

益生菌的应用现状和发展前景

刘真真^{1,2}, 彭楠^{2*}

1 成都大学药学院 抗生素研究与再评价四川省重点实验室, 四川 成都 610106

2 华中农业大学生命科学技术学院 农业微生物资源发掘与利用全国重点实验室 湖北洪山实验室,
湖北 武汉 430070

刘真真, 彭楠. 益生菌的应用现状和发展前景[J]. 微生物学报, 2023, 63(5): 1863-1887.

LIU Zhenzhen, PENG Nan. Current application status and development prospect of probiotics[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(5): 1863-1887.

摘要: 益生菌是一类严格选择的, 如果给予足够的量, 能够为宿主带来健康益处的活性微生物。常见的具有益生功能的微生物, 包括传统益生菌乳酸菌(lactic acid bacteria)和酵母菌(*Saccharomyces*)等, 以及下一代益生菌普拉梭菌(*Faecalibacterium prausnitzii*)、脆弱拟杆菌(*Bacteroides fragilis*)、嗜黏蛋白阿克曼菌(*Akkermansia muciniphila*)和普雷沃氏菌(*Prevotella copri*)等。益生菌与人体健康之间存在密切的关系, 这些微生物可通过肠道刺激胃肠道反应或直接作用于口腔、阴道、皮肤等其他部位以调节宿主健康。因此, 它们在食品、种植业、畜牧业以及医疗领域中得到广泛应用, 成为改善宿主健康的有力工具。本文对乳酸菌等传统益生菌以及嗜黏蛋白阿克曼菌等下一代益生菌的功能的开发与应用进行了综述, 总结了这几种益生菌在食品生产、疾病治疗以及农业生产等方面的应用潜力, 展望了益生菌资源研究与应用的发展趋势, 以期与研究新老益生菌功能的开发与应用提供参考。

关键词: 传统益生菌; 下一代益生菌; 食品生产; 健康养殖; 疾病治疗; 生物降解

资助项目: 国家自然科学基金(32100054); 湖北洪山实验室(2021hszd022)

This work was supported by the National Natural Sciences Foundation of China (32100054) and the Hubei Hongshan Laboratory (2021hszd022).

*Corresponding author. Tel: +86-28-87281267, E-mail: nanp@mail.hzau.edu.cn

Received: 2023-02-28; Accepted: 2023-04-21

Current application status and development prospect of probiotics

LIU Zhenzhen^{1,2}, PENG Nan^{2*}

1 Antibiotics Research and Re-evaluation Key Laboratory of Sichuan Province, School of Pharmacy, Chengdu University, Chengdu 610106, Sichuan, China

2 National Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Hubei Hongshan Laboratory, College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei, China

Abstract: A carefully curated group of microbial strains known as probiotics are “live microorganisms that, when administered in adequate amounts, confer a health benefit on the host”. The well-known microbe with prebiotic properties include traditional probiotics: lactic acid bacteria, *Saccharomyces*, etc., and the next generation probiotics: *Faecalibacterium prausnitzii*, *Bacteroides fragilis*, *Akkermansia muciniphila*, *Prevotella copri*, etc.. Probiotics and the health of humans are closely related. To regulate the host’s health, these bacteria can either trigger the gastrointestinal response through the stomach or can directly affect other organs like the mouth, vagina, and skin. As a result, they are often utilized in food production, agriculture, animal husbandry, and medicine. They are also effective instruments for enhancing host health. In order to provide references for the research on the development and application of probiotics resources, this paper reviewed the development and application of traditional probiotics like lactic acid bacteria and the next-generation of probiotics like *Akkermansia muciniphila*. It also summarized the potential of these probiotics in food production, disease treatment, and agricultural production, and prospected the development trend of probiotics resource research and application, in order to provide reference for the research on the development and application of new and old probiotics.

Keywords: traditional probiotics; next-generation probiotics; food production; healthy breeding; disease treatment; biodegradation

微生物资源在自然生态系统中广泛分布,约占地球生物量的 17%^[1];微生物个体相对微小、种类繁多^[2]、具有繁殖速度快、代谢旺盛、生理功能多样、易改造等特征。在数量庞大的微生物中,存在一类活性微生物,被称为益生菌,其能成功在宿主体内定殖、并在足够量摄入后对机体产生有益影响^[3]。益生菌(probiotic)一词源于希腊语,指的是“有益于生命”。Werner Kollath 最早

使用“益生菌”,用于描述为有助于恢复营养不良病人健康的各种含菌补充剂^[4],之后“益生菌”首次被定义为由一种微生物产生的对其他微生物具促生作用的物质^[5],而随着相关安全法规的完善,益生菌的定义最终被修改为:“严格选择的微生物菌株,如果给予足够的量,能够为宿主带来健康益处”^[6]。对于益生菌的发展简史,详见表 1。

表 1 益生菌发展简史^[4-6]Table 1 Brief history of the development of probiotics^[4-6]

时间	重要事件
1857	Louis Pasteur 通过显微镜观察在变酸的牛奶中发现乳酸菌
1878	Joseph Lister 首次从变酸的牛奶中分离出乳酸球菌
1892	Gabriele Döderlein 提出产乳酸的微生物对人有益
1899	Henry Tissier 首次从婴儿粪便中分离出双歧杆菌, 证实与婴儿腹泻及营养相关
1905	Stamen Grigorov 首次从酸奶中分离出保加利亚乳杆菌
1908	Elie Metchnikoff 正式提出了“益生菌长寿”的理论
1915	Daviel Newman 首次利用乳酸菌临床治疗膀胱感染
1920	Leo.F.Rettge 和 Harry A.Cheplin 证实嗜酸乳杆菌具有促消化的临床功效
1935	乳酸菌饮料养乐多问世
1953	Werner Kollath 首次使用“益生菌”描述有助于恢复营养不良病人健康的各种含菌补充剂
1965	Lilly D. M.和 Stillwell R. H.在 <i>Science</i> 期刊中首次用“益生菌”来描述由一种微生物产生的对其他微生物具促生作用的物质
1989	Roy Fuller 定义“益生菌”为: 一种活的微生物膳食补充剂, 能对寄主动物产生有益的作用
2002	FAO/WHO 定义“益生菌”为: 益生菌是活的微生物, 当摄入充足的数量时, 它会赋予宿主某种健康益处
2003	第一株益生菌植物乳植杆菌的全基因组测序完成
2009	Mary Ellen Sanders 定义“益生菌”为: 活性微生物, 如果给予足够的量, 能够为宿主带来健康益处
2014	ISAPP 修正“益生菌”为: 严格选择的微生物菌株, 如果给予足够的量, 能够为宿主带来健康益处
2016	FDA/CBER 制定了活体生物药(live biotherapeutics products, LBPs)指南, 定义 LBPs 为: 包含活的微生物如细菌, 能够预防、治疗或治愈某种疾病, 不是疫苗
2017	Colin Hill 等正式提出“下一代益生菌”概念, 认为应包括各类尚未得到应用的肠道非典型的益生菌以及基因改良微生物
2019	广州知易生物科技有限公司研发的活体生物药 SK08 首次在中国批准进入临床
2022	广州知易生物科技有限公司研发的 <i>Bacteroides fragilis</i> 活体生物药 SK10, 成为中国首个获美国 FDA 临床许可的下一代益生菌活体生物药

FAO/WHO: The Food and Agriculture Organization of the United Nations and the WHO, 联合国粮食及农业组织和世界卫生组织; FDA/CBER: Food and Drug Administration/Center for the Biologics Evaluation and Research, 美国食品和药品管理局/生物制品评价和与研究中心; ISAPP: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics, 国际益生菌和益生元科学协会.

众多研究者都认为益生菌与人体健康之间存在着密切的关系, 这些微生物可以通过肠道激活胃肠道效应, 或直接作用于口腔、阴道、皮肤等其他部位对宿主健康进行调控^[7]。随着现代生物技术的不断发展和人们健康意识的提高, 益生菌产业得到了井喷式发展, 越来越多的益生菌产品以膳食补充剂、乳制品、酶制剂及或其他生态制剂的形式相继问世。这些益生菌产品已被广泛应用于食品、种植业、畜牧业和医疗业中, 成

为改善人类健康的有力工具^[7]。

虽然在益生菌菌种资源发掘和产品开发等方面取得了一定成果, 但目前, 我们关于对益生菌作用机制的研究大多都是基于动物、细胞培养或体外人体模型。益生菌的益生机制往往只在体外或动物体内发挥作用, 在动物体内的研究并不总能在人体内被证实^[8], 如在动物模型中能改善克罗恩病和恢复心理健康的益生菌, 在临床实验中并没有益生作用^[9-10]。此外, 在治疗疾病方面,

不同益生菌菌株之间亦存在显著差异。例如,使用植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*)联合低聚果糖,可有效预防新生儿败血症^[11],但使用短双歧杆菌(*Bifidobacterium breve*)则无法预防早产儿坏死性小肠结肠炎和晚发型败血症^[12]。对益生菌如何调控人或动物的微生态机制研究的不清晰及对益生菌菌种本身特性认识的不足,使益生菌的深度研究及其产品的开发受到限制。

