评估指标^[31]。BUN/Cr 比值也反映了肾功能状态和血液循环状态之间的关系。CTX 给药后 TP 显著下降,ALT、AST、Cr、BUN 均成显著上升趋势,提示犬肝脏代谢功能异常同时肾小球功能受到损伤。已有报道表明 CTX 给药会影响机体对蛋白质等营养物质的吸收能力,同时造成肝肾损伤,植物乳植杆菌 KLDS1.0318 预处理会有效缓解 CTX 导致的肝肾毒性^[32]。本研究与此相一致,LM 组对这些指标存在缓解趋势,表明鼠乳杆菌 ZNL-13 对 CTX 给机体带来的损伤具有一定的缓解作用。

氧化应激是 CTX 诱导的损伤的主要作用机制之一,有大量证据可以表明 CTX 诱导可以引发机体的氧化应激^[33-34]。有研究指出,机体抗氧化状态在维持肉鸡肠道屏障完整性方面起着重要作用。尽管关于鼠乳杆菌抗氧化应激能力的研究有限,但大量乳酸菌的抗氧化应激能力已被广泛报道,例如饲料中补充罗伊氏黏液乳杆菌可以通过清除自由基增强机体的抗氧化能力,提高肉鸡血清 SOD 和 GSH-Px 的活性,降低血清 MDA 浓度^[35]。MDA 可判断氧自由基的水平、脂质过氧化强度。相反 SOD 活性常用于反应机体清除氧自由基的能力。而 GSH-PX 可以催化还原性谷胱甘肽(GSH)转化为氧化型谷胱甘肽,清除体内的过氧化物,可以反映机体对自由基损伤的防御能力。You 等^[36]研究表明,CTX 可以对机体造成氧化应激损伤,同时植物乳植杆菌 P101 可以显著逆转其损伤。结果表明,鼠乳杆菌 ZNL-13 有效降低了 MDA 含量,升高了 SOD 和 GSH-PX 活性,表明鼠乳杆菌 ZNL-13 有效逆转了 CTX 造成的氧化应激损伤。已有研究表明,

CTX 会对肠道造成损伤,增加肠道通透性,破坏肠道黏膜结构完整性和功能^[37]。当肠黏膜细胞坏死并脱落到管腔和血液中时,D-乳酸穿透肠壁进入血液,血液循环中 DAO 和 D-乳酸水平增加。肠道黏膜结构和功能障碍会增加细菌毒素等有害物质的侵入风险,这也是许多肠道疾病的关键致病机制^[38]。笔者观察到 CTX 组的 DAO 和 D-LA 显著升高,然而,鼠乳杆菌 ZNL-13 显著缓解了这种情况。因此,笔者推测预防性食用鼠乳杆菌 ZNL-13 有可能通过增强肠道结构的完整性和通透性增强肠道功能,修复肠粘膜损伤。

研究表明,人体 70%~80% 的免疫细胞聚集在肠道组织内^[39]。细胞因子主要由巨噬细胞和淋巴细胞产生,这两者都在免疫调节和炎症反应中起重要作用^[40-41]。免疫球蛋白,也称为抗体,是由 B 淋巴细胞合成的蛋白质,是体液免疫的主要成分。另外免疫功能似乎受到 IL-4 水平的调节,其水平的降低可能导致免疫功能受损^[42]。研究表明,CTX 作为一种免疫调节剂,可以诱导 IL-4 水平降低,从而破坏免疫平衡稳态并导致免疫抑制^[43]。CTX 给药后外周循环中免疫细胞因子 IL-2、IL-4、IL-6、IL-10 和 IgG 水平显著下调,突出了其严重的免疫抑制作用,这与之前研究结果相一致^[37,44]。植物乳植杆菌 KLDS1.0318 可以显著恢复 CTX 降低的细胞因子水平,例如 IL-6 和 TNF- α ^[32]。这与本研究的结果相一致,鼠乳杆菌 ZNL-13 预饲喂后显著增加了 IL-2、IL-4、IL-6、IL-10 的水平,增加免疫相关的细胞因子的表达,另外还包括 IgG。此外有研究发现乳酸菌通过调节免疫相关细胞因子的水平,使免疫系统的定量参数和细胞的功能活性正常化^[45]。因此,笔者推测鼠乳杆菌 ZNL-13 可以刺激免疫细胞因子分泌和转录因子表达,从而恢复小鼠的免疫平衡。

