

凝结魏茨曼氏菌 BC-G44 对大鼠抗生素相关性腹泻结肠菌群结构、屏障功能及炎症反应的影响

夏紫嫣¹, 郝占西², 韩迪², 赵文轩¹, 汪晶^{1*}

1 南京农业大学 动物科技学院, 国家动物消化道营养国际联合研究中心, 江苏 南京

2 均瑶润盈生物科技(上海)有限公司, 上海

夏紫嫣, 郝占西, 韩迪, 赵文轩, 汪晶. 凝结魏茨曼氏菌 BC-G44 对大鼠抗生素相关性腹泻结肠菌群结构、屏障功能及炎症反应的影响[J]. 微生物学报, 2025, 65(3): 1162-1180.

XIA Ziyao, HAO Zhanxi, HAN Di, ZHAO Wenxuan, WANG Jing. *Weizmannia coagulans* BC-G44 regulates intestinal microbiota structure, barrier function, and inflammatory response in the colon of the rat model of antibiotic-associated diarrhea[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(3): 1162-1180.

摘要:【目的】探究凝结魏茨曼氏菌(*Weizmannia coagulans*) BC-G44 对抗生素相关性腹泻(antibiotic-associated diarrhea, AAD)大鼠模型结肠菌群结构、屏障功能和炎症反应的影响。【方法】选取 30 只 5 周龄、体重相近的 Sprague-Dawley (SD)大鼠, 随机分为对照组(Con 组)、模型组(Mod 组)、低剂量凝结魏茨曼氏菌组(LBC-G44 组)、中剂量凝结魏茨曼氏菌组(MBC-G44 组)和高剂量凝结魏茨曼氏菌组(HBC-G44 组)等 5 组($n=6$), 试验包括建模期(7 d)和恢复期(12 d)。在建模期, Con 组大鼠每天灌胃 2 mL 生理盐水, Mod、LBC-G44、MBC-G44 和 HBC-G44 组大鼠则灌胃含克林霉素、氨苄西林和链霉素的混合溶液(2 mL/d)以诱导 AAD。在恢复期, Con 和 Mod 组继续灌胃生理盐水, 而 LBC-G44、MBC-G44 和 HBC-G44 组分别灌胃 10^7 、 10^8 和 10^9 CFU/d 的 *W. coagulans* BC-G44 悬液。在第 19 天, 采集结肠组织进行组织学观察, 测定结肠黏膜中细胞因子含量、屏障蛋白和炎症相关基因的表达水平。此外, 还分析结肠食糜中的微生物组成和代谢物。【结果】在建模期第 7 天, 与 Con 组相比, Mod、LBC-G44、MBC-G44 和 HBC-G44 组大鼠出现显著腹泻、体重下降和采食量减少的现象($P<0.05$); 在第 19 天, 与 Mod 组对比, MBC-G44 和 HBC-G44 组结肠黏膜厚度和杯状细胞数量显著增加($P<0.05$)。HBC-G44 组结肠食糜中拟杆菌属(*Bacteroides*)的相对丰度和乳酸浓度提高($P<0.05$), 结肠黏膜中 D-乳酸(D-lactic acid, D-LA)和二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)浓度也提高($P<0.05$), 结肠黏膜中 *Claudin-1*、*Occludin* 和 *MUC2* 的相对 mRNA 表达量上调($P<0.05$)。同时, 与 Mod 组相比, MBC-G44 和 HBC-G44 组结肠黏膜中 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4)和核因子 κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B)基因的相对 mRNA

资助项目: 均瑶润盈生物科技(上海)有限公司资助项目(2023320122000140)

This work was supported by the BioGrowing Co., Ltd. (Shanghai) Sponsorship Program (2023320122000140).

*Corresponding author. Tel: +86-25-84395523; E-mail: jwang8@njau.edu.cn

Received: 2024-10-14; Accepted: 2024-11-15; Published online: 2024-12-31

表达量下调($P<0.05$), 且结肠黏膜中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和白细胞介素-1 β (interleukin-1 beta, IL-1 β)含量降低($P<0.05$)。【结论】 *W. coagulans* BC-G44 能够改善抗生素诱导的大鼠结肠损伤, 调节结肠微生物群组成和代谢产物, 增强肠道屏障功能并减轻肠道炎症反应, 从而有效缓解 AAD 症状。

关键词: 凝结魏茨曼氏菌 BC-G44; 大鼠; 抗生素相关性腹泻; 菌群结构; 屏障功能; 炎症反应

Weizmannia coagulans BC-G44 regulates intestinal microbiota structure, barrier function, and inflammatory response in the colon of the rat model of antibiotic-associated diarrhea

XIA Ziyang¹, HAO Zhanxi², HAN Di², ZHAO Wenxuan¹, WANG Jing^{1*}

¹ National Center for International Research on Animal Gut Nutrition, College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu, China

² BioGrowing Co., Ltd. (Shanghai), Shanghai, China

Abstract: [Objective] To investigate the effects of *Weizmannia coagulans* BC-G44 on the intestinal microbiota structure, barrier function, and inflammatory response in the colon of the rat model of antibiotic-associated diarrhea (AAD). [Methods] A total of 30 five-week-old Sprague-Dawley (SD) rats with similar body weights were randomized into five groups ($n=6$): control (Con), model (Mod), low-dose *W. coagulans* BC-G44 (LBC-G44), medium-dose *W. coagulans* BC-G44 (MBC-G44), and high-dose *W. coagulans* BC-G44 (HBC-G44). The experiment encompassed a modeling period (7 days) and a recovery period (12 days). During the modeling period, rats in the Con group were administrated with normal saline at 2 mL/d by gavage, while those in the Mod, LBC-G44, MBC-G44, and HBC-G44 groups were administrated with a mixture containing clindamycin, ampicillin, and streptomycin (2 mL/d) by gavage to induce AAD. During the recovery period, the Con and Mod groups continued to receive normal saline, while the LBC-G44, MBC-G44, and HBC-G44 groups received *W. coagulans* BC-G44 suspensions at 10^7 , 10^8 , and 10^9 CFU/d, respectively. On day 19, colonic tissue samples were collected for histological examination, and the concentrations of cytokines, and the expression levels of barrier proteins and inflammation-related genes in the colonic mucosa were measured. Furthermore, the microbiota composition and metabolites in the colonic chyme were analyzed. [Results] On day 7 of modeling, rats in the Mod, LBC-G44, MBC-G44, and HBC-G44 groups exhibited diarrhea, weight losses, and reduced food intake compared with those in the Con group ($P<0.05$). On day 19, compared with the Mod group, the MBC-G44 and HBC-G44 groups showed increases in the colonic mucosa thickness and goblet cell number ($P<0.05$). The HBC-G44 group showed increased relative abundance of *Bacteroides* and concentrations of lactate in the colonic chyme ($P<0.05$), elevated levels of D-lactic acid (D-LA) and diamine oxidase (DAO) in the colonic mucosa, and up-regulated

relative mRNA levels of *Claudin-1*, *Occludin*, and *MUC2* in the colonic mucosa ($P < 0.05$). Meanwhile, compared with the Mod group, the MBC-G44 and HBC-G44 groups showed down-regulated relative mRNA levels of Toll-like receptor 4 gene (*TLR4*) and nuclear factor-kappa B gene (*NF-κB*) ($P < 0.05$), and reduced concentrations of tumor necrosis factor (TNF)- α and interleukin (IL)-1 β ($P < 0.05$) in the colonic mucosa. **[Conclusion]** *W. coagulans* BC-G44 can ameliorate antibiotic-induced colonic injury, regulate the colonic microbiota composition and metabolites, enhance intestinal barrier function, and reduce intestinal inflammatory responses in rats, thus alleviating the symptoms of AAD.

Keywords: *Weizmannia coagulans* BC-G44; rats; antibiotic-associated diarrhea; microbiota structure; barrier function; inflammatory response

抗生素在畜牧业中广泛被应用于预防和治疗细菌性疾病^[1], 尽管其能够有效抑制病原体, 但同时也对肠道共生微生物群落产生了显著影响^[2]。特别是广谱抗生素的使用, 不仅抑制了肠道内有益微生物[如拟杆菌属(*Bacteroides*)和乳杆菌属(*Lactobacillus*)]的生长, 还显著降低了肠道微生物的多样性, 为潜在致病菌[如艰难梭菌(*Clostridium difficile*)]的增殖提供了有利条件, 从而增加了抗生素相关性腹泻 (antibiotic-associated diarrhea, AAD)等疾病的发生风险^[3]。AAD是抗生素治疗过程中一种常见的并发症^[4], 即使是短期的抗生素使用, 也能显著改变肠道菌群结构, 严重危害宿主的肠道健康^[5]。

肠道菌群结构的变化通常伴随着代谢物的显著变化, 尤其是短链脂肪酸(short-chain fatty acid, SCFAs)水平的变化。研究表明, SCFAs能够促进肠上皮细胞的增殖与分化, 上调紧密连接蛋白的表达, 从而增强肠道屏障功能, 防止病原体和毒素穿透肠壁引发炎症反应^[6]。然而抗生素诱导的菌群失调不仅破坏了肠道屏障的完整性, 还通过激活 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4)/髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88)/核因子 κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B)等炎症信号通路, 导致上皮细胞损伤和肠道通透性增加, 进而加

剧 AAD 的症状^[7-8]。研究表明, *W. coagulans* WC10 能够显著增加 AAD 模型小鼠肠道中 SCFAs 的水平, 缓解菌群失调, 并减轻炎症反应^[9]。因此, 恢复肠道微生态平衡是预防和治疗 AAD 的有效策略。

益生菌作为重要的干预措施, 在调节肠道菌群结构、抑制病原菌[如 *Clostridium difficile*、肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*)]过度增殖方面表现出积极作用^[10]。其中, *W. coagulans* 作为一种兼性厌氧的革兰氏阳性菌, 具有良好的胃酸和胆汁盐耐受性, 能够顺利通过消化道到达结肠并发挥生物活性^[11]; 其代谢产物乳酸能够降低肠道 pH 值, 抑制病原菌生长并促进有益菌增殖^[12]。多项研究表明, *W. coagulans* 菌株具有调节肠道微生物群组成、缓解肠道炎症的潜力。研究表明, 凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) DU-106 能够显著增加别样杆菌属 (*Alistipes*) 和毛螺菌科 (*Lachnospiraceae*) NK4A136 的相对丰度, 并抑制克雷伯氏菌属 (*Klebsiella*)的过度增殖, 从而改善抗生素诱导的小鼠肠道菌群失调和腹泻症状^[13]。*W. coagulans* TL3 表现出免疫调节作用, 能够调控 TLR4/MyD88/NF- κ B 和 Nrf2 信号通路的激活, 显著缓解肠道炎症反应^[14]。此外, *W. coagulans* BC99 还通过增加产丁酸菌属的丰度, 提高丁酸

的含量, 以减轻肠道屏障损伤^[15]。

然而, *W. coagulans* BC-G44 在 AAD 治疗中的具体作用机制仍需深入研究。本研究采用氨苄西林、链霉素和克林霉素的混合溶液建立大鼠 AAD 模型, 旨在进一步探讨 *W. coagulans* BC-G44 对结肠菌群结构、屏障功能和炎症反应的影响, 为其在 AAD 治疗中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 细菌菌株和培养