益生菌在食品、农业和医疗业等生命健康领域的应用潜力巨大,但我国的益生菌菌种资源发展仍较落后、新型益生菌资源发掘较少,严重制约了相关产业的健康发展,充分挖掘和利用我国宝贵的益生菌资源是促进益生菌产业健康可持续发展的关键。在这篇综述中,我们讨论了关于益生菌资源的一些见解,并将益生菌大致分为了两类,包括已被安全有效使用的传统益生菌:乳酸菌(lactic acid bacteria)、酵母菌(*Saccharomyces*)和放线菌(*Actinomycetes*)等,以及具有广泛应用前景的下一代益生菌(next-generation probiotics, NGPs),包括普拉梭菌(*Faecalibacterium prausnitzii*)、嗜黏蛋白阿克曼菌(*Akkermansia muciniphila*)、脆弱拟杆菌(*Bacteroides fragilis*)、普雷沃氏菌(*Prevotella copri*)和活体生物药(live biotherapeutic products, LBP)等^[7],同时,针对上述益生菌的功能的发掘与应用进行了综述,并对益生菌新型资源开发前景进行了展望。

1 传统益生菌

1.1 乳酸菌

乳酸菌(lactic acid bacteria)是指一类可发酵糖类产生乳酸的革兰氏阳性细菌的总称,广泛分布于土壤、食品以及植物、动物、人类的体内和体表,在系统分类学上分别隶属于厚壁菌门(*Firmicutes*)和放线菌门(*Actinobacteria*)。2020年,

Zheng等将1901年 Beijerinck 提出的乳酸菌的分类重新进行了注释,将其中的乳杆菌属重新划分为25个属^[13]。目前,应用最多的乳酸菌主要有双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、乳球菌属(*Lactococcus*)、肠球菌属(*Enterococcus*)、链球菌属(*Streptococcus*)、片球菌属(*Pediococcus*)、明串菌属(*Leuconostoc*)和魏斯氏菌属(*Weissella*)^[14]。我国2013年公布的《可用于食品的菌种名单》和《可用于饲料的菌种名单》中,乳酸菌分别有32种和24种,详见表2。乳酸菌可以代谢产生乳酸、短链脂肪酸、 γ -氨基丁酸、细菌素、有机酸、维生素、胞外多糖和乳糖酶等多种效应分子,赋予乳酸菌具有促进营养物质吸收、抗菌、抗感染、抗肿瘤、调控肠道菌群、调节免疫、代谢和生物修复等作用^[15-17]。乳酸菌已成为商业发展的理想选择,被广泛应用于食品、医疗和农业等领域。

1.1.1 乳酸菌在食品工业中的应用

乳酸菌是食品酿造、加工和保鲜中常用的微生物,通常用于生产传统的功能性食品,如酸奶、奶酪、酸菜、泡菜、发酵谷物餐和饮料。在食品生产中,乳酸菌可以改善食品的营养成分、提高营养价值、延长保质期、改善风味、增强抗氧化活性和抗菌活性以及清除食品中毒素等^[18]。

在各种发酵食品的生产中,植物乳植杆菌已被广泛作为发酵剂,可以改善食品的风味、质地和感官特性^[19]。当植物乳植杆菌 P-8 与酸奶发酵剂的比例为 1:100 时,可以获得较好的酸奶风味^[20]。虽然麦麸和米糠是小麦和大米加工的主要废料,但它们富含纤维、蛋白质和淀粉。用植物乳植杆菌发酵米糠和麦麸时,可增强硫化物和芳香剂的气味,提升饲料的适口性^[21]。此外,植物乳植杆菌还可以提高发酵产物中的核黄素、叶酸、维生素 B、胞外多糖和 γ -氨基丁酸等各种生物活性成分^[22-24]。

表 2 《可用于食品的菌种名单》和《可用于饲料的菌种名单》中的乳酸菌名录

Table 2 List of lactic acid bacteria available for food and lactic acid bacteria available for feed

《可用于食品的菌种名单》中的乳酸菌	《可用于饲料的菌种名单》中的乳酸菌
1 双歧杆菌属 <i>Bifidobacterium</i>	双歧杆菌属 <i>Bifidobacterium</i>
1.1 青春双歧杆菌 <i>Bifidobacterium adolescentis</i>	青春双歧杆菌 <i>Bifidobacterium adolescentis</i>
1.2 动物双歧杆菌动物亚种 <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>animalis</i>	动物双歧杆菌动物亚种 <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>animalis</i>
1.3 动物双歧杆菌乳亚种 <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	动物双歧杆菌乳亚种 <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i>
1.4 两歧双歧杆菌 <i>Bifidobacterium bifidum</i>	两歧双歧杆菌 <i>Bifidobacterium bifidum</i>
1.5 短双歧杆菌 <i>Bifidobacterium breve</i>	短双歧杆菌 <i>Bifidobacterium breve</i>
1.6 长双歧杆菌长亚种 <i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>longum</i>	长双歧杆菌长亚种 <i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>longum</i>
1.7 长双歧杆菌婴儿亚种 <i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>infantis</i>	长双歧杆菌婴儿亚种 <i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>infantis</i>
2 乳杆菌属 <i>Lactobacillus</i>	乳杆菌属 <i>Lactobacillus</i>
2.1 嗜酸乳杆菌 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	嗜酸乳杆菌 <i>Lactobacillus acidophilus</i>
2.2 卷曲乳杆菌 <i>Lactobacillus crispatus</i>	纤维二糖乳杆菌 <i>Lactobacillus cellobiosus</i>
2.3 德氏乳杆菌保加利亚亚种 <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	德氏乳杆菌保加利亚亚种 <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>
2.4 德氏乳杆菌乳亚种 <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>	德氏乳杆菌乳亚种 <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>
2.5 格氏乳杆菌 <i>Lactobacillus gasseri</i>	布氏乳杆菌 <i>Lactobacillus buchneri</i>
2.6 瑞士乳杆菌 <i>Lactobacillus helveticus</i>	
2.7 约氏乳杆菌 <i>Lactobacillus johnsonii</i>	
2.8 马乳酒样乳杆菌马乳酒样亚种 <i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> subsp. <i>kefiranofaciens</i>	
3 乳酪杆菌属 <i>Lacticaseibacillus</i>	乳酪杆菌属 <i>Lacticaseibacillus</i>
3.1 干酪乳酪杆菌 <i>Lacticaseibacillus casei</i>	干酪乳酪杆菌 <i>Lacticaseibacillus casei</i>
3.2 副干酪乳酪杆菌 <i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	副干酪乳酪杆菌 <i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
3.3 鼠李糖乳酪杆菌 <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	
4 粘液乳杆菌属 <i>Limosilactobacillus</i>	粘液乳杆菌属 <i>Limosilactobacillus</i>
4.1 发酵粘液乳杆菌 <i>Limosilactobacillus fermentum</i>	发酵粘液乳杆菌 <i>Limosilactobacillus fermentum</i>
4.2 罗伊氏粘液乳杆菌 <i>Limosilactobacillus reuteri</i>	罗伊氏粘液乳杆菌 <i>Limosilactobacillus reuteri</i>
5 乳植杆菌属 <i>Lactiplantibacillus</i>	乳植杆菌属 <i>Lactiplantibacillus</i>
5.1 植物乳植杆菌 <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	植物乳植杆菌 <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
6 联合乳杆菌属 <i>Ligilactobacillus</i>	
6.1 唾液联合乳杆菌 <i>Ligilactobacillus salivarius</i>	
7 广布乳杆菌属 <i>Latilactobacillus</i>	
7.1 弯曲广布乳杆菌 <i>Latilactobacillus curvatus</i>	
7.2 清酒广布乳杆菌 <i>Latilactobacillus sakei</i>	
8 链球菌属 <i>Streptococcus</i>	链球菌属 <i>Streptococcus</i>
8.1 唾液链球菌嗜热亚种 <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>	唾液链球菌嗜热亚种 <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>
9 乳球菌属 <i>Lactococcus</i>	肠球菌属 <i>Enterococcus</i>
9.1 乳酸乳球菌乳亚种 <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	乳酸肠球菌 <i>Enterococcus lactis</i>
9.2 乳酸乳球菌乳亚种(双乙酰型) <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>	粪肠球菌 <i>Enterococcus faecalis</i>
9.3 乳脂乳球菌 <i>Lactococcus cremoris</i>	屎肠球菌 <i>Enterococcus faecium</i>
10 明串珠菌属 <i>Leuconostoc</i>	
10.1 肠膜明串珠菌肠膜亚种 <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>	
11 片球菌属 <i>Pediococcus</i>	片球菌属 <i>Pediococcus</i>
11.1 乳酸片球菌 <i>Pediococcus acidilactici</i>	乳酸片球菌 <i>Pediococcus acidilactici</i>
11.2 戊糖片球菌 <i>Pediococcus pentosaceus</i>	戊糖片球菌 <i>Pediococcus pentosaceus</i>
12 魏茨曼氏菌属 <i>Weizmannia</i>	魏茨曼氏菌属 <i>Weizmannia</i>
12.1 凝结魏茨曼氏菌 <i>Weizmannia coagulans</i>	凝结魏茨曼氏菌 <i>Weizmannia coagulans</i>