肠道菌群的稳定对犬的生长性能、健康状况和免疫功能至关重要。有报道喂食益生菌可改善犬肠道菌群平衡^[46]。应用多菌株益生菌微生态制剂治疗犬的炎症性肠病,发现乳杆菌数量在犬粪便中明显增多,从而能够缓解疾病的临床症状^[47]。肠道是最易被外来抗原以及微生物影响的主要食物消化器官,也是抵抗病原微生物的第一道防线^[43]。有害的环境可能会诱导肠道氧化和炎症的发生,损害肠道黏膜。研究表明,CTX 会导致肠道绒毛缩短和脱落,进而诱导肠道损伤^[48]。肠道损伤也会引发肠痿,进而引起细菌以及代谢物转移至血液中,对机

体造成不利影响。CTX已被证明可以减少微生物多样性,LM组 Alpha多样性指数均呈上升趋势,鼠乳杆菌 ZNL-13增加了群落的多样性和丰富度,同时保证了群落的均匀性。Beta多样性分析结果表明了CTX显著改变了犬肠道群落结构,预饲喂鼠乳杆菌 ZNL-13会改变这一情况,但与C组存在一定差异。从属水平上观察,CTX组 *Bifidobacterium* 和 *Ligilactobacillus* 丰度升高,有研究表明肠道手术后乳酸菌属会显著增高^[49],笔者推测这与肠道受到物理、化学屏障损伤后,肠道通透性增加导致肠道内大量好氧菌增殖,创造了无氧环境进一步促进乳酸菌这种具有低pH耐受、强氧化还原调节能力的增加,这也与之前的研究结果相一致^[38,50-51]。LM组降低了 *Prevotella* 同时提高了 *Blautia_A*、*Holdemanella*、*Peptacetobacter* 和 *Phocaeicola_A* 的丰度。*Prevotella* 目前已被报道是一种条件致病菌,可以通过结合或附着在上皮细胞等其他细胞上定殖,在以前感染的区域产生更大的感染,同时其丰度也与牙周炎、类风湿性关节炎呈正相关^[52-54]。此外据报道 *Prevotella* 在动物肠道定殖后,能够改变肠道菌群结构,导致肠道内微生物群代谢发生变化,减少 IL-18 生成,加剧肠道损伤,可能发生全身自身免疫^[55]。*Blautia_A* 是一种新型抗高血脂菌种,可改善高脂饮食的代谢^[56]。*Holdemanella*、*Phocaeicola_A* 已被报道可以调节机体的免疫能力,同时改善小鼠葡萄糖耐量和调节胰高血糖素样肽 1 信号,帮助恢复肥胖小鼠肝脏中糖异生和胰岛素信号传导功能^[57-60]。综上所述,鼠乳杆菌 ZNL-13 的预防性饲喂促进了有益细菌的定殖,并恢复了犬 CTX 诱导的肠道微生物群的失衡,这对于维持宿主微生物群的稳定性至关重要。此外从 MetagenomeSeq 分析和随机森林分析(ROC),*Peptacetobacter* 为 LM 组两个分析中得到的标志性菌种,*Peptacetobacter* 已被表明是化疗药物使用后会明确降低的菌种,同时也是调节血糖的营养保健品^[61-62]。这也与本研究结果相一致,在 CTX 组 *Peptacetobacter* 显著减少,LM 组明显的升高。

4 结 论

饲喂鼠乳杆菌 ZNL-13 能够提高犬机体抗氧化能力和免疫功能,减轻肠道屏障损伤和肠道通透性,缓解肝、肾损伤,从而减轻 CTX 导致犬机体损伤的药物副作用,保障犬机体健康。同时鼠乳杆菌

ZNL-13 预处理能够改善 CTX 导致的犬肠道菌群结构的改变,增加犬肠道微生物群落的多样性和丰富度。降低肠道有害菌的丰度,促进有益菌定殖。鼠乳杆菌 ZNL-13 有望成为潜在的犬用益生菌。