本研究所用的 *W. coagulans* BC-G44 菌株(简称 BC-G44)由均瑶润盈生物科技(上海)有限公司提供。菌株冻干粉于-20 °C 保存, 以确保其稳定性和活性。使用前, 将 BC-G44 冻干粉溶于 2 mL 生理盐水中, 根据试验需求分别配制成 1×10^7 、 1×10^8 和 1×10^9 CFU/mL 的菌悬液, 并立即使用以保证其活性。

1.2 动物实验设计

本实验严格遵循南京农业大学实验动物中心的管理规定, 已获得南京农业大学实验动物福利与伦理委员会的批准(审核编号: NJAU.No20230329036)。SPF 级 Sprague-Dawley (SD) 大鼠由北京维通利华试验动物技术有限公司提供; 试验所用克林霉素、氨苄西林和链霉素分别购自山东方明药业集团股份有限公司、重庆迪康长江制药有限公司和河北远征药业有限公司。

经过 7 d 的适应期后, 将 30 只体重为 (253.20 ± 1.62) g 的大鼠随机分为对照组(Con 组)、模型组(Mod 组)、低剂量 BC-G44 组(LBC-G44 组)、中剂量 BC-G44 组(MBC-G44 组)和高剂量 BC-G44 组(HBC-G44 组)等 5 组, 每组 6 只, 试验分为建模期(7 d)和恢复期(12 d)。通过连续 7 d 每日灌胃 2 mL 含 1 200 mg/kg 体重的克林霉素、

1 332 mg/kg 体重的氨苄西林和 666 mg/kg 体重的链霉素的生理盐水溶液, 建立 AAD 模型^[13]。评估 AAD 模型成功建立的标准包括: 大鼠活动减少、精神状态萎靡、食欲减退、粪便呈现稀软状态且易于倾倒, 与对照组相比腹泻率显著增加、肛门发红并伴有明显污迹^[16-17]。建模期间, Con 组每日灌胃 2 mL 生理盐水, Mod、LBC-G44、MBC-G44 和 HBC-G44 组则灌胃 2 mL 含抗生素的混合溶液。恢复期内, Con 和 Mod 组继续灌胃 2 mL/d 生理盐水, LBC-G44、MBC-G44 和 HBC-G44 组则分别灌胃 1×10^7 、 1×10^8 和 1×10^9 CFU/mL 的 BC-G44 溶液(2 mL/d), 连续 12 d。试验期间, 所有大鼠自由进食和饮水。动物舍内温度控制在 (25 ± 0.5) °C, 湿度控制在 $(60 \pm 5)\%$, 光照周期为 12 h/12 h 光暗交替。

1.3 样品采集

在试验第 19 天, 所有大鼠经过 12 h 禁食后被处死。采集结肠中段约 2–3 cm 的组织样本, 立即置于 4% 多聚甲醛溶液中固定, 用于后续组织形态学测定及分析。同时采集大鼠的结肠食糜和黏膜样本, 迅速保存在液氮中以备后续分析。

1.4 测定指标和方法

1.4.1 生长性能

从试验第 1–19 天, 每隔 2 d 在早上 8 点记录大鼠的体重、采食量和饮水量。在试验结束后计算各组大鼠的平均日增重、采食量及饮水量, 并分析其组间差异。

1.4.2 腹泻评估

腹泻程度依据粪便形态和粪便含水量进行评估。根据 Chen 等^[18]的方法, 每 2 d 对大鼠粪便形态进行评分, 以评估腹泻症状的严重程度。视觉评分标准包括 0 分: 粪便呈褐色, 形状成形且质地坚硬, 表明大鼠消化系统功能正常, 无腹泻症状; 1 分: 粪便呈黄色或褐色, 形状为

半成形或软状,可能反映大鼠肠道功能轻微受损,表现出轻度腹泻特征;2分:粪便呈黄色且形状不成形,表现为水样便,通常与严重的肠道功能紊乱或炎症反应相关,表现出显著腹泻症状。每天上午9点,收集大鼠新鲜粪便样本,测定湿重后,将样本置于105℃的烘箱中干燥24 h,随后称取干重。计算粪便含水量。粪便含水量的计算参考公式(1)。

$$\text{粪便含水量} = 1 - \frac{A_2}{A_1} \times 100\% \quad (1)$$

式中: A_1 为粪便湿重; A_2 为粪便干重。

1.4.3 结肠组织形态结构观察

将固定在4%多聚甲醛中的结肠组织去除多余部分后,采用乙醇梯度脱水处理。脱水后的组织进行石蜡包埋并切成3 μm厚的切片。使用高碘酸-希夫染色法(periodic acid-Schiff stain, PAS)染色后封固,使用虚拟显微镜(奥林巴斯BX51)观察肠道切片的形态结构和杯状细胞分布。每张切片随机选择6个视野进行观察,采用随机数表法选取,以确保数据采集的随机性和代表性。使用Image Pro Plus 6.0软件测定各视野的黏膜厚度、隐窝深度和杯状细胞数,每个指标选择视野中3个不同位置的平均值进行计算。

1.4.4 结肠黏膜相关参数测定

称取0.1 g结肠黏膜样本置于1.5 mL离心管中,加入900 μL生理盐水进行均质化处理。以4℃、3 500 r/min离心15 min,收集上清液以备后续检测。使用BCA试剂盒(北京兰杰柯科技有限公司)测量样品蛋白浓度,并根据蛋白标准曲线进行校准。根据ELISA试剂盒(南京建成生物工程研究所有限公司)说明书的要求,测定样品中二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)、白细胞介素-1β

(interleukin-1 beta, IL-1β)和分泌型免疫球蛋白A(secretory immunoglobulin A, sIgA)的水平浓度。D-乳酸(D-lactic acid, D-LA)浓度通过比色法检测,具体操作根据乳酸试剂盒(南京建成生物工程研究所有限公司)的说明书进行。

1.4.5 结肠黏膜屏障及炎症相关基因 mRNA 表达

使用RT-qPCR测定紧密连接蛋白基因(ZO-1、Claudin-1、Occludin)、NF-κB信号通路相关基因(TLR4、NF-κB、MyD88)及黏蛋白基因(MUC1、MUC2、MUC4)的相对mRNA水平,以β-肌动蛋白(β-actin)作为内参基因。首先,使用TRIzol试剂(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)从结肠黏膜中提取总RNA,并用微量分光光度计(ThermoFisher Scientific公司)测定RNA浓度。随后,将1 μg总RNA逆转录为cDNA,储存于-80℃冰箱中备用。RT-qPCR试验使用ChamQ SYBR qPCR Master Mix试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)进行反应。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司设计和合成(表1)。PCR反应体系(20 μL):上、下游引物(10 μmol/L)各0.4 μL, 50×ROX Reference Dye 1 0.4 μL, cDNA 2 μL, 2×ChamQ SYBR qPCR Master Mix 10 μL, ddH₂O 6.8 μL。PCR反应条件:95℃预变性30 s; 95℃变性10 s, 60℃退火30 s,共40个循环; 95℃15 s, 60℃60 s, 95℃15 s。基因的相对表达量使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算。

1.4.6 结肠食糜微生物 16S rRNA 基因测序

称取0.2 g的大鼠结肠食糜于2 mL离心管中,参照马岩等^[16]的方法使用CTAB法提取微生物总DNA,通过微量分光光度计(ThermoFisher Scientific公司)测定DNA的浓度和纯度。使用引物319F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')和806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')

表1 实时荧光定量PCR引物序列

Table 1 Primers used for quantitative real-time PCR

Gene	Primer sequences (5'→3')	GenBank accession number
<i>β-actin</i>	F: GGTGTGATGGTGGGTATGGG R: CAGTTGGTGACAATGCCGTG	XM_031144.3
<i>ZO-1</i>	F: CTGAGCCCCCTAGTGATGTG R: TCACAGTGTGGCAAGCGTAG	XM_017588934.1
<i>Claudin-1</i>	F: AAACTCCGCTTTCTGCACCT R: GTGCTGACGATAGAGCCGAT	NM_031699.2
<i>Occludin</i>	F: GGATTGAGCCCGAGTGGAAG R: AAGGACTTCCCAGAGTGCAGA	NM_031329.2
<i>TLR4</i>	F: CCTTTTCATCTCTGCCTTCACTAC R: GGGACACCACGACAATAACCT	NM_001293316.1
<i>NF-κB</i>	F: CCCATGTAGACAGCACCACTATGAT R: ACAGAGGCTCAAAGTTCTCCACCA	NM_001048232.1
<i>MyD88</i>	F: TCGACGCCTTCATCTGCTAC R: CCATGCGACGACACCTTTTC	XM_006244087.3
<i>MUC1</i>	F: GTGCCGCTGCCACAACTG R: AGCCGGGTACCCAGACCCA	XM_001926883.4
<i>MUC2</i>	F: GGTCACTGCTGGAGCTGGACAGT R: TGCCTCCTCGGGTCTGTCAC	XM_003122394.1
<i>MUC4</i>	F: GATGCCCTGGCCACAGAA R: TGATTCAAGGTAGCATTTCATTGC	XM_021068274.1

β-actin: Beta-actin; *ZO-1*: Zonula occludens-1; *Occludin*: Zonula occludens; *Claudin-1*: Zonula occludens protein-1; *TLR4*: Toll-like receptor 4; *NF-κB*: Nuclear factor kappa-B; *MyD88*: Myeloid differentiation primary response gene 88; *MUC1*: Mucin 1; *MUC2*: Mucin 2; *MUC4*: Mucin 4.