乳杆菌属和乳酪杆菌属常用于各种水果、谷物和蔬菜等多种植物的发酵,通过发酵释放活性酚类化合物,改变食品中的酚类成分。在发酵产物中,具有抗炎、抗氧化和抗菌等作用的游离酚类化合物的浓度显著增加,包括没食子酸、丁香酸、咖啡酸、儿茶素、香草酸、对香豆酸、阿魏酸、表儿茶素和原花青素 A2 等^[25]。植物乳植杆菌 21802 和短乳杆菌 6239 在葡萄汁中共培养 1 h 后显著增加了发酵液中原花青素 B2、B12、儿茶素和表儿茶素的浓度^[26]。使用嗜酸乳杆菌、干酪乳酪杆菌和副干酪乳酪杆菌的混合培养物发酵藜麦后,显著增加了原花青素 B2、槲皮素和山奈酚的浓度^[27]。同时,不同的乳酸菌在发酵底物的利用和发酵产物的生成中均有较大差异。如,嗜酸乳杆菌在甘薯发酵中可水解 4,5-二咖啡酰奎宁酸,而在甘蔗渣为底物发酵时显示出阿魏酸酯酶活性^[28-29]。比较分析不同菌中酚类代谢基因分布信息,可为选择新益生菌株以及预测发酵产物提供依据,增加对乳酸菌在发酵食品中作用机制的认识,从而针对性地转化酚类化合物来提高食品质量。

截至目前,超过 200 种疾病是由摄入被污染的食物引起的,污染食物的有毒成分包含:细菌毒素(志贺毒素、李斯特溶血素、肉毒杆菌毒素)、霉菌毒素(黄曲霉毒素、赭曲霉毒素、玉米赤霉烯酮、伏马菌素)、不同类别的杀虫剂(有机氯、有机磷酸盐、合成拟除虫菊酯)、重金属和天然抗营养素,如植酸盐、草酸盐和产生氰化物的糖苷^[30]。乳酸菌代谢产生的酸、醇、醛、酮、杂环、有机化合物酶、胞外多糖等均有助于抵抗产毒素菌^[31-34]。乳酸的抑菌机制可概括为,通过损害细胞内外的 pH 梯度破坏膜电位来杀死致病菌^[32],代谢过程中产生的异丁酸酯和异戊酸酯^[31]、乙酸盐、丁酸盐、甲酸盐、琥珀酸盐、丙酸盐、戊酸盐和己酸也产生了相同的抗菌效

果^[35]。乳酸菌还可生成苯乳酸、吡啶乳酸、4-羟基苯乳酸和羟基苯乙酸,它们在酸面团中都具有抗菌活性^[33]。3 种不同的植物乳植杆菌(LP1、LP2 和 LP3)对大肠杆菌 ATCC 25922 和金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 表现出高抗菌活性^[36]。植物乳植杆菌 105 对单核细胞增生李斯特菌的抑制作用最强,而植物乳植杆菌 106 和 107 对大肠杆菌 O157:H7 的抑制作用最强^[37]。乳酸菌还能产生多种抗真菌物质,进而防止食物被真菌污染。植物乳植杆菌 ZZUA493 对黑曲霉、米曲霉、长臂木霉、黄曲霉和小麦赤霉病菌表现出广谱抗真菌能力^[38]。此外,乳酸菌还可通过细胞表面的吸附作用,来降低环境中的黄曲霉毒素、赭曲霉毒素、玉米赤霉烯酮、伏马菌素等霉菌毒素的含量^[39]。乳酸菌对食品中有机氯、有机磷和拟除虫菊酯农药的降解机制,可能是其代谢产生的羧基酯酶、有机磷酸水解酶、磷酸三酯酶和磷酸酶的酶解^[30]。乳酸菌细胞壁表面的肽聚糖、磷酸和 S 层蛋白使其表面带负电,可与重金属阳离子(Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 等)结合,沉降食品中的重金属污染^[30]。综上所述,乳酸菌是分解食品工业有毒物质及对抗病原微生物方面的潜在生物防治剂,不仅可持续代替抗生素等抗菌剂,且在功能性食品的开发方面具有广阔的潜力。

1.1.2 乳酸菌在医疗中的应用

乳酸菌的益生作用已在动物模型和临床试验中得到大量研究。这些促进健康的作用包括抗感染、抗炎、免疫调节及预防过敏性疾病等^[16]。已有研究报道,包含植物乳植杆菌在内的 6 种乳酸菌能够增加自然杀伤(natural killing, NK)细胞的数量,并促进 NK 细胞中干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)的表达和分泌^[40]。IFN- γ 不仅改善了结肠肿瘤 HCT116 细胞的细胞毒性,还改善了人慢性粒细胞白血病 K562 细胞的细胞毒性^[40]。除植物乳植杆菌活菌外,其胞外多糖也可抑制结肠

癌细胞的增殖^[41]。植物乳植杆菌 LMT1-48 对高脂肪饮食诱导的肥胖小鼠具有抗肥胖作用, 该菌株下调了包括过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ)、CCAAT/增强子结合蛋白 α (CCAAT/enhancer-binding protein α , C/EBP α)、脂肪酸合酶 (fatty acid synthase, FAS) 和脂肪酸结合蛋白 4 (fatty acid-binding protein 4, FABP4) 在内的成脂基因的表达, 降低了肥胖小鼠的体重^[42]。此外, 植物乳植杆菌还可以通过调控肠道微生物群及其代谢物, 从而抑制肥胖, 减少肝脏脂质积累并改善脂质代谢^[43]。植物乳植杆菌可治疗癌症、肠易激综合征和艰难梭菌感染, 并可对人体肠道微生物组和免疫系统的组成产生积极改变^[44]。可产乳酸及具有降解游离棉酚的凝结魏茨曼氏菌^[45], 也已被报道可调节肠道菌群, 改善葡聚糖硫酸钠盐(dextran sulfate sodium salt, DSS) 诱导的小鼠结肠炎^[46]。发酵粘液乳杆菌可通过抑制空肠弯曲杆菌、多重耐药金黄色葡萄球菌及其他食源性细菌的生长, 有助于预防和治疗胃肠道感染, 并减少结肠炎等炎症的发生。此外, 发酵粘液乳杆菌还被认为是一种潜在的抗癌、抗糖尿病药物^[47]。除了对肠道和免疫系统有益外, 乳酸菌产生的乳酸、过氧化氢和 S 层蛋白等物质, 还能够通过抑制有害菌的生长、减少炎症作用和调控免疫系统等, 从而促进阴道健康^[48]。

1.1.3 乳酸菌在农业中的应用

(1) 乳酸菌在养殖业中的应用

乳酸菌做为畜禽养殖的饲料添加剂, 极大地改善了牲畜的生长性能和健康状况。其主要机制可以概括为乳酸菌可以提高饲料转化率、增强宿主吸收营养效率, 刺激宿主免疫系统, 以及调节宿主肠道微生物组成。如在猪饲料中添加乳酸杆菌可以通过激活 Toll 样受体 2 (Toll-receptor 2, TLR2)、细胞外信号调节激酶 1/2/c-jun 氨基末端

激酶 (extracellular signal-regulated kinase 1/2/c-jun N-terminal kinase, ERK1/2/JNK) 和 c-jun/c-fos 信号通路 (c-jun/c-fos signaling pathways) 诱导防御蛋白的表达^[49], 并促进肠淋巴细胞的增殖^[50], 从而调控猪肠道免疫, 促进其生长。饲料中添加乳酸菌不仅可以促进肉鸡的生长, 还可提高肉鸡肠道免疫球蛋白 A (broiler intestinal immunoglobulin A, sIgA) 和血清白细胞介素(interleukin, IL)-4 的分泌^[51], 缓解产气荚膜梭菌引起的肠道炎症, 重塑肉鸡体内的肠道微生物群落组成^[52]。研究表明, 在饲料中添加乳酸杆菌后, 饲喂北京鸭可提高其肠道中的紧密连接蛋白 Claudin、Occludin 的转录水平表达, 以增强肠道的屏障功能, 进而促进宿主免疫力和肠道健康。同时, 添加乳酸杆菌, 还可以增加有益细菌的丰度, 这在改善北京鸭的生长性能和肠道健康方面提供了巨大潜力^[53]。

青贮是一种利用乳酸菌在厌氧条件下发酵水溶性碳水化合物化合物的方法, 以降低饲料 pH 值, 从而保存新鲜牧草的过程^[54]。为了进一步提高青贮发酵质量, 现已开发了多种不同的青贮乳酸菌添加剂, 并且这些乳酸菌已经被证明在青贮发酵的好氧稳定性和动物生产力的影响方面都起到了重要作用^[17]。添加乳酸菌发酵后的青贮饲料除产生有机酸外, 还能产生多种有益代谢产物, 包含但不限于 1,2-丙二醇、细菌素、3-苯基乳酸、芳香族化合物、胞外多糖、酶和维生素。此外, 添加乳酸菌发酵后的青贮饲料还具有降解农药残留、高饲料利用率, 以及相对较高的抗氧化活性等益生性能^[55-57]。不同种类的乳酸菌接种剂在青贮过程中执行不同的功能并具有不同的发酵模式。一般来说, 青贮早期主要由球菌(明串珠菌、乳球菌和肠球菌等)发挥乳酸发酵的作用, 而这些菌对低 pH 值的耐受性低于乳酸杆菌^[58]。而在青贮后期主要由乳酸杆菌发挥降低

pH 值的作用^[58]。如在苜蓿青贮时分别接种植物乳植杆菌、戊糖片球菌和粪肠球菌或其组合,在青贮初期,接种戊糖片球菌的青贮饲料中 pH 值下降最快,乳酸浓度升高最快;同时,经过 60 d 青贮后,不同接种剂组的代谢产物和微生物群落均有显著差异,这可能是通过调控青贮过程中细菌群落的演变、相互作用和代谢途径来实现的^[59]。