参考文献(References):

- [1] EMADI A, JONES R J, BRODSKY R A. Cyclophosphamide and cancer: golden anniversary[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2009, 6(11): 638-647.
- [2] AHMED A R, HOMBAL S M. Cyclophosphamide (Cytoxan). A review on relevant pharmacology and clinical uses[J]. *J Am Acad Dermatol*, 1984, 11(6): 1115-1126.
- [3] XIE H, FANG J, FARAG M A, et al. Dendrobium officinale leaf polysaccharides regulation of immune response and gut microbiota composition in cyclophosphamide-treated mice[J]. *Food Chem X*, 2022, 13: 100235.
- [4] HU N, QU Y, LIU T Y, et al. Immunomodulatory effects and mechanisms of Tiepishihu Xiyangshen granules on cyclophosphamide induced immunosuppression via TLR4/MAPKs and PI3K/AKT/FOXO3a signal pathways[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 307: 116192.
- [5] ZHOU R, HE D, XIE J, et al. The synergistic effects of polysaccharides and ginsenosides from American Ginseng (*Panax quinquefolius* L.) ameliorating cyclophosphamide-induced intestinal immune disorders and gut barrier dysfunctions based on microbiome-metabolomics analysis[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 665901.
- [6] DING Y, YAN Y, CHEN D, et al. Modulating effects of polysaccharides from the fruits of *Lycium barbarum* on the immune response and gut microbiota in cyclophosphamide-treated mice[J]. *Food Funct*, 2019, 10(6): 3671-3683.
- [7] OU Z, ZHU L, HUANG C, et al. Betulinic acid attenuates cyclophosphamide-induced intestinal mucosa injury by inhibiting the NF- κ B/MAPK signalling pathways and activating the Nrf2 signalling pathway[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, 225: 112746.
- [8] ZHAO F, MA T, ZHANG X, et al. Holothuria leucospilota polysaccharides improve immunity and the gut microbiota in cyclophosphamide-treated immunosuppressed mice[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2023, 67(8): e2200317.