对 16S rRNA 基因的 V3-V4 区段进行 PCR 扩增。PCR 扩增体系总反应体积为 50 μL: 10 μL 5×Q5[®] Reaction Buffer, 10 μL 5×Q5[®] High GC Enhancer, 1.5 μL 2.5 mmol/L dNTPs, 1.5 μL 正向引物(10 μmol/L), 1.5 μL 反向引物(10 μmol/L), 0.2 μL Q5[®] High-Fidelity DNA Polymerase, 以及 50 ng 模板 DNA, ddH₂O 补足 50 μL。扩增条件: 95 °C 5 min; 95 °C 1 min, 60 °C 1 min, 72 °C 1 min, 共 30 个循环; 72 °C 7 min。扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测后, 使用 AxyPrep DNA 凝胶提取试剂盒(Beckman 公司)进行纯化。利用 Illumina MiSeq 平台进行文库构建和测序。将相似度≥97% 的序列聚类为操作分类

单元(operational taxonomic unit, OTU), 并通过 Silva 数据库(Release138.1, <http://www.arb-silva.de>)进行物种注释。利用 OmicShare Tools 平台(<https://www.omicsmart.com>)分析结肠食糜中细菌的多样性(ACE、Chao1、Shannon 和 Simpson 指数)。通过主坐标分析(principal coordinate analysis, PCoA)结合 Bray-Curtis 算法比较样品间的微生物群落结构, 组间物种相对丰度采用 Kruskal-Wallis 检验进行统计分析。本研究中的所有原始序列数据均保存在 NCBI 的序列读取档案(sequence read archive, SRA)中, 登录号为 PRJNA1171312。

1.4.7 结肠食糜中乳酸和短链脂肪酸测定

称取 0.1 g 结肠食糜于 1.5 mL 离心管中, 加入 0.9 mL 双蒸水, 涡旋混匀后制成 10% 的匀浆液。以 4 °C、12 000 r/min 离心 10 min, 收集上清液用于乳酸测定。乳酸浓度按照乳酸试剂盒(南京建成生物工程研究所有限公司)说明书进行测定。另取 0.1 g 结肠食糜样本, 加入 1 mL 双蒸水, 涡旋混匀后以 12 000 r/min 离心 10 min, 取 700 μ L 上清液, 加入 140 μ L 偏磷酸巴豆酸溶液混匀后, 置于-20 °C 过夜。样本解冻后, 以 4 °C、12 000 r/min 离心 15 min, 通过 0.22 μ m 针式滤器过滤, 滤液保存备用。短链脂肪酸含量使用气相色谱仪(Shimadzu 公司)测定。仪器参数为毛细管柱 30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.25 μ m (Agilent Technologies 公司), 柱温 130 °C, 汽化温度 180 °C, 氢火焰离子化检测器温度 180 °C, 载气为氮气, 压力 60 kPa, 氢气压力 50 kPa, 氧气压力 50 kPa。

1.5 数据统计分析

数据使用 Excel 2021 进行初步整理, 统计分析采用 SPSS 26.0 软件。组间差异通过单因素方差分析(analysis of variance, ANOVA)进行检测, 并进行 Duncan 多重比较检验。对于不符合正态分布的数据, 使用 Kruskal-Wallis 检验进行

分析。数据以“平均值 $\pm$ 标准误”表示, $P<0.05$ 表示差异显著, $P\geq 0.05$ 则表示无显著差异。

2 结果与分析

2.1 *W. coagulans* BC-G44 对 AAD 模型大鼠生长性能的影响

如表 2 所示, 与 Con 组相比, Mod 组大鼠在试验第 7 天和第 19 天的体重显著降低($P<0.05$), 且 1-7 d 的平均日增重也显著降低($P<0.05$)。然而, 在 7-19 d 期间, 各组大鼠的平均日增重无显著差异($P>0.05$)。如图 1 所示, 与 Con 组相比, Mod 组在第 7 天的采食量显著减少, 同时饮水量显著增加($P<0.05$)。与 Mod 组相比, LBC-G44、MBC-G44 和 HBC-G44 组在第 19 天的平均日增重、采食量和饮水量均未表现出显著差异($P>0.05$)。与 Con 组相比, Mod 组在第 7 天的粪便评分和粪便含水量显著增加($P<0.05$)。至试验第 17 天时, HBC-G44 组粪便含水量与 Mod 组相比显著降低($P<0.05$), 表明 BC-G44 对改善腹泻症状具有积极作用。

2.2 *W. coagulans* BC-G44 对 AAD 模型大鼠结肠形态和杯状细胞的影响

如表 3、图 2 所示, 与 Con 组相比, Mod

表2 *Weizmannia coagulans* BC-G44对AAD模型大鼠体重的影响

Table 2 Effects of *Weizmannia coagulans* BC-G44 on the body weight of AAD model rats

Items	Con	Mod	LBC-G44	MBC-G44	HBC-G44	P-value
Body weight (g)						
1 d	251.8 $\pm$ 3.7	254.8 $\pm$ 3.4	253.8 $\pm$ 5.5	254.0 $\pm$ 2.5	251.5 $\pm$ 3.6	0.965
7 d	319.2 $\pm$ 6.9a	294.0 $\pm$ 2.7b	292.0 $\pm$ 8.9b	283.3 $\pm$ 5.9b	287.2 $\pm$ 7.1b	0.007
19 d	404.2 $\pm$ 12.9a	363.2 $\pm$ 9.7b	365.3 $\pm$ 12.7b	361.3 $\pm$ 4.8b	347.3 $\pm$ 8.1b	0.008
Average daily gain (g/d)						
1-7 d	9.6 $\pm$ 0.6a	5.6 $\pm$ 0.8b	5.5 $\pm$ 0.7b	4.2 $\pm$ 0.8b	5.1 $\pm$ 0.6b	<0.001
7-19 d	7.1 $\pm$ 0.5	5.8 $\pm$ 0.9	6.1 $\pm$ 0.4	6.5 $\pm$ 0.5	5.0 $\pm$ 0.4	0.132

Data are presented as mean $\pm$ SE. Different superscript letters (a, b, and c) indicate statistically significant differences ($P<0.05$), $n=6$. The same as below.

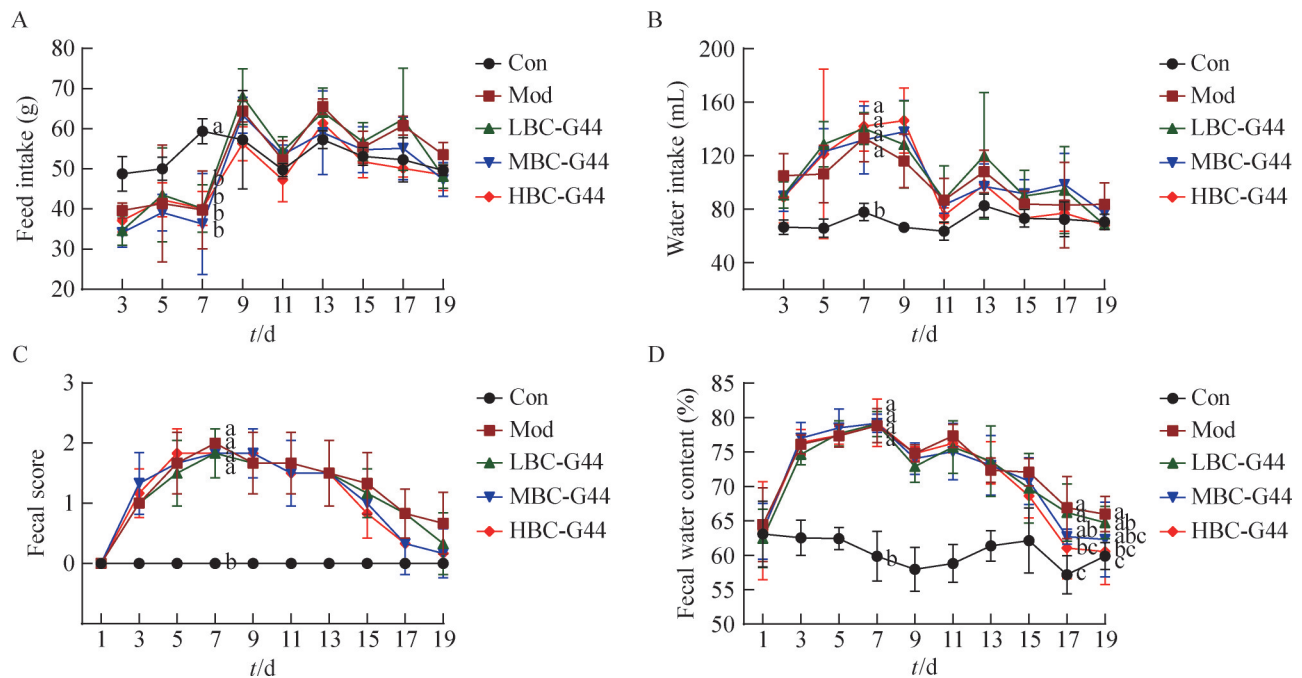


图1 *Weizmannia coagulans* BC-G44对AAD模型大鼠生长性能的影响

Figure 1 Effect of *Weizmannia coagulans* BC-G44 on growth performance of AAD model rats. A: Feed intake; B: Water intake; C: Fecal score; D: Fecal water content.

表3 *Weizmannia coagulans* BC-G44对AAD模型大鼠结肠形态学参数的影响

Table 3 Effects of *Weizmannia coagulans* BC-G44 on colonic morphological parameters of AAD model rats

Items	Con	Mod	LBC-G44	MBC-G44	HBC-G44	P-value
Mucosal thickness (μm)	341.6 $\pm$ 4.6a	237.2 $\pm$ 15.1c	266.0 $\pm$ 6.6b	314.9 $\pm$ 3.7a	327.0 $\pm$ 10.2a	0.001
Crypt depth (μm)	71.6 $\pm$ 3.7b	81.3 $\pm$ 4.7b	86.0 $\pm$ 8.7b	104.9 $\pm$ 6.0a	107.0 $\pm$ 9.1a	0.002

组结肠黏膜厚度显著降低($P<0.05$), 且杯状细胞数量显著减少($P<0.05$), 表明抗生素导致肠道屏障功能受损。与 Mod 组相比, MBC-G44 和 HBC-G44 组结肠黏膜厚度和隐窝深度显著增加($P<0.05$), 且杯状细胞数量显著增加($P<0.05$), 表明 BC-G44 能够增加杯状细胞的数量, 从而改善抗生素导致的结肠屏障功能损伤。

2.3 *W. coagulans* BC-G44 对 AAD 模型大鼠结肠菌群多样性和组成的影响

2.3.1 结肠菌群 α 多样性和 β 多样性分析

如图 3 所示, 与 Con 组相比, Mod 组的

Shannon 和 Simpson 指数显著降低($P<0.05$), 且 Chao 1 指数也显著降低($P<0.05$)。这些结果表明, 抗生素处理显著降低了 Mod 组结肠菌群的多样性。与 Mod 组相比, LBC-G44、MBC-G44 和 HBC-G44 组的 Shannon、Simpson 和 Chao1 指数均无显著差异($P>0.05$), 说明不同剂量的 BC-G44 对菌群多样性未产生显著影响。此外, 各组的 ACE 指数在统计上未显示显著差异($P>0.05$)。基于 Bray-Curtis 距离计算的 PCoA 分析结果表明, 各处理组间的结肠食糜微生物组成存在显著差异($P=0.001$), 表明抗生素处理显著改变了结肠菌群的组成。

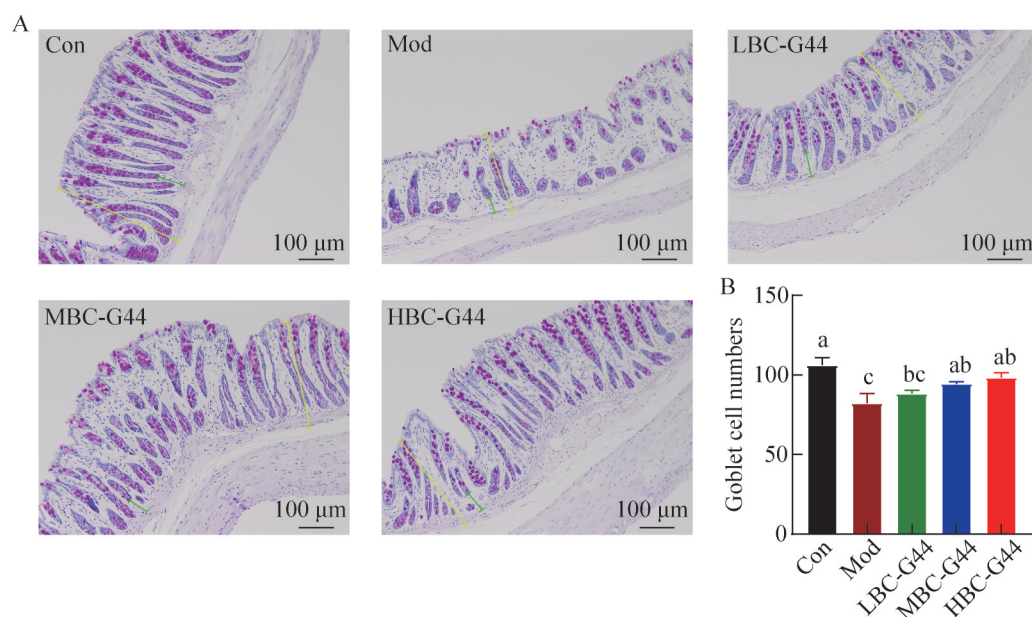


图2 *Weizmannia coagulans* BC-G44对AAD 模型大鼠结肠杯状细胞的影响

Figure 2 Effect of *Weizmannia coagulans* BC-G44 on colonic goblet cells of AAD model rats. A: Morphological analysis of the colon by PAS staining, the length of the yellow line indicates the mucosal thickness, and the length of the green line indicates the crypt depth. B: Goblet cell numbers. Different letters (a, b, and c) indicate statistically significant differences ($P < 0.05$). Error bars represent the mean $\pm$ SE. The same as below.