乳酸菌可以通过降解膳食纤维来提高饲料的利用率。研究表明,在不灭菌条件下凝结魏茨曼氏菌 LA204 可以对氢氧化钠预处理的玉米秸秆进行补料分批同步糖化发酵生产高效价乳酸^[60-61],相似地,戊糖乳植杆菌也可利用玉米秸秆分批同步糖化发酵生产高效价乳酸^[62],制备优质乳酸秸秆饲料,提高饲料利用率。而在青贮过程中接种产生阿魏酰酯酶的乳酸菌可促进牧草木质纤维素降解,同时增加青贮饲料中阿魏酸浓度^[63]。通过乳酸菌的发酵作用处理青贮饲料,不仅可以提高其利用率外,还能通过乳酸菌产生的阿魏酰酯酶增强宿主动物的抗氧化和免疫力。此外,苜蓿青贮饲料通过接种产生阿魏酰酯酶的乳酸菌进行发酵后,饲喂母山羊时羊奶中的乳脂和乳蛋白浓度也能显著增加^[64]。而大麦青贮饲料通过接种布氏乳杆菌、植物乳植杆菌和干酪乳杆菌进行发酵后,可以提高青贮饲料的有氧稳定性,饲喂肉牛时其增重效率也显著增加^[65]。除了畜牧养殖外,在水产养殖中,使用发酵饲料饲喂小龙虾时,可显著提高其肠道中拟杆菌门的相对丰度,提高其对多糖降解等功能^[66]。

除促进发酵外,乳酸菌还可以通过调控发酵过程中的微生物群落的变化来防止饲料霉变及抑制致病菌^[17],同时乳酸菌还可以降解发酵底物中的有毒物质,如农药及有害代谢产物。乳酸菌产生的细菌素是畜牧业中使用的传统抗生素的潜在和有效替代品。细菌素可以在致病菌膜表

面形成孔,增加膜的通透性,改变细胞质膜电位和跨膜 pH 梯度,从而破坏细胞膜的完整性,最终导致致病菌的死亡。已有研究报道,在青贮饲料中添加产细菌素的乳酸乳球菌或乳酸片球菌等可抑制单核细胞增生李斯特菌^[67]、酵母菌和霉菌^[68]的增殖及提高青贮饲料的发酵质量。此外,青贮玉米、苜蓿和牧草中的乳酸菌代谢产生的 3-苯基乳酸也具有抗真菌活性,是饲料、食品、制药和化妆品工业中的重要防腐剂^[69]。上述结果表明,这些乳酸菌在预防饲料霉变方面具有重要作用,筛选合适的乳酸菌发酵饲料来提高饲料发酵质量、保证未来饲料质量安全,特别是作为抗生素的替代品也尤为必要。此外,乳酸杆菌和明串珠菌等乳酸菌属已被证明可利用杀虫剂作为碳源和能源进行代谢^[70],这也为在青贮饲料中利用乳酸作为解毒剂降解有毒化合物提供一种创新策略。目前已有研究报道,植物乳植杆菌在小麦发酵过程中可以降解 81% 的吡啶磷-甲基(农药),而不会影响细菌生长和发酵活性^[71]。从苜蓿青贮饲料中筛选出的新型 β -氯氰菊酯降解菌株戊酸乳杆菌在接种发酵时,不仅提高了青贮饲料的发酵质量,且降解了青贮饲料中的 β -氯氰菊酯^[72]。从山羊粪便中筛选鉴定的高温凝结魏茨曼氏菌可高效降解棉籽粕中的有毒物质游离棉酚,对棉籽粕饲料进行脱毒^[45]。从染料污染的土壤中分离出来的粪肠球菌可降解碱性预处理玉米秸秆中的酚类化合物,当与戊糖乳植杆菌共同发酵时,与单独使用戊糖乳植杆菌相比,不仅降解了发酵产物中的有毒酚类,还使其乳酸浓度提高了近 2 倍^[73]。因此,筛选发掘有毒物质降解乳酸菌对减少饲料中农药、有毒代谢产物残留,提高发酵品质具有重要的实用价值。目前有关饲料乳酸菌及其功能的研究仍处于起步阶段,其潜力尚未充分发掘,需要进一步探索乳酸菌与饲料、动物之间的联系,将饲料进一步

开发为向动物输送益生菌物质的载体。

(2) 乳酸菌在种植业中的应用

乳酸菌因其较高的生物安全性和能产生多种有益代谢产物的优势,已被广泛用于促进作物生长、防治植物病虫害等方面。植物微生物组中常见的乳酸菌主要有肠球菌、乳球菌、乳酸杆菌、明串珠菌、链球菌和魏斯氏菌属^[74]。乳酸菌可以通过调节磷和钾等重要营养元素的摄取、固定氮以及植物激素和铁载体的产生,直接抑制植物病害和促进植物生长^[75];同时,乳酸菌还可以产生多种抗菌化合物(包括细菌素、二酮哌嗪、脂肪酸的羟基衍生物、3-苯基乳酸)来协助植物抵御病害,或者分泌植物激素和生长素,如赤霉素(gibberellin, GA)、吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)等间接地来促进植物生长^[75]。此外,乳酸菌的代谢产物乳酸、乙酸、丙酸、甲酸、苯甲酸、过氧化氢和聚乳酸(poly-lactic acid, PLA)也被报道可对多种目标微生物发挥抗菌活性^[37,76]。它们的抗菌作用模式是多种多样的,包括干扰细胞壁发育、破坏细胞质膜、抑制蛋白质合成、干扰DNA的复制和转录以及干扰隔膜形成等^[77]。尽管乳酸菌在植物微生物组中无处不在,但它们作为生物防治剂和植物发育促进剂的潜在作用仍经常被忽视。大量的研究表明,乳酸菌可以安全地投入到农业生产中,用于控制植物病害和促进植物生长。当然,需要进一步的研究乳酸菌在田间条件下的生物防治效率以及乳酸菌作为生物防治剂,与其他生物防治技术使用的综合防治计划,进而提高对植物病原体的抑制效率并实现可持续粮食安全生产。

1.2 酵母菌

酵母是一种单细胞真菌,能够发酵糖类,在环境中无处不在。许多传统的发酵食品和饮料中均含有酵母,它们也被广泛应用于工业和医学领域。常见的酵母包括红冬孢酵母(*Rhodosporidium*)、

耶氏酵母(*Yarrowia*)和酿酒酵母(*Saccharomyces*)等。不同的环境中其酵母的种类也不同,如在发酵食品和饮料中,德巴利氏酵母丰度最高,其次是念珠菌、毕赤酵母和克鲁维酵母菌等;在酒精饮料中最丰富的是酿酒酵母;发酵乳制品中的优势菌株是克鲁维酵母菌;而在发酵蔬菜中,毕赤酵母、耶氏酵母和梅氏酵母是主要种类;在鱼类发酵品中,异常威克汉姆酵母(*Wickerhamomyces*)和假丝酵母最为常见;在发酵肉制品中则是德巴利氏酵母和耶氏酵母;而在发酵谷物中为德巴利氏酵母;以及发酵豆类中,孢圆酵母则是主要种类之一^[78]。

目前研究发现大部分酵母菌具有多种益生特性,如调节肠道平衡、促进饲料转化以及提高宿主免疫功能等,被广泛应用于畜禽养殖和人类益生菌领域^[79]。酿酒酵母的变种布拉迪酵母具有抗菌、抗病毒、抗癌、抗氧化、抗炎和免疫调节特性,因此成为市场上最常见的人类益生酵母。布拉迪酵母可用于预防和治疗人类胃肠道疾病,如抗生素相关性腹泻(antibiotic-associated diarrhea, ADD)、炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)、免疫缺陷患者的慢性腹泻、以及成人和儿童的急性腹泻。此外,它还表现出对治疗艰难梭菌和幽门螺杆菌的感染有积极作用^[80]。布拉迪酵母治疗胃肠道疾病的机制涉及多个方面,包括调节免疫、产生抗菌物质、竞争性消除病原体、维持肠道屏障完整性、提高肠道吸收营养效率和抗氧化作用^[81]。此外,临床数据证实,布拉迪酵母在治疗多种肝脏疾病,如急性肝损伤/衰竭、纤维化、代谢紊乱或感染引起的肝损伤和梗阻性黄疸中也具有潜在的治疗功效^[82]。酵母通过多种机制发挥益生作用,如抑制肠道致病菌生长、减少肠道微生物生态畸变、降低宿主细胞与致病菌的亲合力、阻挠致病受体活性位点、增强艰难梭菌毒素抗体的产生、降低肿瘤环

死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF α)基因的表达、提高肠紧密连接蛋白的合成和刺激调节性T细胞的表达等。

1.3 放线菌

放线菌是一类革兰氏阳性细菌,能够形成分枝菌丝和孢子。它们分布于各种环境中,包括极端环境、未充分开发的栖息地、陆地和海洋、内生植物和红树林等。在土壤中的含量极其丰富,1 g土壤中含有约含有 10^9 CFU个细菌,其中 10^7 CFU的为放线菌^[83]。主要代表菌属有链霉菌属 *Streptomyces*、诺卡氏菌属 *Nocardia* 和放线菌属 *Actinomyces* 等。其中的链霉菌是放线菌中的一个重要代表,其具有广泛的经济和医学价值,能够产生多种抗生素^[84]。链霉菌的基因组为线性,GC含量极高(>70%),基因组较大(8–10 Mb),基因组上有多个生物合成基因簇,是许多具有医疗或农业用途的生物活性化合物的来源。