- [9] YANG F, LI X, SUN J, et al. Regulatory mechanisms of the probiotic-targeted gut-liver axis for the alleviation of alcohol-related liver disease: a review[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2025, 65(30):6963-6984.
- [10] XIE J H, FAN S T, NIE S P, et al. *Lactobacillus plantarum* NCU116 attenuates cyclophosphamide-induced intestinal mucosal injury, metabolism and intestinal microbiota disorders in mice[J]. *Food Funct*, 2016, 7(3):1584-1592.
- [11] ZHANG N, TIAN Y, WANG Y, et al. Ameliorative effect of *Lactobacillus plantarum* Lp2 against cyclophosphamide-induced liver injury in mice [J]. *Food Chem Toxicol*, 2022, 169:113433.
- [12] MIN F, HU J, ZHONG Y, et al. *Lactobacillus plantarum* NCU1125 mitigates intestinal barrier injury induced by cyclophosphamide in mice[J]. *Food Biosci*, 2023, 53:102726.
- [13] ZENG Z, HUANG Z, YUE W, et al. *Lactobacillus plantarum* modulate gut microbiota and intestinal immunity in cyclophosphamide-treated mice model [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 169:115812.
- [14] ALI M S, LEE E B, QUAH Y, et al. Heat-killed *Limosilactobacillus reuteri* PSC102 ameliorates impaired immunity in cyclophosphamide-induced immunosuppressed mice [J]. *Front Microbiol*, 2022, 13:820838.
- [15] HU J, DENG F, ZHAO B, et al. *Lactobacillus murinus* alleviate intestinal ischemia/reperfusion injury through promoting the release of interleukin-10 from M2 macrophages via Toll-like receptor 2 signaling[J]. *Microbiome*, 2022, 10(1):38.
- [16] FAN J, ZHANG Y, ZUO M, et al. Novel mechanism by which extracellular vesicles derived from *Lactobacillus murinus* alleviates deoxynivalenol-induced intestinal barrier disruption[J]. *Environ Int*, 2024, 185:108525.
- [17] ZHU Y, TAO X, YAN T, et al. *Lactobacillus murinus* alleviated lung inflammation induced by PAHs in mice [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2024, 281:116662.
- [18] CHEN H T, LI J S, LI J, et al. *Lactobacillus murinus*: A key factor in suppression of enterogenous *Candida albicans* infections in compound agrimony enteritis capsules-treated mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 311:116361.
- [19] 陈晓瑜, 陈 峰, 张晨虹. 一株节食小鼠肠道优势鼠乳杆菌加速DSS致慢性结肠炎恢复[J]. 基因组学与应用生物学, 2021, 40(2):855-866.
- CHEN X Y, CHEN F, ZHANG C H. One *Lactobacillus murinus* strain that isolated from calorie-restricted mice gut accelerated the remission of DSS-induced chronic colitis [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2021, 40(2):855-866. (in Chinese)
- [20] TODD J, THOMAS P, NGUYEN S. Cyclophosphamide and prednisolone for chemotherapy naïve B cell multicentric lymphoma in dogs: 32 cases (2017-2021) [J]. *J Small Anim Pract*, 2022, 63(1):52-55.
- [21] MASON S L, GRANT I A, ELLIOTT J, et al. Gastrointestinal toxicity after vincristine or cyclophosphamide administered with or without maropitant in dogs: a prospective randomised controlled study[J]. *J Small Anim Pract*, 2014, 55(8):391-398.
- [22] YU J, CONG L, WANG C, et al. Immunomodulatory effect of Schisandra polysaccharides in cyclophosphamide-induced immunocompromised mice [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(6):4755-4762.
- [23] MENG M, WANG H, LI Z, et al. Protective effects of polysaccharides from *Cordyceps gunnii* mycelia against cyclophosphamide-induced immunosuppression to TLR4/TRAF6/NF- κ B signalling in BALB/c mice [J]. *Food Funct*, 2019, 10(6):3262-3271.
- [24] TAO S, FAN J, LI J, et al. Extracellular vesicles derived from *Lactobacillus johnsonii* promote gut barrier homeostasis by enhancing M2 macrophage polarization[J]. *J Adv Res*, 2025, 69:545-563.
- [25] ZHAO B, ZHOU B, DONG C, et al. *Lactobacillus reuteri* alleviates gastrointestinal toxicity of rituximab by regulating the proinflammatory T cells *in vivo* [J]. *Front Microbiol*, 2021, 12:645500.
- [26] CUI L, SHU C, LIU Z, et al. Serum protein marker panel for predicting preeclampsia [J]. *Pregnancy Hypertens*, 2018, 14:279-285.
- [27] 龚细远, 刘丽仙, 李 想, 等. 不同比例红花秸秆饲料对肉牛生长性能、血液生理及生化指标的影响[J]. 饲料研究, 2025(8):1-6.
- GONG X Y, LIU L X, LI X, et al. Effects of different proportions of safflower straw diet on growth performance, blood physiological, and biochemical indexes of beef cattle [J]. *Feed Research*, 2025(8):1-6. (in Chinese)
- [28] 杨梦祺, 王 淦, 吴志泓, 等. 桑叶黄酮对肉兔生长性能、肠道组织结构和消化酶活性、营养物质表观消化率及血清生化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2024, 36(10):6665-6672.