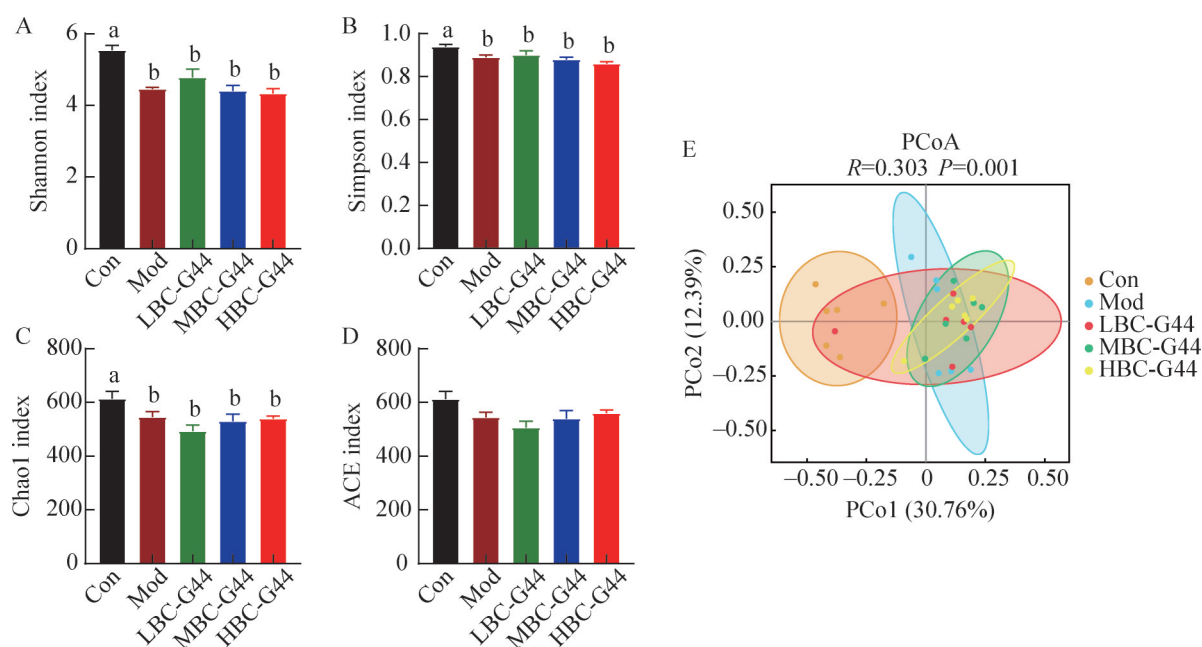


图3 *Weizmannia coagulans* BC-G44对AAD模型大鼠结肠菌群 α 多样性与 β 多样性的影响

Figure 3 Effect of *Weizmannia coagulans* BC-G44 on the alpha diversity and beta diversity of colonic microbiota in AAD model rats. A: Shannon index; B: Simpson index; C: Chao1 index; D: ACE index; E: Beta diversity.

2.3.2 *W. coagulans* BC-G44 对 AAD 模型大鼠结肠菌群组成的影响

如图 4 所示, 各组大鼠结肠的主要菌门包括拟杆菌门 (*Bacteroidetes*)、厚壁菌门 (*Firmicutes*) 和变形菌门 (*Proteobacteria*)。与 Con 组相比, Mod 组大鼠结肠食糜中 *Proteobacteria* 的相对丰度显著升高 ($P<0.05$), 而脱硫杆菌门 (*Desulfobacterota*) 的相对丰度显著降低 ($P<0.05$)。与 Mod 组相比, LBC-G44 和 HBC-G44 组的 *Proteobacteria* 的相对丰度有所降低, 但未达到显著性差异 ($P>0.05$)。此外, 各处理组结肠食糜菌群中放线菌门 (*Actinobacteria*) 和 *Firmicutes/Bacteroidetes* 比值无显著差异 ($P>0.05$)。

本研究在属水平上对各组间的菌群组成进

行了分析, 结果如图 5 所示。结肠的优势菌属有 *Bacteroides*、*Lachnoclostridium*、大肠杆菌-志贺菌属 (*Escherichia-Shigella*) 等。抗生素处理显著影响了 Mod 组大鼠结肠微生物群的组成, 特别是导致普雷沃氏菌属 *_NK3B31_group* (*Prevotellaceae_NK3B31_group*) 和 *Lactobacillus* 的相对丰度显著下降 ($P<0.05$)。此外, *Escherichia-Shigella* 和副萨特氏菌属 (*Parasutterella*) 的相对丰度高于 Con 组, 但差异不显著 ($P>0.05$)。与 Mod 组相比, BC-G44 缓解了抗生素对结肠微生物群组成的影响。在 HBC-G44 组中, *Bacteroides* 的相对丰度显著增加 ($P<0.05$), 而在 LBC-G44 和 MBC-G44 组中, 肠球菌属 (*Enterococcus*) 的相对丰度显著增加 ($P<$

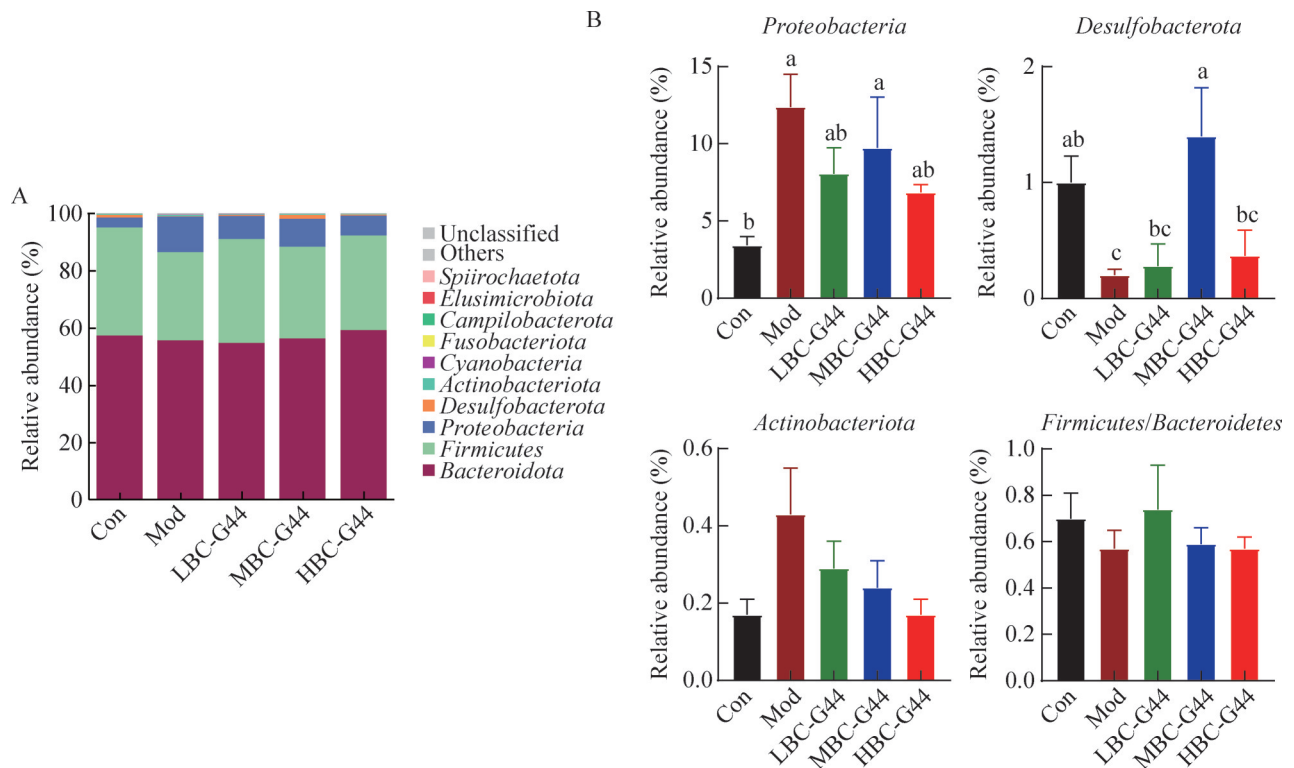


图4 *Weizmannia coagulans* BC-G44对AAD模型大鼠结肠菌群门水平的影响

Figure 4 Effect of *Weizmannia coagulans* BC-G44 on the phylum level of colonic microbiota in AAD model rats. A: Microbial compositions in different experimental groups at the phylum levels; B: Effect of antibiotics and BC-G44 on the relative abundance of microbial communities in chyme samples.