链霉菌不仅能产生抗菌物质和分泌的消化酶,还能形成的耐热和耐干燥的孢子,使其在水产养殖中被广泛的应用。大量研究表明链霉菌对水产养殖有积极作用,特别是在提高存活率、生长率、饲料转化效率和预防肠道感染方面。如从土壤中分离的 *S. amritsarensis* N1-32 可抑制10种鱼类病原菌,显著提高草鱼的存活率^[85]。另外,链霉菌不仅在水产养殖中具有益生作用,在陆地脊椎动物中同样也有益生作用。如,从肉鸡中筛选鉴定的 *Streptomyces* sp. JD9 作为饲料添加剂可显著提高肉鸡的生长性能,且具有良好的粘附性能和非溶血活性^[86]。从海龟蛋壳中分离出的链霉菌,可抵御镰刀菌感染,避免海龟卵融合症的发生^[87]。此外, *S. fradiae* 分泌的大环内酯类抗生素泰乐菌素,已被广泛用于饲料添加剂,用作促进动物生长和疾病治疗^[88]。目前产自 *S. toxytricini* 的抗生素奥利司他已被批准用于

合成减肥药, 并已开始应用于临床^[89]。

链霉菌另一个重要的益生菌特性是它的解毒能力。动物饲料中常受到真菌毒素的污染,如黄曲霉毒素、伏马菌素、赭曲霉毒素和玉米赤霉烯酮等。可可链霉菌阿苏亚种(K234)已被证明能有效降解黄曲霉毒素并消除遗传毒性, *S. rimosus* (K145 和 K189)几乎可以100%降解玉米赤霉烯酮^[90]。筛选和发掘更多的毒素降解链霉菌,使毒素在被肠道吸收之前就将其降解,将为人类的安全饮食提供更多的保障。

2 下一代益生菌

近年来,随着测序技术和生物信息学技术的发展,我们发现了一类具有极大益生潜力的微生物,称为下一代益生菌(next-generation probiotics, NPGs),其定义为,“比较分析微生物群落后确定的活的微生物,当施用足量时,对宿主的健康有益”^[91]。目前研究较多的NPGs主要有:普拉梭菌(*Faecalibacterium prausnitzii*)、嗜黏蛋白阿克曼菌(*Akkermansia muciniphila*)、脆弱拟杆菌(*Bacteroides fragilis*)、普雷沃氏菌(*Prevotella copri*)、活体生物药(live biotherapeutic products)、多形拟杆菌(*Bacteroides thetaiotaomicron*)、金氏拟杆菌(*Parabacteroides goldsteinii*)、小克里斯滕森氏菌(*Christensenella minuta*)、霍氏真杆菌(*Eubacterium hallii*)以及戈氏副拟杆菌(*Parabacteroides goldsteinii*)等^[92-93]。下一代益生菌是一把双刃剑,因此对候选菌株进行系统的安全性评价至关重要。评价内容应包括菌株的稳定性、耐受胃酸和胆盐能力、抗药性、抗生素敏感性、转移性以及移位可能性、产品生产的可控性和稳定性等方面,以确保候选益生菌使用的安全性和有效性。此外,与乳酸菌等传统的益生菌不同,下一代益生菌应把培养目标鉴定在种水平

上,且在使用时需严格限定适用人群,以实现精准施用。O'Toole 等指出,下一代益生菌应该包括各种未开发和使用的肠道非典型益生菌和基因改造菌种。这些菌种源于宿主的共生菌,目前还处于实验室研究阶段,然而,最终它们可能会被列入益生菌名录或被开发成为生物药物^[94]。目前,在下一代益生菌的开发中,主要有两种策略被广泛应用。一种是将特定菌株的存在或缺失与健康表型关联起来,并探索该菌株在一定的数量下其是否可以重现健康表型,这与目前益生菌的开发策略相似。另一种策略则是选择具有明确特征的益生菌菌株,并将其作为特定分子的传输载体。这种策略同样基于对某种机制的了解,表明该分子的添加将解决疾病表型并提高健康状况^[94]。

2.1 普拉梭菌

普拉梭菌(*Faecalibacterium prausnitzii*)是人体肠道中丰度最高的共生菌之一,占健康成人细菌总数的5%以上^[95]。属于瘤胃球菌科、厚壁菌门的厌氧革兰氏阳性杆菌,对氧气高度敏感,且极难在实验室中进行培养。目前,随着宏组学测序技术的发展,已鉴定了402种*F. prausnitzii*菌株,但仅有14种被完整测序。*F. prausnitzii*菌株中似乎不存在内源性质粒,其染色体呈环状结构,大小约3 Mb,其中编码了约3 000种蛋白质^[95]。大多数*F. prausnitzii*均可利用简单的碳水化合物为碳源,但在发酵复杂的碳水化合物时不同菌株存在明显差异^[96-97]。此外,普拉梭菌还可以利用肠粘膜糖蛋白中的N-乙酰葡萄糖胺作为其碳源^[97]。

*F. prausnitzii*具有抗炎特性,在肠道生理和宿主健康中起着至关重要的作用。该菌在发酵葡萄糖时可产生短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs),甲酸以及D-乳酸等代谢产物^[92,96]。它是肠道中最重要的产生丁酸盐的细菌之一,而丁

酸盐是一种短链脂肪酸,可为结肠细胞提供能量、增强上皮屏障的完整性和黏膜免疫、调节肠-脑轴、抑制组蛋白的脱乙酰化等^[98]。研究表明,在结肠炎重、中度模型中,灌胃给予*F. prausnitzii*可通过下调MPO⁺、促炎细胞因子和T细胞的表达来显著降低结肠炎疾病指数^[99]。有趣的是,*F. prausnitzii*分泌到培养基上清液中的七肽微生物抗炎蛋白(15 kDa 蛋白)也具有阻断核因子κB(nuclear factor kappa-B, NF-κB)通路的能力^[100],可通过释放增强肠道屏障功能和影响细胞膜通透性的代谢物来减轻炎症^[101-102]。此外,*F. prausnitzii*还可以保护结肠上皮屏障免受辐射的损害,在大鼠体内接种该菌株可减轻辐射诱导的细胞膜高通透性和结肠粘膜中中性粒细胞的浸润,同时提高结肠隐窝上皮细胞白细胞介素18(interleukin-18, IL-18)的含量^[103]。*F. prausnitzii*已被开发为治疗癌症的潜在药物。在乳腺癌患者中,*F. prausnitzii*的丰度降低,与各种磷酸胆碱呈负相关。研究表明,接种*F. prausnitzii*可以通过抑制白细胞介素6/信号传导转录启动因子3(interleukin-6/signal transducer and activator of transcription 3, IL-6/STAT3)途径抑制乳腺癌(breast cancer, BC)细胞生长^[104]。同时,*F. prausnitzii*菌群及其代谢物(如磷胆碱)的变化似乎可用于生物标志物检测乳腺癌^[104]。在慢性肾病(chronic kidney disease, CKD)患者中,补充*F. prausnitzii*可改善CKD小鼠的肾功能障碍和肾脏炎症,并降低血清中各种尿毒症毒素的水平,这可能归因于丁酸盐介导的G蛋白偶连受体43(G-protein coupled receptor-43, GPR-43)信号通路,改善了肠道微生态和肠道完整性^[105]。近年来,肠道微生物菌群在评估疾病诊断和/或预后方面引起了人们的兴趣。据报道,粪便或粘膜相关的*F. prausnitzii*的丰度是可作为潜在生物标志物检测肠道疾病的指标^[106],低*F. prausnitzii*

丰度与肠道疾病(如结直肠癌、克罗恩病和溃疡性结肠炎等)的发生有关^[107]。目前需要进一步的前瞻性研究来确定这些生物标志物的可靠性,以便长期监测治疗的疗效。

2.2 嗜黏蛋白阿克曼菌

嗜黏蛋白阿克曼菌(*Akkermansia muciniphila*)是一种耐氧厌氧细菌、属于革兰氏阴性菌,其形状多为椭圆形。该菌定殖于人类胃肠道的黏液层、多分布于结肠中、占粪便菌群的1%–4%^[108]。该菌株属于疣微菌门、*Akkermansia*属,目前从不同肠道环境中已分离出多个*A. muciniphila*亚群。在临床和人体实验中应用最多的人源*A. muciniphila* MucT。*A. muciniphila*可在较宽的温度范围和pH值范围内生长,并具有一定的耐氧性^[109]。该菌编码567种分泌蛋白,例如糖水解酶、唾液酸酶和硫酸酯酶^[110]。这些特性表明,*A. muciniphila*是一种适应性强的肠道菌群,在肠道健康维护中起着重要作用。

经过巴氏消毒的*A. muciniphila*是第一个获得欧洲食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)批准的具有益生作用的NGPs,在功能性食品中活细胞数量低于10 CFU/g的条件下,目标人群每天摄入 3.4×10^{10} 个菌体是安全的^[111]。研究表明,*A. muciniphila*在代谢紊乱、肠道炎症、神经退行性疾病和癌症等方面都具有益生作用^[112]。每天口服经巴氏消毒后的*A. muciniphila*可能会通过减少碳水化合物的吸收和增强肠上皮细胞的功能,来改善因饮食引起的肥胖^[113]。研究还发现,在代谢紊乱的糖尿病、肥胖、非酒精性脂肪肝和心血管疾病患者中,*A. muciniphila*水平显著降低^[110,112]。小鼠接种*A. muciniphila*后可改善高脂饮食诱导的代谢紊乱,包括脂肪重量的增加、脂肪组织炎症和胰岛素抗性。此外,小鼠胆固醇水平和血清甘油三酯水平也得到了降低^[114]。*A. muciniphila*可以通过多种