- YANG M Q, WANG G, WU Z H, et al. Effects of mulberry leaf flavonoids on growth performance, intestinal tissue structure, digestive enzyme activities, nutrient apparent digestibility and serum biochemical indexes of meat rabbits[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2024, 36(10):6665-6672. (in Chinese)
- [29] 韩思静, 章 阳, 高世娇, 等. 血清 Cys-C、TBA 及血常规指标在乙型肝炎肝硬化失代偿期患者中的应用价值分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2021, 28(6):932-936, 954.
- HAN S J, ZHANG Y, GAO S J, et al. An analysis of the application value of serum Cys-C, TBA and blood routine indexes in patients with decompensated hepatitis B liver cirrhosis [J]. *Labeled Immunoassays and Clinical Medicine*, 2021, 28(6):932-936, 954. (in Chinese)
- [30] 周 慧. 血清 AST、ALT、ALP、 γ -GT 联合检测对肝硬化患者肝功能受损程度的预测价值[J]. 中国卫生工程学, 2025, 24(2):220-221, 224.
- ZHOU H. Predictive value of combined serum AST, ALT, ALP, and γ -GT testing for the severity of liver function impairment in patients with liver cirrhosis[J]. *Chinese Journal of Public Health Engineering*, 2025, 24(2):220-221, 224. (in Chinese)
- [31] 王鑫鹏. 肾功能损伤诊断中血清 Cys-C、Scr、BUN 联合检测的临床价值分析[J]. 生命科学仪器, 2025, 23(2):34-36.
- WANG X P. Clinical value analysis of combined detection of serum Cys-C, Scr and BUN in the diagnosis of renal function injury [J]. *Life Science Instruments*, 2025, 23(2):34-36. (in Chinese)
- [32] MENG Y, WANG J, WANG Z, et al. *Lactobacillus plantarum* KLDS1.0318 ameliorates impaired intestinal immunity and metabolic disorders in cyclophosphamide-treated mice [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10:731.
- [33] DN T, GB J. Ebselen attenuates cyclophosphamide-induced oxidative stress and DNA damage in mice[J]. *Free Radic Res*, 2008, 42(11-12):966-977.
- [34] AKAMO A J, AKINLOYE D I, UGBAJA R N, et al. Naringin prevents cyclophosphamide-induced erythrocytotoxicity in rats by abrogating oxidative stress[J]. *Toxicol Rep*, 2021, 8:1803-1813.
- [35] CHEN H W, YU Y H. Effects of cyclic antimicrobial lipopeptides from *Bacillus subtilis* on growth performance, intestinal morphology, and cecal gene expression and microbiota community in broilers [J]. *Anim Sci J*, 2024, 95(1):e13971.
- [36] YOU T, ZHAO Y, LIU S, et al. *Lactiplantibacillus plantarum* P101 attenuated cyclophosphamide-induced liver injury in mice by regulating the Nrf2/ARE signaling pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(17):13424.
- [37] TIAN J, ZHAO X, TANG C, et al. Protective effect of *Paecilomyces cicadae* TJ11213 exopolysaccharide on intestinal mucosa and regulation of gut microbiota in immunosuppressed mice [J]. *Food Res Int*, 2023, 165:112477.
- [38] HAN Y, ZHANG Y, OUYANG K, et al. Sulfated *Cyclocarya paliurus* polysaccharides improve immune function of immunosuppressed mice by modulating intestinal microbiota [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 212:31-42.
- [39] ZHANG J, ZHOU H C, HE S B, et al. The immunoenhancement effects of sea buckthorn pulp oil in cyclophosphamide-induced immunosuppressed mice [J]. *Food Funct*, 2021, 12(17):7954-7963.
- [40] SUN S, XU X, LIANG L, et al. Lactic acid-producing probiotic *Saccharomyces cerevisiae* attenuates ulcerative colitis via suppressing macrophage pyroptosis and modulating gut microbiota [J]. *Front Immunol*, 2021, 12:777665.
- [41] EMAMI N K, DALLOUL R A. Centennial review: Recent developments in host-pathogen interactions during necrotic enteritis in poultry [J]. *Poult Sci*, 2021, 100(9):101330.
- [42] LIU Y, YANG A, QU Y, et al. Ameliorative effects of *Antrodia cinnamomea* polysaccharides against cyclophosphamide-induced immunosuppression related to Nrf2/HO-1 signaling in BALB/c mice [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 116:8-15.
- [43] WU Y, TANG L, WANG B, et al. The role of autophagy in maintaining intestinal mucosal barrier [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(11):19406-19419.
- [44] PAN X, NIU X, LI Y, et al. Preventive mechanism of lycopene on intestinal toxicity caused by cyclophosphamide chemotherapy in mice by regulating TLR4-MyD88/TRIF-TRAF6 signaling pathway and gut-liver axis [J]. *Nutrients*, 2022, 14(21):4467.
- [45] BOMKO T V, NOSALSKAYA T N, KABLUCHKO T V, et al. Immunotropic aspect of the *Bacillus coagulans* probiotic action [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2017, 69(8):1033-1040.
- [46] 孙攀峰, 肖 杰, 陈海燕. 复合益生菌对幼犬生长性