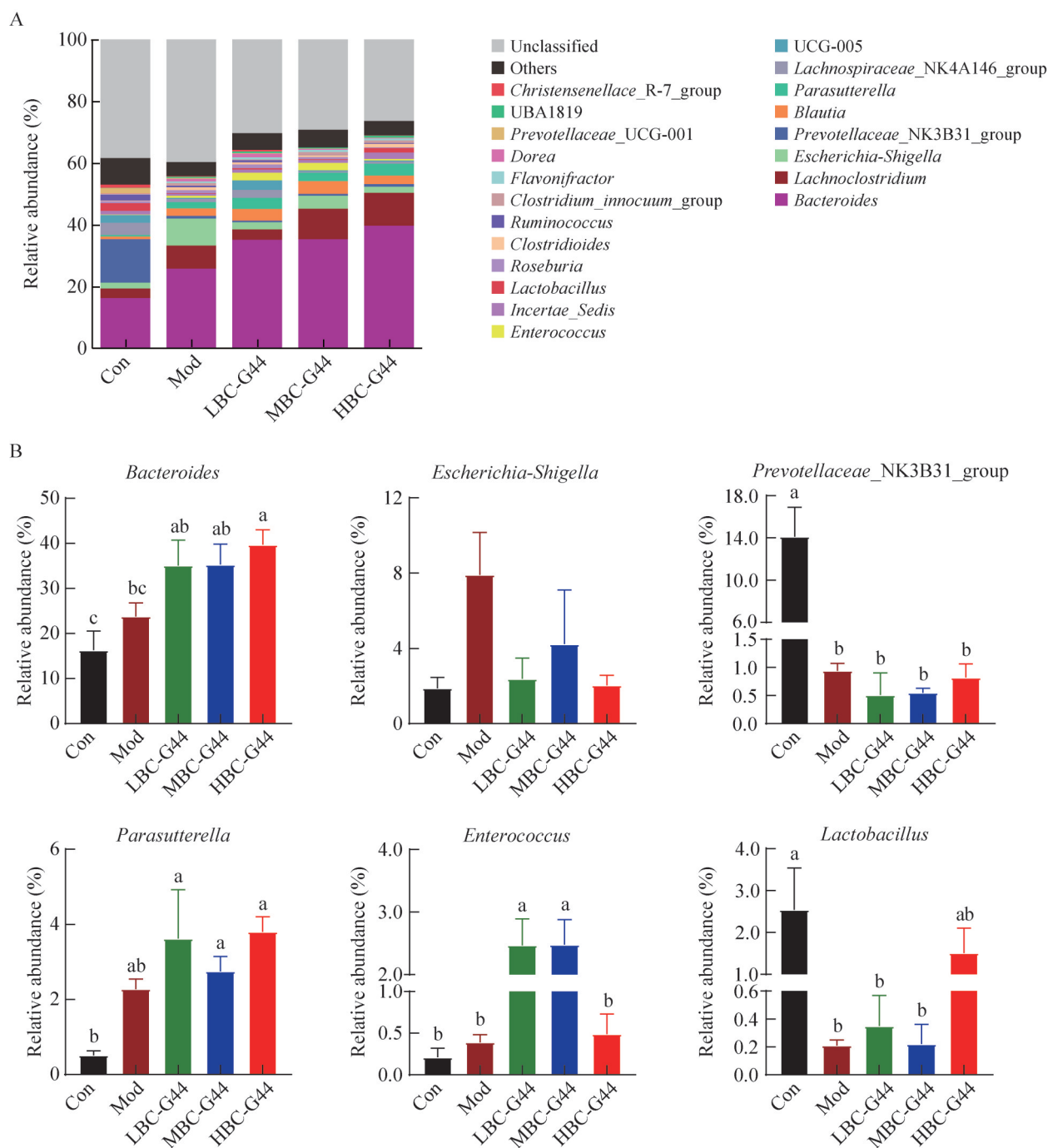


图5 *Weizmannia coagulans* BC-G44对AAD模型大鼠结肠菌群属水平的影响

Figure 5 Effect of *Weizmannia coagulans* BC-G44 on the genus level of colonic microbiota in AAD model rats. A: Microbial compositions in different experimental groups at the genus levels; B: Effect of antibiotics and BC-G44 on the relative abundance of microbial communities in chyme samples.

0.05)。与 Mod 组相比，虽然在 HBC-G44 组中 *Lactobacillus* 的相对丰度有所增加，*Escherichia-*

Shigella 的相对丰度有所下降，但差异未达到统计学显著性($P>0.05$)。

2.4 *W. coagulans* BC-G44 对 AAD 模型大鼠结肠菌群代谢产物的影响

如图 6 所示, 与 Con 组相比, Mod 组大鼠结肠食糜中的乙酸、丙酸、丁酸、总短链脂肪酸及乳酸的浓度显著降低($P<0.05$)。与 Mod 组相比, HBC-G44 组的丙酸含量有所增加, 但未达到统计学显著性($P>0.05$)。HBC-G44 组乳酸的含量显著高于 Mod 组($P<0.05$)。此外, 各组间结肠食糜中异戊酸的含量无显著差异($P>0.05$)。综上所述, BC-G44 能够改善抗生素处理对大鼠结肠短链脂肪酸和乳酸含量的不利影响。

2.5 *W. coagulans* BC-G44 对 AAD 模型大鼠结肠屏障功能的影响

如图 7A 所示, 与 Con 组相比, Mod 组结

肠黏膜中 D-LA 和 DAO 的浓度显著降低($P<0.05$), 表明抗生素对大鼠结肠黏膜屏障功能产生了不利影响。与 Mod 组相比, MBC-G44 组结肠黏膜中 D-LA 和 DAO 的浓度显著升高($P<0.05$), HBC-G44 组结肠黏膜中 DAO 的浓度显著升高($P<0.05$), 表明 BC-G44 能够有效缓解抗生素导致的结肠屏障功能损伤。如图 7B 所示, 与 Con 组相比, Mod 组结肠黏膜中 *Claudin-1*、*Occludin* 和 *MUC2* 的相对 mRNA 表达水平显著下调($P<0.05$), 表明 BC-G44 能够缓解抗生素对大鼠结肠黏膜屏障功能的不利影响。与 Mod 组相比, MBC-G44 和 HBC-G44 组 *Claudin-1*、*Occludin* 和 *MUC2* 的相对 mRNA 表达水平显著上调($P<0.05$)。然而, 各组间结肠黏膜中 *ZO-1*、

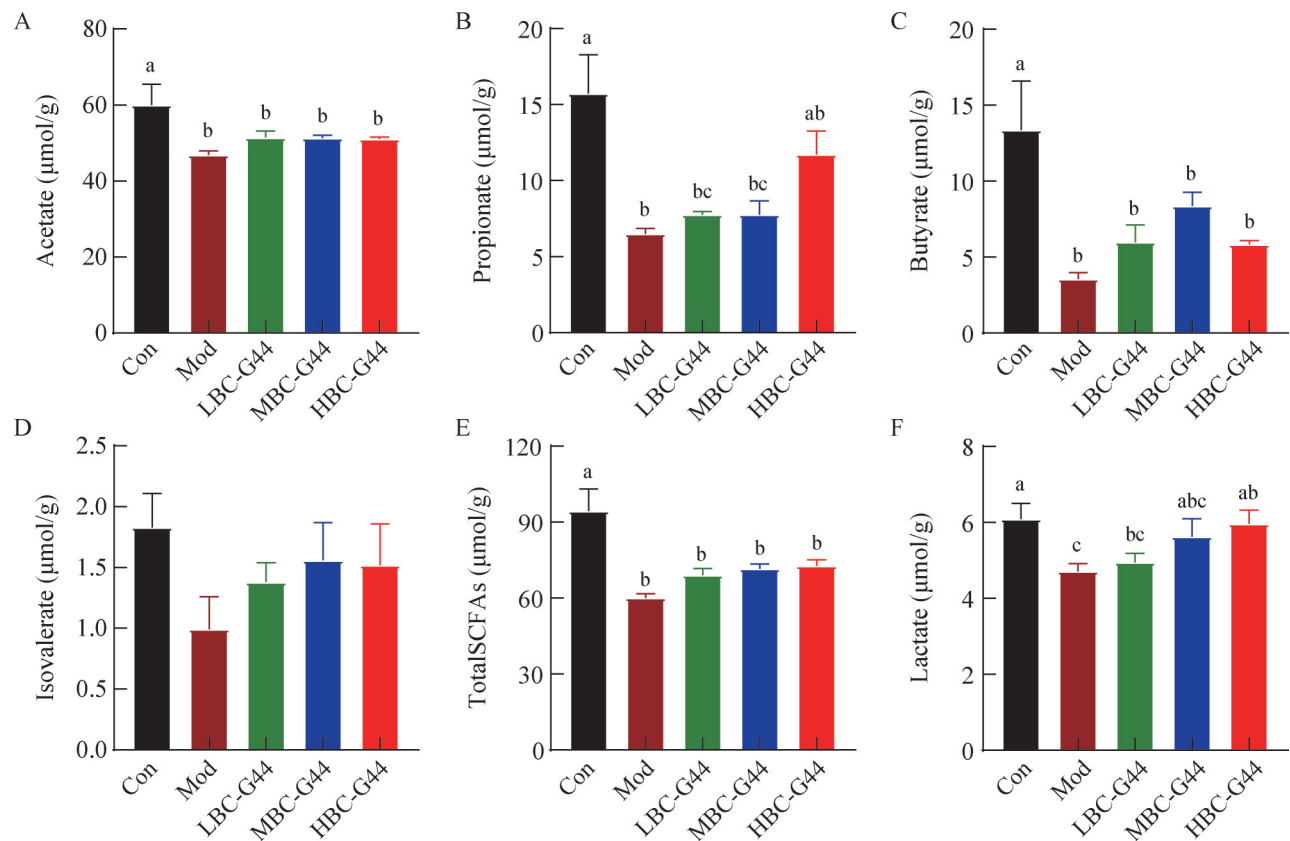


图6 *Weizmannia coagulans* BC-G44对AAD模型大鼠结肠食糜短链脂肪酸和乳酸浓度的影响

Figure 6 Effects of *Weizmannia coagulans* BC-G44 on concentrations of short chain fatty acids and lactate in the colonic chyme of AAD model rats. A: Acetate; B: Propionate; C: Butyrate; D: Isovalerate; E: Total SCFAs; F: Lactate.