途径对小鼠肝脏脂质代谢产生积极影响,并预防非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)。具体而言,*A. muciniphila*可通过调节参与脂肪合成的基因的表达(如,抑制甾醇调节元件结合蛋白的表达)和肝脏中不同的炎症标志物[如下调白细胞介素1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)和髓过氧化物酶的表达]^[115]。除上述功能之外,*A. muciniphila*还表现出在多个方面维护宿主健康的潜力。在动脉粥样硬化的小鼠模型[apolipoprotein E-deficient (ApoE^{-/-})小鼠]中,补充*A. muciniphila*成功改善了小鼠动脉粥样硬化病变^[116]。*A. muciniphila*在肠道炎症背景下的益生功能也得到了证实。补充*A. muciniphila*可恢复结肠炎小鼠的肠道屏障功能、改善DSS诱导的结肠炎、恢复体重和结肠长度^[117]。在结直肠癌患者,IL-2和*A. muciniphila*联合治疗呈现出更强的抗肿瘤效果,口服*A. muciniphila*可显著增强白细胞介素2(interleukin-2, IL-2)对皮下黑色素瘤和结直肠癌小鼠的治疗效果^[118]。另外,研究还发现,*A. muciniphila*具有保持肠道健康所必需的多种功能,如能够维持肠道免疫和调节肠道屏障功能。*A. muciniphila*可通过恢复杯状细胞的数量、增强紧密连接蛋白Occludin和Claudin的蛋白表达来改善粘液厚度^[119]。*A. muciniphila*还可以分泌一种外膜绒毛样蛋白,通过调节特定细胞因子和Toll样受体(TLR2和TLR4.67)来增强宿主的免疫系统、维持肠道屏障的完整性,从而抑制病原菌的感染^[120]。

2.3 脆弱拟杆菌

脆弱拟杆菌(*Bacteroides fragilis*)为一种共生的革兰氏阴性专性厌氧菌,在人类胃肠道的下部定殖,约占肠道微生物群的1%^[121-122]。近期的

研究表明,此菌还广泛存在于口腔、上呼吸道和女性生殖道中。*B. fragilis* 呈杆状、末端为圆形,菌落光滑、几乎无凸起。脆弱拟杆菌属于机会性病原体,包含 2 种亚型:非产毒型和产肠毒素型(enterotoxin-producing type, ETBF)。大多数 ETBF 菌株具有编码脆弱拟杆菌毒素(bacteroides fragile toxin, BFT)的 *bft* 基因,这是其产毒性的原因^[123]。与此同时,一些非产毒型的脆弱拟杆菌被认为对宿主肠道健康具有积极作用。这些菌株通过释放多糖 A (polysaccharide A, PSA) 等有益物质,来促进肠道健康^[124]。

近年来的研究表明,脆弱拟杆菌在多种疾病中都具有益生性的作用。脆弱拟杆菌能够介导 CD4 T 细胞反应,并通过产生多种细胞因子,如白细胞介素 IL-2、干扰素 γ 和白细胞介素 IL-10 等,来抑制病原菌感染宿主,减轻脓肿的形成^[125-126]。在无菌小鼠中补充脆弱拟杆菌后,可促进免疫系统和身体发育^[127]。而在结肠炎小鼠中补充脆弱拟杆菌,则可以缓解结肠炎动物模型中的肠道炎症,并可抵抗致病菌的感染^[128]。此外,脆弱拟杆菌还可促进短链脂肪酸(SCFAs)的分泌,负调控 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)介导的炎症信号通路,抑制巨噬细胞的激活和白细胞介素 IL-18、IL-1 β 等促炎介质的分泌,从而降低肠道炎症水平,限制结肠炎相关癌症的发展。脆弱拟杆菌的一些菌株,如 HCK-B3 和卵形拟杆菌 ELH-B2,则通过减少促炎因子(如 TNF- α)和增加抗炎因子 IL-10、恢复 Treg/Th-17 平衡等方式,来维持肠道微生物群的多样性,并减少脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的炎症反应^[129]。研究发现,自闭症谱系障碍小鼠具有社交障碍和胃肠道屏障缺陷等特征,口服脆弱拟杆菌可以改善这些缺陷,并且对后代的神经发育障碍和胃肠道

异常有明显改善作用^[130]。除上述疾病之外,在其他疾病模型中也发现了脆弱拟杆菌的益生作用。脆弱拟杆菌释放的 PSA 还可以通过诱导 CD4 T 细胞的扩增和 IL-10 的产生来预防气道炎症和实验性哮喘^[131],通过降低 LPS 和提高 1,5-无水葡萄糖醇(1,5-gluconitol anhydrous, 1,5-AG)水平来改善小鼠的肾纤维化^[132],或通过调节性 T 细胞介导的炎症途径来预防大鼠衰老相关的心房颤动^[133]。脆弱拟杆菌的另一个益生作用是通过抑制其他微生物的生长或易位来抵御细菌感染,而这一作用被广泛应用于不同的细菌感染模型。如,在艰难梭菌感染小鼠模型中,补充脆弱拟杆菌后,可通过预防细胞凋亡以及减少紧密连接蛋白 ZO-1 和粘蛋白 MUC-2 的损失,来保持肠道屏障的完整性,从而抑制艰难梭菌的感染^[134]。同时,在另一项研究中,脆弱拟杆菌通过抑制沙门氏菌的易位来抵御细菌感染^[135]。这些研究结果表明,脆弱拟杆菌在预防和治疗各种细菌感染中具有潜在的应用前景,但仍需深入的研究与实践来验证其益生作用。

总体而言,脆弱拟杆菌通过多种机制发挥益生作用,包括与其他微生物的相互作用,恢复肠道微生物菌群平衡以及维持粘膜免疫和肠道屏障完整性。此外, Tan 等对脆弱拟杆菌 HCK-B3 的安全性进行了评价,并未观察到其在体重、血液参数、肝脏参数、细胞因子以及组织的体内致病特性方面的不良影响^[136]。而在健康和免疫缺陷小鼠中给予脆弱拟杆菌 HCK-B3,也几乎没有不良影响。这些结果表明脆弱拟杆菌 *B. fragilis* HCK-B3 是一个非常安全的潜在的下一代益生菌菌株,但仍需更多的技术手段和多方面的研究来进一步评估其安全性。

2.4 普雷沃氏菌

普雷沃氏菌(*Prevotella copri*)是一种专性厌氧的革兰氏阴性菌,具中等的糖解能力和胆盐敏

感性,形态为短杆状,无孢子、非运动。目前,关于普雷沃氏菌对人类健康的影响是积极的还是有害仍处于相互矛盾的阶段^[137]。部分研究者认为普雷沃氏菌是有害的,与炎症性疾病,如类风湿性关节炎^[138]、强直性脊柱炎^[139]以及单核细胞增生李斯特菌肠道感染^[140]有关。然而,另一些研究者则认为普雷沃氏菌在人体的健康状况改善中是有益的。实际上,使用富含纤维的食物可以增加普雷沃氏菌的丰度,而普雷沃氏菌丰度较高的肠道微生物组可以增强宿主的减肥效果^[141],降低胆固醇水平^[142]。此外,一项对1 000多人饮食与肠道细菌之间的关联的研究发现,普雷沃氏菌可能对葡萄糖稳态和宿主代谢是有益的^[143]。雷沃氏菌通过膳食纤维发酵产生的琥珀酸,可以改善葡萄糖代谢和胰岛素敏感性^[144]。在高脂/高糖饮食小鼠模型中接种普雷沃氏菌后,也发现了该菌的益生表型。通过使用具有肠上皮细胞特异性缺失参与糖异生的限速酶的小鼠模型,证明了由普雷沃氏菌产生的琥珀酸盐是改善葡萄糖代谢和胰岛素敏感性的一个重要机制^[144]。此外,普雷沃氏菌还可通过与肠道菌群,特别是法尼醇 X 受体(farnesoid X receptor, FXR)信号通路相结合,调节胆汁酸(bile acids, BA)的代谢和转运途径,改善原发性硬化性胆管炎的胆汁淤积和肝纤维化^[145]。虽然大量的研究报道了普雷沃氏菌的益生作用,但普雷沃氏菌产生这些益生作用的机制仍不明确,这种不确定性可能是关于普雷沃氏菌对人类健康是有益还是有害的争论的原因^[137-146]。同时,普雷沃氏菌的物种水平和菌株水平的差异性,极大地影响了宿主体内普雷沃氏菌对不同饮食的反应,也阻碍了明确普雷沃氏菌在肠道健康中的有益作用,目前最可靠的结论是普雷沃氏菌的多样性越高,微生物组的发酵能力就越有利于人体肠道健康。