- 能及血清免疫指标的影响[J]. 中国饲料, 2024, (12): 57-60.
- SUN P F, XIAO J, CHEN H Y. Effects of composite probiotics on growth performance and serum immune indicators in puppies[J]. *China Feed*, 2024, (12): 57-60. (in Chinese)
- [47] ROSSI G, CERQUETELLA M, SCARPONA S, et al. Effects of probiotic bacteria on mucosal polyamines levels in dogs with IBD and colonic polyps: a preliminary study[J]. *Benef Microbes*, 2018, 9 (2): 247-255.
- [48] YING M, YU Q, ZHENG B, et al. Cultured Cordyceps sinensis polysaccharides attenuate cyclophosphamide-induced intestinal barrier injury in mice[J]. *J Funct Foods*, 2019, 62: 103523.
- [49] HARTMAN A L, LOUGH D M, BARUPAL D K, et al. Human gut microbiome adopts an alternative state following small bowel transplantation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(40): 17187-17192.
- [50] CHEN T, SHEN M, YU Q, et al. Purple red rice anthocyanins alleviate intestinal damage in cyclophosphamide-induced mice associated with modulation of intestinal barrier function and gut microbiota[J]. *Food Chem*, 2022, 397: 133768.
- [51] XU X, ZHANG X. Effects of cyclophosphamide on immune system and gut microbiota in mice [J]. *Microbiol Res*, 2015, 171: 97-106.
- [52] WU J, PENG Y, TIAN R, et al. Investigating correlation between gut microbiota and rheumatoid arthritis subtypes by mendelian randomization [J]. *Pathogens*, 2025, 14(4): 385.
- [53] BRITOS M, HERNÁNDEZ M, FERNÁNDEZ A, et al. Bacterial translocation signatures and subgingival microbiome in individuals with periodontitis [J]. *Clin Oral Investig*, 2025, 29(6): 288.
- [54] LIBERTY I A, HANIFAH L, RACHMAT H F, et al. Implication of taxonomic abundance of gut microbiota in prediabetes: a systematic review [J]. *Front Nutr*, 2025, 12: 1577528.
- [55] CHANG J W, HSIEH J J, TSAI C Y, et al. Gut microbiota and clinical response to immune checkpoint inhibitor therapy in patients with advanced cancer[J]. *Biomed J*, 2024, 47(5): 100698.
- [56] HOLLAND B, KARR M, DELFINO K, et al. The effect of the urinary and faecal microbiota on lower urinary tract symptoms measured by the international prostate symptom score: analysis utilising next-generation sequencing [J]. *BJU Int*, 2020, 125 (6): 905-910.
- [57] SCANU M, DEL CHIERICO F, MARSIGLIA R, et al. Correction of batch effect in gut microbiota profiling of ASD cohorts from different geographical origins[J]. *Biomedicines*, 2024, 12(10): 2350.
- [58] KEITEL L, SCHICK B, POHEN G, et al. Online monitored characterization of *Phocaeicola vulgatus* for organic acid production using anaerobic microtiter plate cultivations[J]. *Biotechnol Prog*, 2025, 41(2): e3526.
- [59] ROMANÍ-PÉREZ M, LÓPEZ-ALMELA I, BULLICH-VILARRUBIAS C, et al. *Holdemanella biformis* improves glucose tolerance and regulates GLP-1 signaling in obese mice [J]. *Faseb J*, 2021, 35 (7): e21734.
- [60] ZHANG C, LIANG D, LI X, et al. Characteristics of gut microbial profiles of offshore workers and its associations with diet[J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 904927.
- [61] YUTHARAKSANUKUL P, TANGPROMPHAN P, TUNSAGOOL P, et al. Effects of purified vitexin and iso-vitexin from mung bean seed coat on antihyperglycemic activity and gut microbiota in overweight individuals' modulation [J]. *Nutrients*, 2024, 16(17): 3017.
- [62] ARAGON J, WEBER A M, TIPTON M, et al. Impacts of vincristine and prednisolone chemotherapy on the canine gut microbiota in dogs undergoing treatment for lymphoma[J]. *Vet Comp Oncol*, 2025, 23(3): 388-400.

(编辑 白永平)