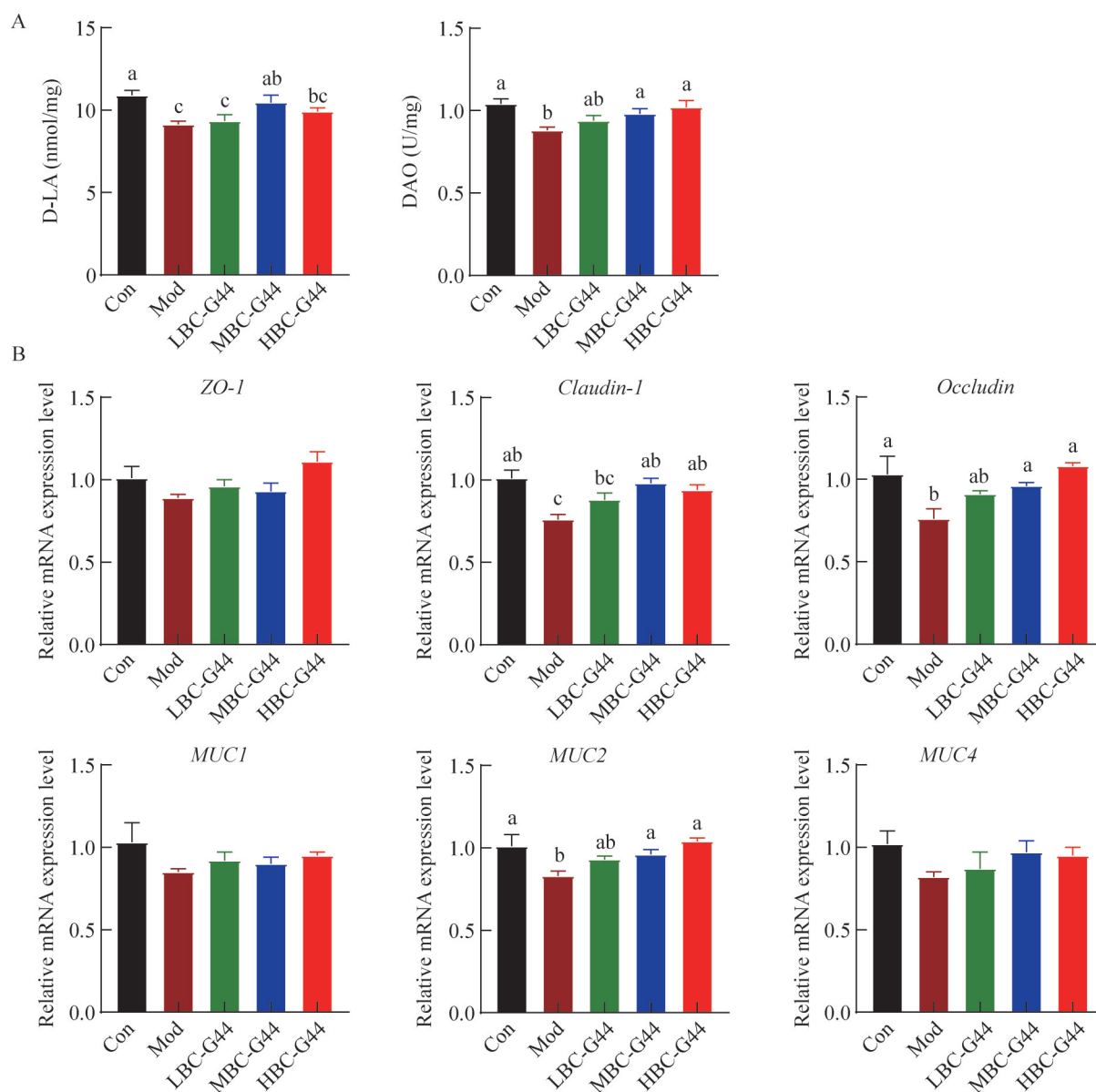


图7 *Weizmannia coagulans* BC-G44对AAD模型大鼠结肠屏障功能的影响

Figure 7 Effect of *Weizmannia coagulans* BC-G44 on colonic barrier function in AAD model rats. A: Effect of antibiotics and BC-G44 on colonic permeability (D-LA and DAO); B: Effect of antibiotics and BC-G44 on the expression of tight junction protein genes (*ZO-1*, *Claudin-1*, and *Occludin*) and mucin genes (*MUC1*, *MUC2*, and *MUC4*) in colonic mucosa.

MUC1 和 *MUC4* 的相对 mRNA 表达水平无显著差异($P>0.05$)。

2.6 *W. coagulans* BC-G44 对 AAD 模型大鼠结肠炎症反应的影响

如图 8A 所示, 与 Con 组相比, Mod 组

结肠黏膜中 $\text{TNF-}\alpha$ 和 $\text{IL-1}\beta$ 的含量显著增加($P<0.05$)。与 Mod 组相比, LBC-G44、MBC-G44 和 HBC-G44 组中 $\text{TNF-}\alpha$ 和 $\text{IL-1}\beta$ 的含量显著降低($P<0.05$), 表明 BC-G44 能够有效缓解抗生素引起的炎症反应。然而, 各组间的

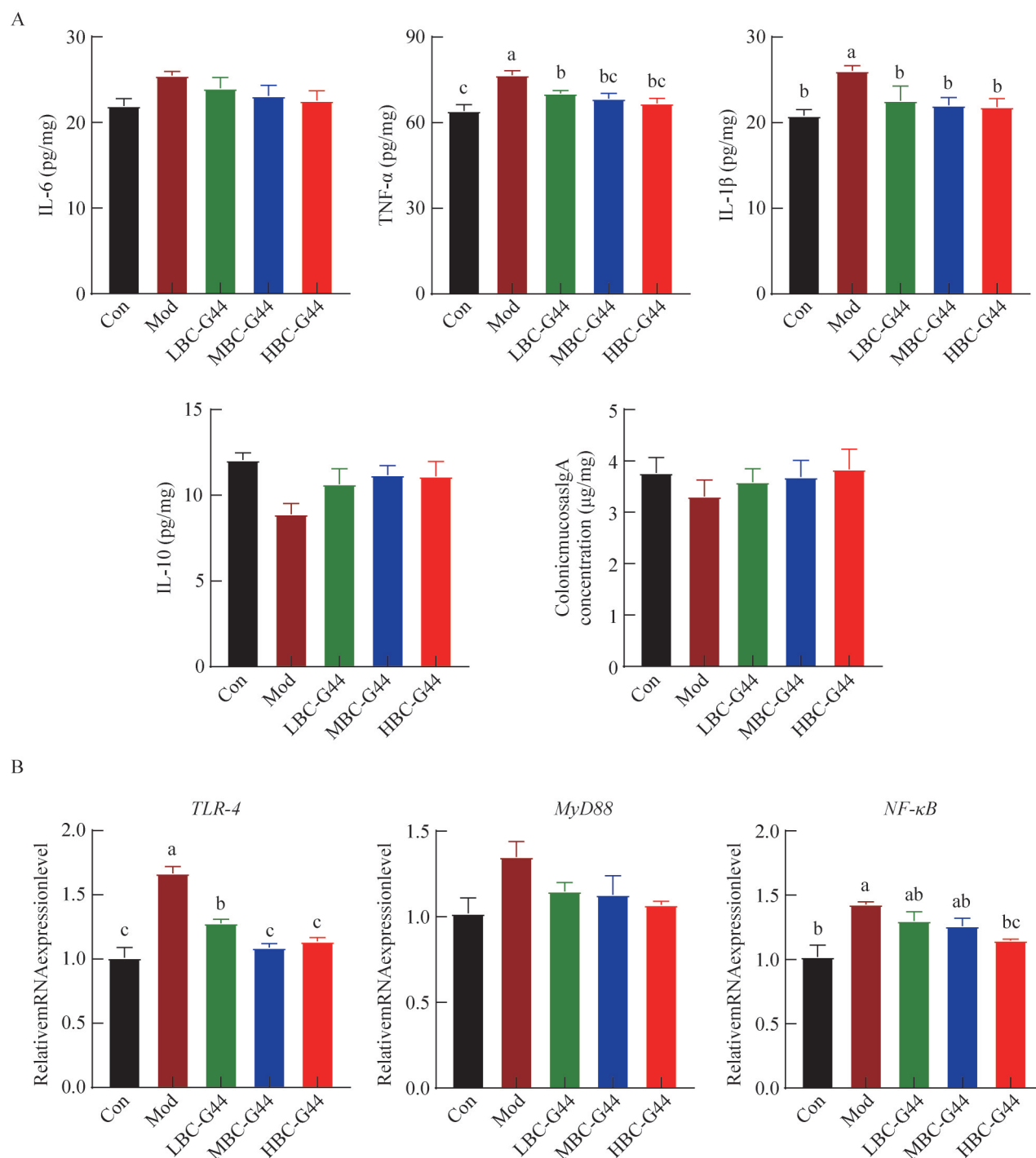


图8 *Weizmannia coagulans* BC-G44对AAD模型大鼠结肠炎症反应的影响

Figure 8 Effect of *Weizmannia coagulans* BC-G44 on colonic inflammatory response in AAD model rats. A: Effect of antibiotics and BC-G44 on cytokine (IL-6, TNF- α , IL-1 β , and IL-10) and slgA content in colonic mucosa; B: Effect of antibiotics and BC-G44 on the relative expression of TLR4/MyD88/NF- κ B pathway related genes.

IL-6、IL-10 和 slgA 含量无显著差异 ($P>0.05$)。如图 8B 所示, 与 Con 组相比, Mod 组中 *TLR4* 和 *NF-κB* 的相对 mRNA 表达水平显著上调 ($P<0.05$), 这表明抗生素处理激活了 TLR4/MyD88/NF-κB 信号通路, 引发了炎症反应。与 Mod 组相比, LBC-G44、MBC-G44 和 HBC-G44 组中 *TLR4* 的相对 mRNA 表达水平显著下调 ($P<0.05$), 而 HBC-G44 组 *NF-κB* 的相对 mRNA 表达水平也显著下调 ($P<0.05$), 这表明 BC-G44 能够调控 TLR4/MyD88/NF-κB 信号通路的表达, 缓解抗生素引发的炎症反应。然而, 各组间结肠黏膜中的 *MyD88* 的相对 mRNA 表达水平无显著差异 ($P>0.05$)。

2.7 *W. coagulans* BC-G44 对代谢物与屏障功能指标之间相关性分析的影响

如图 9 所示, 本研究深入分析了关键代谢物与肠道屏障功能相关基因及炎症相关基因表达之间的相关性。结果表明, 乙酸的水平与 *TLR4* 和 *NF-κB* 的 mRNA 表达显著呈负相关。*丙酸*与 *Occludin* 和 *MUC1* 的 mRNA 表达显著呈正相关, 且与 *TLR4*、*MyD88* 和 *NF-κB* 的 mRNA 表达显著呈负相关 ($P<0.05$), 说明丙酸在维持上皮屏障的完整性和抑制促炎信号通路方面可能具有重要作用。此外, 丁酸的水平与 *Claudin-1*、*MUC2* 和 *MUC4* 的 mRNA 表达显著呈正相关, 与 *TLR4* 和 *NF-κB* 的 mRNA 表达显著呈负相关。异戊酸水平则与 *Occludin* 和 *Claudin-1* 的 mRNA 表达显著呈正相关。乳酸的水平与 *Occludin*、*Claudin-1* 和 *MUC2* 的 mRNA 表达显著呈正相关, 与 *TLR4* 的 mRNA 表达显著呈负相关 ($P<0.05$)。这些结果表明乳酸可能通过上调屏障蛋白的 mRNA 表达来调节肠道稳态。

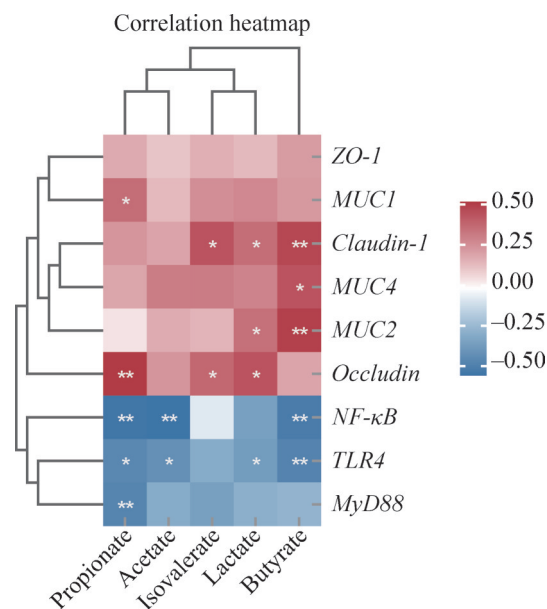


图9 *Weizmannia coagulans* BC-G44对代谢物与屏障功能指标之间相关性分析的影响

Figure 9 Effect of *Weizmannia coagulans* BC-G44 on correlation analysis between metabolites and barrier function indices. * indicates $P<0.05$, and ** indicates $P<0.01$; Values without an asterisk indicate no significant difference ($n=6$; $P>0.05$).