2.5 活体生物药

活体生物药(live biotherapeutic products, LBPs)是一种生物制品,含有活的微生物(如细菌、酵母),用于预防、治疗或治愈人类的疾病,而不是用于疫苗接种^[147]。LBPs 种类多样^[148],包括单个或多个益生菌、粪菌移植(fecal bacteria transplantation, FMT)、代谢产物及工程菌,其益生功能可通过携带的微生物自身特性实现,也可通过基因工程来赋予。在任何情况下, LBPs 都执行特定的治疗功能,这也是其与益生菌的不同之处。LBPs 具有广泛的益生功能,如调节黏膜免疫系统、原位生产治疗药物、营养/毒素代谢,甚至可用于活体诊断^[149]。与其他治疗方式(如小分子、生物制剂、基因疗法)不同, LBPs 是活的、生长的,具有动态相互作用。由于复杂的肠道生态环境, LBPs 的设计面临着独特的挑战,必需考虑它们在宿主内所需的存活条件、与宿主免疫系统的潜在相互作用,以及与肠道微生物组的其他菌株之间的竞争关系。

近年来,越来越多的活体生物药进入临床阶段,这些药品使用的菌株也不再限于常见的食品菌株,下一代益生菌也在不断涌现,如国际上首次采用下一代益生菌 *Bacteroides fragilis* 开发的活体生物药 SK08,在 2019 年已获中国药监局批准进入临床。最近,SK08 联合细胞死亡蛋白-1/程序性死亡配体 1 (cell death protein-1/programmed death ligand 1, PD-1/L1)单抗治疗实体瘤在 2022 年获批准临床,这是中国药监局首次批准活体生物药用于肿瘤治疗的临床研究。随着组学与合成生物学的发展,基于组学设计的针对特定疾病治疗的基因工程 LBPs 也迅速被用于临床试验中。首批的基因工程 LBPs 之一是乳酸乳球菌,通过改造使其分泌白细胞介素 10 来治疗肠道炎症^[150]。此外, LBPs 也可以通过基因工程来感知和响应肠道的动态环境。如,研究发现的

一种基因工程乳酸菌响应铜绿假单胞菌特异性群体感应分子后, 释放抗菌和抗生物膜蛋白^[151]。表达苯丙氨酸降解酶的基因工程菌 EcN, 可以感知肠道中的氧气浓度的变化而启动治疗功能, 广泛用于缺氧环境的苯丙酮尿症的治疗。通过改造, 使 EcN 不仅可定向靶向结肠, 同时也可分泌黑芥子酶, 将膳食中的硫甙转化为萝卜硫素, 使结肠癌小鼠模型中肿瘤发生率降低了 7 倍^[152]。总的来说, 使用基因工程方法在分子水平上控制了 LBPs 与宿主间的相互作用, 反映了其感应外部环境来诱导分泌治疗的潜力。

3 讨论与展望

虽然益生菌资源是重要的战略资源, 然而绝大多数的益生菌都难以进行培养繁殖, 为了进一步发掘益生菌资源, 各种新型微生物培养技术应运而生。二代测序和流式细胞术等也被用于开发新型培养方法, 用来分离以前未培养的细菌或探索目标样品中的活性物质。近年来出现的新型培养技术主要有: 共培养、基因组学与流式细胞术结合的反向基因组学培养、高通量培养技术、原位培养技术、细胞微囊包埋技术和基于微流控或膜扩散的培养法等^[153-154]。事实上, 新型的培养技术在发掘筛选益生菌资源的应用中仍处于探索阶段, 复杂的生境、多变的特征, 是发掘益生菌资源路上不得不克服的难点。

不论是乳酸菌、酵母菌等传统益生菌, 还是普拉梭菌、脆弱拟杆菌、嗜黏蛋白阿克曼菌和普雷沃氏菌等下一代益生菌, 都可通过多种机制发挥益生作用。多项研究表明, 益生菌能够增强免疫系统, 减少 LPS 相关信号传导, 改善肠道微生物群的活性, 并通过维持肠道屏障完整性来防止肠漏的发生。尽管如此, 益生菌仍不总适用于治疗, 它们的增殖能力有限, 因此需要根据具体情况选用适当的益生菌菌株和制剂。此外, 治疗

剂量、时间, 以及搭配使用的其他药物等也需要注意, 避免不必要的副作用。特别是, 对于免疫功能低下或病危的脆弱患者, 不建议使用益生菌, 因为它可能导致菌血症、心内膜炎、脑膜炎、胸膜肺感染、腹腔脓肿、尿路感染和龋齿^[155]。一项研究报告称, 大肠杆菌 Nissle 1917, 一种通常用作益生菌的菌株, 具有与其他大肠杆菌菌株中检测到的致病性相同的基因^[156]。一旦这些沉默基因被未知触发因素激活, 它们可能会对患者造成致病作用, 从而大大限制益生菌的安全性。如何规避这些问题, 更安全有效地使用益生菌显得尤为重要。

发掘各种益生菌资源, 并针对不同的疾病寻找相应的益生菌, 是益生菌安全有效使用的关键所在。益生菌资源的开发与利用是目前健康产业领域中关注的一个热点, 但目前仍存在不足之处。如, 缺乏科学的评价体系来指导益生菌菌株和品种的选择, 益生菌开发周期长, 益生菌生产技术落后和成本较高等。基于基因重组和基因编辑等技术的研究, 已经成功缩短了益生菌开发的周期, 并挖掘出更多功能性的益生菌品种。其中, 基于内源性 CRISPR-Cas 系统等高效基因组编辑工具开发的益生菌底盘细胞资源的成功示范^[157], 证明了基因重组技术在益生菌开发方面的应用前景, 也为益生菌基因层面研究提供了有力支持。为了全面了解益生菌资源, 需要将高通量测序、合成生物学等分子工具与新型的培养技术结合。利用高通量测序技术, 可以捕获环境中更多的益生菌种群, 通过分析宏基因组、宏转录组数据, 鉴定相关益生功能基因簇及所有的毒力基因和耐药基因。同时, 通过利用新型培养技术, 可以有针对性地筛选发掘新型的益生菌资源, 找到更有效的单一潜在益生菌品种, 为安全高效发掘益生菌资源奠定了基础。为了进一步推动益生菌

的开发利用, 还需要运用基因编辑技术对益生菌进行基因改造。通过精简基因组敲除可能的致病耐药基因等手段, 可以构建更安全的新颖益生菌。同时, 利用合成生物学技术在益生菌底盘细胞中表达功能基因簇, 可以构建超级益生菌。这些技术的综合应用, 将有助于鉴定、筛选出更多安全有效的新颖益生菌资源, 并为开发更多超级益生菌提供更广泛的技术支持。

参考文献

- [1] BAR-ON YM, PHILLIPS R, MILO R. The biomass distribution on earth[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(25): 6506-6511.
- [2] HUGENHOLTZ P, CHUVOCHINA M, OREN A, PARKS DH, SOO RM. Prokaryotic taxonomy and nomenclature in the age of big sequence data[J]. *The ISME Journal*, 2021, 15(7): 1879-1892.
- [3] MAZZIOTTA C, TOGNON M, MARTINI F, TORREGGIANI E, ROTONDO JC. Probiotics mechanism of action on immune cells and beneficial effects on human health[J]. *Cells*, 2023, 12(1): 184.
- [4] KOLLATH W. The increase of the diseases of civilization and their prevention[J]. *Munchener Medizinische Wochenschrift* (1950), 1953, 95(47): 1260-1262.
- [5] LILLY DM, STILLWELL RH. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms[J]. *Science*, 1965, 147(3659): 747-748.
- [6] HILL C, GUARNER F, REID G, GIBSON GR, MERENSTEIN DJ, POT B, MORELLI L, CANANI RB, FLINT HJ, SALMINEN S, CALDER PC, ELLEN SANDERS M. The International Scientific Association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2014, 11(8): 506-514.
- [7] ELLEN SANDERS M, MERENSTEIN DJ, REID G, GIBSON GR, RASTALL RA. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2019, 16(10): 605-616.
- [8] REID G, GADIR AA, DHIR R. Probiotics: reiterating what they are and what they are not[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 424.
- [9] KELLY JR, ALLEN AP, TEMKO A, HUTCH W, KENNEDY PJ, FARID N, MURPHY E, BOYLAN G, BIENENSTOCK J, CRYAN JF, CLARKE G, DINAN TG. Lost in translation? The potential psychobiotic *Lactobacillus rhamnosus* (JB-1) fails to modulate stress or cognitive performance in healthy male subjects[J]. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2017, 61: 50-59.
- [10] CABRÉ E, GASSULL MA. Probiotics for preventing relapse or recurrence in Crohn's disease involving the ileum: are there reasons for failure?[J]. *Journal of Crohn's and Colitis*, 2007, 1(1): 47-52.
- [11] PANIGRAHI P, PARIDA S, NANDA NC, SATPATHY R, PRADHAN L, CHANDEL DS, BACCAGLINI L, MOHAPATRA A, MOHAPATRA SS, MISRA PR, CHAUDHRY R, CHEN HH, JOHNSON JA, MORRIS JG, PANETH N, GEWOLB IH. A randomized synbiotic trial to prevent sepsis among infants in rural India[J]. *Nature*, 2017, 548(7668): 407-412.
- [12] COSTELOE K, HARDY P, JUSZCZAK E, WILKS M, MILLAR MR, Probiotics in Preterm Infants Study Collaborative Group. *Bifidobacterium breve* BBG-001 in very preterm infants: a randomised controlled phase 3 trial[J]. *Lancet* (London, England), 2016, 387(10019): 649-660.
- [13] ZHENG JS, WITTOUCK S, SALVETTI E, FRANZ CMAP, HARRIS HMB, MATTARELLI P, O'TOOLE PW, POT B, VANDAMME P, WALTER J, WATANABE K, WUYTS S, FELIS GE, GÄNZLE MG, LEBEER S. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2020, 70(4): 2782-2858.
- [14] JAFFAR NS, JAWAN R, CHONG KP. The potential of lactic acid bacteria in mediating the control of plant diseases and plant growth stimulation in crop production—a mini review[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 1047945.
- [15] YANG JP, YANG H. Recent development in Se-enriched yeast, lactic acid bacteria and