3 讨论

长期使用抗生素会扰乱肠道菌群的平衡, 导致菌群失调, 并可能诱发 AAD^[10,19]。益生菌作为调节肠道菌群结构和增强屏障功能的重要手段, 对治疗炎症性肠病、肥胖及 AAD 等多种疾病具有潜在疗效^[20]。BC-G44 作为一种备受关注的新兴益生菌, 其在 AAD 治疗中的具体作用尚不明确。本研究通过连续灌胃氨苄西林、克林霉素和链霉素的混合抗生素溶液, 成功构建了 AAD 模型, 并观察到大鼠出现明显的腹泻症状。在本研究中, 抗生素处理后的大鼠体重显著下降、粪便评分增加且采食量减少, 这些均表明 AAD 模型已成功建立。与 Mod 组相比, HBC-G44 组大鼠在第 17 天的粪便评分和粪便含

水量均显著降低,表明 BC-G44 能够有效缓解抗生素引起的腹泻症状,并缩短腹泻症状的持续时间。Wang 等^[9]的研究也表明, *W. coagulans* WC10 能够恢复因抗生素使用导致的体重下降,减轻腹泻症状,并降低粪便含水量,这一结果进一步支持了 BC-G44 在缓解 AAD 症状方面的潜在疗效。

在 AAD 模型中,抗生素处理往往导致结肠发生病理变化,包括黏膜上皮脱落、隐窝结构萎缩和杯状细胞数量的显著减少^[21]。本研究中,抗生素处理后大鼠结肠黏膜厚度显著降低,杯状细胞数量减少,与氨苄西林造成的小鼠结肠损伤情况一致^[9]。杯状细胞通过分泌含酸性唾液酸和硫酸酯的黏液来维持肠道黏膜屏障功能^[22]。研究表明,嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*) KLDS 1.0901 能够增加杯状细胞数量,并减轻结肠炎引起的黏膜损伤^[17]。在本研究中, MBC-G44 和 HBC-G44 组大鼠结肠黏膜厚度和杯状细胞数量均显著增加,这表明 BC-G44 对抗生素诱导的结肠损伤具有显著修复作用,且中、高剂量组的效果优于低剂量组。此外, D-LA 和 DAO 水平常作为评估肠道通透性的指标。本研究中, MBC-G44 组的 D-LA 和 DAO 的水平显著高于 Mod 组,进一步支持了 BC-G44 在恢复抗生素所致的肠道屏障损伤方面的积极作用。肠道的紧密连接蛋白(如 Claudin-1、Occludin 和 ZO-1)及 MUC2 在维持肠道屏障功能和稳态方面至关重要^[23]。本研究发现, HBC-G44 组能够显著提高这些关键蛋白的 mRNA 表达水平,表明 BC-G44 在改善抗生素引起的肠道屏障功能损伤方面具有积极效果。Zhao 等^[24]的研究表明, *B. coagulans* MZY531 能够激活 ZO-1、Occludin 和 Claudin-1 蛋白的表达来改善肠道屏障功能。MUC2 是肠道杯状细胞分泌的主要黏蛋白,具有保护肠道黏膜的功能^[25]。在本研究中, MBC-

G44 和 HBC-G44 组的 MUC2 的 mRNA 表达量显著高于 Mod 组,表明 BC-G44 能够促进黏液分泌,有助于修复抗生素引起的肠道屏障损伤。这些结果表明, BC-G44 在减轻抗生素诱导的肠道损伤、促进结肠结构完整性恢复方面表现出积极作用。

抗生素的使用常导致肠道菌群失调,进而加剧 AAD 的发生和发展^[17]。氨苄西林和克林霉素能够显著抑制肠道对厌氧菌的增殖^[26],而链霉素则通过调节微生物群结构来产生影响^[27]。16S rRNA 基因测序结果表明,抗生素处理后的 Mod 组中, Shannon 指数、Simpson 指数和 Chao1 指数均显著下降,反映了肠道菌群多样性和丰富度的显著降低^[16]。值得注意的是, BC-G44 的处理对肠道菌群的 α 多样性影响较小。PCoA 分析显示, BC-G44 组与 Mod 组的微生物群组成存在显著差异,提示 BC-G44 可能特异性调节某些菌群来缓解肠道微生态的失衡。在门水平分析中,抗生素处理显著提高了 *Proteobacteria* 的相对丰度。这一变化可能与肠道氧化应激反应的增强和厌氧环境的改变有关,从而为 *Proteobacteria* 的过度增殖提供了有利条件^[28]。在 HBC-G44 组中, *Proteobacteria* 的丰度有所降低,从而缓解了这一不利变化。在属水平分析中, BC-G44 处理组,特别是 HBC-G44 组, *Escherichia-Shigella* 的丰度有所降低,而 *Lactobacillus* 的相对丰度有所增加,表明 BC-G44 对抗生素引起的肠道菌群失调具有调节作用。类似的研究也表明, *B. coagulans* B37 和 *B. coagulans* B9 能够改善肠道菌群结构^[29]。*Escherichia-Shigella* 的增殖往往会导致肠道毒素的分泌及黏膜细胞的损伤,与腹泻及全身性炎症反应相关^[30]。*Lactobacillus* 作为健康肠道中的优势菌群,其丰度的减少通常与肠道屏障功能受损相关^[31]。此外, BC-G44 处理还显著增加了

Bacteroides 的丰度, 其在调节肠道微生物群组成和炎症反应中发挥关键作用^[32], 这一结果与 *B. coagulans* FCYS01 在 DSS 小鼠模型中促进 *Bacteroides* 丰度增加的研究结果相一致^[33]。综上所述, BC-G44 通过调节有益菌的丰度, 缓解了抗生素引起的菌群失调, 进而有效缓解了 AAD 的症状。

SCFAs 是肠道微生物代谢的关键产物, 参与维持肠道稳态、改善结肠功能和调节炎症反应^[16]。研究表明, *W. coagulans* WC10 能够通过调节肠道菌群组成, 显著增加 SCFAs 水平, 进而改善肠道功能^[9]。本研究中, Mod 组的乙酸、丙酸和丁酸含量显著降低, 这一变化与 *Lactobacillus* 和 *Bacteroides* 的丰度降低相关, 反映了抗生素对肠道微生态平衡的破坏和对 SCFAs 生成菌的抑制作用。在 HBC-G44 组中, 丙酸的水平有所增加。丙酸在结肠中具有增强肠道免疫反应、改善肠道屏障功能的作用^[34]。此外, *B. coagulans* 已被证实能够提高 SCFAs 水平, 并有效缓解 DSS 诱导的结肠炎症和屏障损伤^[35]。作为重要的 SCFAs 生产菌, *Bacteroides* 能够产生乙酸、丙酸和丁酸, 在调控肠道炎症反应、减轻肠道损伤方面发挥重要作用^[36]。本研究发现, 在 HBC-G44 组中, 乳酸的水平显著增加, *Lactobacillus* 的丰度也有所增加。*Lactobacillus* 通过代谢碳水化合物生成乳酸, 这些乳酸进一步转化为 SCFAs^[37]。这一代谢过程有助于降低肠道 pH 值, 调节肠道的水分吸收并缓解由腹泻引起的脱水症状^[38]。综上所述, BC-G44 能够调节肠道菌群组成及其代谢产物, 有效缓解了抗生素引起的肠道微生态失调。

抗生素诱导的 AAD 模型大鼠表现出肠道屏障通透性的显著增加, 这一变化为有害细菌和抗原的入侵提供了机会, 进而诱发肠道的炎症反应^[39]。本研究中, Mod 组大鼠结肠黏膜中

TNF- α 和 IL-1 β 水平显著升高。TNF- α 能够激活 NF- κ B 信号通路, 进而促进更多促炎细胞因子的释放^[14]; IL-1 β 则通过增加肠道通透性, 进一步加剧肠道炎症反应^[40]。然而, BC-G44 处理后, TNF- α 和 IL-1 β 水平显著降低, 表明 BC-G44 能够缓解抗生素诱导的炎症反应。*W. coagulans* BCG44 能够降低血清中 TNF- α 的水平, 减轻肠道损伤^[41]。Chen 等^[42]的研究表明, *B. coagulans* TL3 能够显著下调 *TLR4*、*MyD88* 及其下游基因 *NF- κ B* 的蛋白表达, 进而减轻肠道炎症。本研究结果表明, BC-G44 能够调节促炎与抗炎因子的平衡, 减轻抗生素引起的肠道炎症。*TLR4* 作为一种重要的模式识别受体, 在免疫反应中发挥着重要作用。其激活后, 会通过 *MyD88* 依赖通路刺激 *I κ B* 的降解, 并释放 NF- κ B, 进而促进 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的表达, 最终损伤肠道屏障功能^[43]。BC-G44 处理后, 特别是 HBC-G44 组, *TLR4* 和 *NF- κ B* 的 mRNA 表达显著降低。相关性分析表明, 丙酸和乳酸的水平与紧密连接蛋白的 mRNA 表达呈正相关, 而与 *TLR4*、*MyD88* 和 *NF- κ B* 的 mRNA 表达呈负相关。这些结果提示, 丙酸和乳酸水平的升高可能与肠道屏障功能的改善及 *TLR4/MyD88/NF- κ B* 信号通路的调控存在关联, 从而减轻抗生素引起的炎症反应, 调节肠道菌群组成, 并减轻结肠损伤。

4 结论

BC-G44 能够上调紧密连接蛋白的表达, 增强肠道屏障功能, 并抑制 *TLR4/MyD88/NF- κ B* 通路的激活, 从而减轻抗生素引发的肠道炎症反应。此外, BC-G44 还能调节结肠菌群的组成, 提高丙酸和乳酸的水平, 这些代谢产物在促进肠道健康恢复方面发挥积极作用。因此, BC-G44 能够有效缓解大鼠的腹泻症状, 显著改

善 AAD 引起的肠道微生态失衡和炎症反应。

作者贡献声明

夏紫嫣: 试验设计、样品分析和初稿撰写;
郝占西: 论文修改; 韩迪: 论文修改; 赵文轩:
试验设计、数据采集; 汪晶: 实验监督和论文
修改。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报
告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] BEYENE T. Veterinary drug residues in food-animal products: its risk factors and potential effects on public health[J]. *Journal of Veterinary Science & Technology*, 2015, 7(1): 1-7.
- [2] BLASER MJ. Antibiotic use and its consequences for the normal microbiome[J]. *Science*, 2016, 352(6285): 544-545.
- [3] LIU X, KE LY, LEI K, YU Q, ZHANG WQ, LI CG, TIAN ZB. Antibiotic-induced gut microbiota dysbiosis has a functional impact on purine metabolism[J]. *BMC Microbiology*, 2023, 23(1): 187.
- [4] SILVERMAN MA, KONNIKOVA L, GERBER JS. Impact of antibiotics on necrotizing enterocolitis and antibiotic-associated diarrhea[J]. *Gastroenterology Clinics of North America*, 2017, 46(1): 61-76.
- [5] GU SL, GONG YW, ZHANG JY, CHEN YB, WU ZJ, XU QM, FANG YH, WANG JX, TANG LL. Effect of the short-term use of fluoroquinolone and β -lactam antibiotics on mouse gut microbiota[J]. *Infection and Drug Resistance*, 2020, 13: 4547-4558.
- [6] LIU PY, WANG YB, YANG G, ZHANG QH, MENG LB, XIN Y, JIANG X. The role of short-chain fatty acids in intestinal barrier function, inflammation, oxidative stress, and colonic carcinogenesis[J]. *Pharmacological Research*, 2021, 165: 105420.
- [7] WU YY, HSU CM, CHEN PH, FUNG CP, CHEN L. Toll-like receptor stimulation induces nondefensin protein expression and reverses antibiotic-induced gut defense impairment[J]. *Infection and Immunity*, 2014, 82(5): 1994-2005.
- [8] LIANG W, GAO YS, ZHAO YJ, GAO L, ZHAO ZJ, HE ZM, LI SY. *Lactiplantibacillus plantarum* ELF051 alleviates antibiotic-associated diarrhea by regulating intestinal inflammation and gut microbiota[J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2024, 16(6): 1996-2006.
- [9] WANG ZB, GUO ZT, LIU LB, REN DX, ZU H, LI BL, LIU F. Potential probiotic *Weizmannia coagulans* WC10 improved antibiotic-associated diarrhea in mice by regulating the gut microbiota and metabolic homeostasis[J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12602-024-10308-1>.
- [10] MEKONNEN SA, MERENSTEIN D, FRASER CM, MARCO ML. Molecular mechanisms of probiotic prevention of antibiotic-associated diarrhea[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2020, 61: 226-234.
- [11] BRESSUIRE-ISOARD C, BROUSSOLLE V, CARLIN F. Sporulation environment influences spore properties in *Bacillus*: evidence and insights on underlying molecular and physiological mechanisms[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2018, 42(5): 614-626.
- [12] ABHARI K, SHEKARFOROUSH SS, SAJEDIANFARD J, HOSSEINZADEH S, NAZIFI S. The effects of probiotic, prebiotic and synbiotic diets containing *Bacillus coagulans* and inulin on rat intestinal microbiota[J]. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 2015, 16(3): 267-273.
- [13] HUANG DR, CHEN YL, CHEN HZ, DENG XY, HUANG JZ, LU SM, LI P, DU B. Supplementation of *Bacillus* sp. DU-106 alleviates antibiotic-associated diarrhea in association with the regulation of intestinal microbiota in mice[J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2022, 14(2): 372-383.
- [14] WANG Y, LIN JX, CHENG ZY, WANG TC, CHEN J, LONG M. *Bacillus coagulans* TL3 inhibits LPS-induced *Caecum* damage in rat by regulating the TLR4/MyD88/NF- κ B and Nrf2 signal pathways and modulating intestinal microflora[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, 2022: 5463290.
- [15] LI C, ZHAI SR, DUAN MY, CAO L, ZHANG J, WANG Y, WU Y, GU SB. *Weizmannia coagulans* BC99 enhances intestinal barrier function by modulating butyrate formation to alleviate acute alcohol intoxication in rats [J]. *Nutrients*, 2024, 16(23): 4142.
- [16] 马岩, 王中江, 杨靖瑜, 李哲, 彭霞, 单秀峰, 李柏良, 马微微. 动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 对克林霉素诱导的抗生素相关性腹泻的改善作用[J]. *食品科学*, 2023, 44(3): 170-178.
MA Y, WANG ZJ, YANG JY, LI Z, PENG X, SHAN XF, LI BL, MA WW. Alleviative effect of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* XLTG11 on antibiotic-associated diarrhea induced by clindamycin [J]. *Food Science*, 2023, 44(3): 170-178 (in Chinese).
- [17] XU BF, WANG ZB, WANG YQ, ZHANG KY, LI J, ZHOU LY, LI BL. Milk-derived *Lactobacillus* with high production of short-chain fatty acids relieves antibiotic-induced diarrhea in mice[J]. *Food & Function*, 2024, 15(10): 5329-5342.
- [18] CHEN XH, KATCHAR K, GOLDSMITH JD, NANTHAKUMAR N, CHEKNIS A, GERDING DN, KELLY CP. A mouse model of *Clostridium difficile*-associated disease[J]. *Gastroenterology*, 2008, 135(6): 1984-1992.
- [19] ROSA CP, BRANCAGLION GA, MIYAUCHI-TAVARES TM, CORSETTI PP, de ALMEIDA LA. Antibiotic-induced dysbiosis effects on the murine gastrointestinal tract and their systemic repercussions[J]. *Life Sciences*, 2018, 207: 480-491.
- [20] SOOD A, MIDHA V, MAKHARIA GK, AHUJA V, SINGAL D, GOSWAMI P, TANDON RK. The probiotic

- preparation, VSL#3 induces remission in patients with mild-to-moderately active ulcerative colitis[J]. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2009, 7(11): 1202-1209.e1.
- [21] 杨璐嘉, 来智慧, 官松美, 张倩, 黄洁瑶, 刘丹宁, 袁吕江. 几种临床常用抗生素诱导小鼠腹泻的研究[J]. *中国抗生素杂志*, 2020, 45(8): 825-833.
- YANG LJ, LAI ZH, GUAN SM, ZHANG Q, HUANG JY, LIU DN, YUAN L. Study on diarrhea induced by several commonly used antibiotics in mice[J]. *Chinese Journal of Antibiotics*, 2020, 45(8): 825-833 (in Chinese).
- [22] PELASEYED T, BERGSTRÖM JH, GUSTAFSSON JK, ERMUND A, BIRCHENOUGH GMH, SCHÜTTE A, van der POST S, SVENSSON F, RODRÍGUEZ-PIÑEIRO AM, NYSTRÖM EEL, WISING C, JOHANSSON MEV, HANSSON GC. The mucus and mucins of the goblet cells and enterocytes provide the first defense line of the gastrointestinal tract and interact with the immune system[J]. *Immunological Reviews*, 2014, 260(1): 8-20.
- [23] PETERSON LW, ARTIS D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis [J]. *Nature Reviews Immunology*, 2014, 14(3): 141-153.
- [24] ZHAO ZW, SUN MQ, CUI XM, CHEN JX, LIU CH, ZHANG XW. *Bacillus coagulans* MZY531 alleviates intestinal mucosal injury in immunosuppressive mice via modulating intestinal barrier, inflammatory response, and gut microbiota[J]. *Scientific Reports*, 2023, 13(1): 11181.
- [25] KIM YS, HO SB. Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress[J]. *Current Gastroenterology Reports*, 2010, 12(5): 319-330.
- [26] YANG SH, LEE MG. Dose-independent pharmacokinetics of clindamycin after intravenous and oral administration to rats: contribution of gastric first-pass effect to low bioavailability[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2007, 332(1/2): 17-23.
- [27] ZHANG WD, ZHU B, XU JH, LIU YY, QIU EQ, LI ZJ, LI ZC, HE Y, ZHOU HW, BAI Y, ZHI FC. *Bacteroides fragilis* protects against antibiotic-associated diarrhea in rats by modulating intestinal defenses[J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9: 1040.
- [28] LITVAK Y, BYNDLOSS MX, TSOLIS RM, BÄUMLER AJ. Dysbiotic *Proteobacteria* expansion: a microbial signature of epithelial dysfunction[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2017, 39: 1-6.
- [29] HALDAR L, GANDHI DN. Effect of oral administration of *Bacillus coagulans* B37 and *Bacillus pumilus* B9 strains on fecal coliforms, *Lactobacillus* and *Bacillus* spp. in rat animal model[J]. *Veterinary World*, 2016, 9(7): 766-772.
- [30] UD-DIN A, WAHID S. Relationship among *Shigella* spp. and enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) and their differentiation[J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2014, 45(4): 1131-1138.
- [31] ZAFAR H, JR SAIER MH. Comparative genomics of the transport proteins of ten *Lactobacillus* strains[J]. *Genes*, 2020, 11(10): 1234.
- [32] FANG H, EDLUND C, NORD CE, HEDBERG M. Selection of cefoxitin-resistant *Bacteroides thetaiotaomicron* mutants and mechanisms involved in beta-lactam resistance[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2002, 35(Suppl 1): S47-S53.
- [33] LIU ZZ, JIANG ZY, ZHANG ZT, LIU T, FAN YR, LIU T, PENG N. *Bacillus coagulans* in combination with chitooligosaccharides regulates gut microbiota and ameliorates the DSS-induced colitis in mice[J]. *Microbiology Spectrum*, 2022, 10(4): e0064122.
- [34] LIU TF, LI J, LIU YX, XIAO N, SUO HT, XIE K, YANG CL, WU C. Short-chain fatty acids suppress lipopolysaccharide-induced production of nitric oxide and proinflammatory cytokines through inhibition of NF- κ B pathway in RAW_{264.7} cells[J]. *Inflammation*, 2012, 35(5): 1676-1684.
- [35] SHINDE T, PERERA AP, VEMURI R, GONDALIA SV, BEALE DJ, KARPE AV, SHASTRI S, BASHEER W, SOUTHAM B, ERI R, STANLEY R. Synbiotic supplementation with prebiotic green banana resistant starch and probiotic *Bacillus coagulans* spores ameliorates gut inflammation in mouse model of inflammatory bowel diseases[J]. *European Journal of Nutrition*, 2020, 59(8): 3669-3689.
- [36] SHOEMAKER NB, VLAMAKIS H, HAYES K, SALYERS AA. Evidence for extensive resistance gene transfer among *Bacteroides* spp. and among *Bacteroides* and other genera in the human colon[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(2): 561-568.
- [37] FLINT HJ, SCOTT KP, LOUIS P, DUNCAN SH. The role of the gut microbiota in nutrition and health[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2012, 9(10): 577-589.
- [38] BINDER HJ. Role of colonic short-chain fatty acid transport in diarrhea[J]. *Annual Review of Physiology*, 2010, 72: 297-313.
- [39] ZHAO JB, HU JH, MA X. Sodium decanoate improves intestinal epithelial barrier and antioxidation via activating G protein-coupled receptor-43[J]. *Nutrients*, 2021, 13(8): 2756.
- [40] AL-SADI R, GUO SH, DOKLADNY K, SMITH MA, YE DM, KAZA A, WATTERSON DM, MA TY. Mechanism of interleukin-1 β induced-increase in mouse intestinal permeability *in vivo*[J]. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 2012, 32(10): 474-484.
- [41] XU YF, WANG Y, SONG T, LI XX, ZHOU HL, CHAIBOU OUMAROU ZAFIR, WANG B, LI HJ. Immune-enhancing effect of *Weizmannia coagulans* BCG44 and its supernatant on cyclophosphamide-induced immunosuppressed mice and RAW_{264.7} cells via the modulation of the gut microbiota[J]. *Food & Function*, 2024, 15(21): 10679-10697.
- [42] CHEN J, CAI J, LIN JX, CHENG ZY, LONG M. Inhibitory effects of *Bacillus coagulans* TL3 on the ileal oxidative stress and inflammation induced by lipopolysaccharide in rats[J]. *Current Microbiology*, 2023, 80(2): 84.
- [43] SUN LH, XU C, CHEN GQ, YU M, YANG SW, QIU Y, PENG K, WANG WS, XIAO WD, YANG H. A novel role of OS-9 in the maintenance of intestinal barrier function from hypoxia-induced injury via p38-dependent pathway[J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2015, 11(6): 664.