- bifidobacteria[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2023, 63(3): 411-425.
- [16] de FILIPPIS F, PASOLLI E, ERCOLINI D. The food-gut axis: lactic acid bacteria and their link to food, the gut microbiome and human health[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2020, 44(4): 454-489.
- [17] GUO XS, XU DM, LI FH, BAI J, SU RN. Current approaches on the roles of lactic acid bacteria in crop silage[J]. *Microbial Biotechnology*, 2023, 16(1): 67-87.
- [18] YILMAZ B, BANGAR SP, ECHEGARAY N, SURI S, TOMASEVIC I, MANUEL LORENZO J, MELEKOGLU E, ROCHA JM, OZOGUL F. The impacts of *Lactiplantibacillus plantarum* on the functional properties of fermented foods: a review of current knowledge[J]. *Microorganisms*, 2022, 10(4): 826.
- [19] CUI YH, WANG MH, ZHENG YK, MIAO K, QU XJ. The carbohydrate metabolism of *Lactiplantibacillus plantarum*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(24): 13452.
- [20] DAN T, CHEN HY, LI T, TIAN JL, REN WY, ZHANG HP, SUN TS. Influence of *Lactobacillus plantarum* P-8 on fermented milk flavor and storage stability[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 9: 3133.
- [21] WANG M, LEI M, SAMINA N, CHEN LL, LIU CL, YIN TT, YAN XT, WU CL, HE HL, YI CP. Impact of *Lactobacillus plantarum* 423 fermentation on the antioxidant activity and flavor properties of rice bran and wheat bran[J]. *Food Chemistry*, 2020, 330: 127156.
- [22] ZHOU Y, CUI Y, QU X. Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: structure, bioactivity and associations: a review[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 207: 317-332.
- [23] CUI YH, MIAO K, NIYAPHORN S, QU XJ. Production of gamma-aminobutyric acid from lactic acid bacteria: a systematic review[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(3): 995.
- [24] THOMPSON HO, ÖNNING G, HOLMGREN K, STRANDLER HS, HULTBERG M. Fermentation of cauliflower and white beans with *Lactobacillus plantarum*-impact on levels of riboflavin, folate, vitamin B₁₂, and amino acid composition[J]. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2020, 75(2): 236-242.
- [25] GAUR G, GÄNZLE MG. Conversion of (poly)phenolic compounds in food fermentations by lactic acid bacteria: novel insights into metabolic pathways and functional metabolites[J]. *Current Research in Food Science*, 2023, 6: 100448.
- [26] WU BM, LIU JC, YANG WB, ZHANG Q, YANG ZY, LIU H, LV ZZ, ZHANG CL, JIAO ZG. Nutritional and flavor properties of grape juice as affected by fermentation with lactic acid bacteria[J]. *International Journal of Food Properties*, 2021, 24(1): 906-922.
- [27] ZHANG JG, LI MY, CHENG JH, ZHANG XH, LI KX, LI B, WANG CY, LIU XM. Viscozyme L hydrolysis and *Lactobacillus* fermentation increase the phenolic compound content and antioxidant properties of aqueous solutions of quinoa pretreated by steaming with α -amylase[J]. *Journal of Food Science*, 2021, 86(5): 1726-1736.
- [28] PATNAIK B, SARANGI PK, JENA PK, SAHOO HP, BHATIA L. Production of phenolic flavoring compounds from sugarcane bagasse by *Lactobacillus acidophilus* MTCC 10307[J]. *Archives of Microbiology*, 2022, 204(1): 23.
- [29] SHEN YX, SUN HY, ZENG HY, PRINYAWIWATUKUL W, XU WQ, XU ZM. Increases in phenolic, fatty acid, and phytosterol contents and anticancer activities of sweet potato after fermentation by *Lactobacillus acidophilus*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(11): 2735-2741.
- [30] PETROVA P, ARSOV A, TSVETANOVA F, PARVANOVA-MANCHEVA T, VASILEVA E, TSIGORIYNA L, PETROV K. The complex role of lactic acid bacteria in food detoxification[J]. *Nutrients*, 2022, 14(10): 2038.
- [31] BIRT DF, BOYLSTON T, HENDRICH S, JANE JL, HOLLIS J, LI L, MCCLELLAND J, MOORE S, PHILLIPS GJ, ROWLING M, SCHALINSKE K, SCOTT MP, WHITLEY EM. Resistant starch: promise for improving human health[J]. *Advances in Nutrition (Bethesda, Md)*, 2013, 4(6): 587-601.
- [32] ARENA MP, CAPOZZI V, RUSSO P, DRIDER D, SPANO G, FIOCCO D. Immunobiosis and probiosis: antimicrobial activity of lactic acid bacteria with a focus on their antiviral and antifungal properties[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(23): 9949-9958.
- [33] NEGATU DA, GENGENBACHER M, DARTOIS V, DICK T. Indole propionic acid, an unusual antibiotic produced by the gut microbiota, with

- anti-inflammatory and antioxidant properties[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 575586.
- [34] KAVITAKE D, DEVI PB, DELATTRE C, REDDY GB, SHETTY PH. Exopolysaccharides produced by *Enterococcus* genus-an overview[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 226: 111-120.
- [35] van der MEULEN R, SCHEIRLINCK I, van SCHOOR A, HUYS G, VANCANNEYT M, VANDAMME P, de VUYST L. Population dynamics and metabolite target analysis of lactic acid bacteria during laboratory fermentations of wheat and spelt sourdoughs[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(15): 4741-4750.
- [36] WANG L, ZHANG H, REHMAN MU, MEHMOOD K, JIANG X, IQBAL M, TONG XL, GAO X, LI JK. Antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* isolated from Tibetan yaks[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2018, 115: 293-298.
- [37] ARENA MP, SILVAIN A, NORMANNO G, GRIECO F, DRIDER D, SPANO G, FIOCCO D. Use of *Lactobacillus plantarum* strains as a bio-control strategy against food-borne pathogenic microorganisms[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 464.
- [38] ZHAO SS, HAO XM, YANG FY, WANG Y, FAN XM, WANG YP. Antifungal activity of *Lactobacillus plantarum* ZZUA493 and its application to extend the shelf life of Chinese steamed buns[J]. *Foods*, 2022, 11(2): 195.
- [39] MØLLER COA, FREIRE L, ROSIM RE, MARGALHO LP, BALTHAZAR CF, FRANCO LT, SANT'ANA AS, CORASSIN CH, RATTRAY FP, de OLIVEIRA CAF. Effect of lactic acid bacteria strains on the growth and aflatoxin production potential of *Aspergillus parasiticus*, and their ability to bind aflatoxin B1, ochratoxin A, and zearalenone *in vitro*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 655386.
- [40] YAMANE T, SAKAMOTO T, NAKAGAKI T, NAKANO Y. Lactic acid bacteria from kefir increase cytotoxicity of natural killer cells to tumor cells[J]. *Foods (Basel, Switzerland)*, 2018, 7(4): 48.
- [41] ZHOU XT, HONG T, YU Q, NIE SP, GONG DM, XIONG T, XIE MY. Exopolysaccharides from *Lactobacillus plantarum* NCU116 induce c-Jun dependent Fas/FasL-mediated apoptosis *via* TLR2 in mouse intestinal epithelial cancer cells[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 14247.
- [42] CHOI WJ, DONG HJ, JEONG HU, RYU DW, SONG SM, KIM YR, JUNG HH, KIM TH, KIM YH. *Lactobacillus plantarum* LMT1-48 exerts anti-obesity effect in high-fat diet-induced obese mice by regulating expression of lipogenic genes[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 869.
- [43] LI HZ, LIU F, LU JJ, SHI JL, GUAN JQ, YAN FF, LI BL, HUO GC. Probiotic mixture of *Lactobacillus plantarum* strains improves lipid metabolism and gut microbiota structure in high fat diet-fed mice[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 512.
- [44] KAŻMIERCZAK-SIEDLECKA K, DACA A, FOLWARSKI M, WITKOWSKI JM, BRYL E, MAKAREWICZ W. The role of *Lactobacillus plantarum* 299v in supporting treatment of selected diseases[J]. *Central-European Journal of Immunology*, 2020, 45(4): 488-493.
- [45] ZHANG ZT, YANG DL, LIU L, CHANG ZB, PENG N. Effective gossypol removal from cottonseed meal through optimized solid-state fermentation by *Bacillus coagulans*[J]. *Microbial Cell Factories*, 2022, 21(1): 252.
- [46] 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.
- [47] LEHRI B, SEDDON AM, KARLYSHEV AV. *Lactobacillus fermentum* 3872 as a potential tool for combatting *Campylobacter jejuni* infections[J]. *Virulence*, 2017, 8(8): 1753-1760.
- [48] FRANCE M, ALIZADEH M, BROWN S, MA B, RAVEL J. Towards a deeper understanding of the vaginal microbiota[J]. *Nature Microbiology*, 2022, 7(3): 367-378.
- [49] WANG J, ZHANG W, WANG SX, LIU H, ZHANG DY, WANG YM, JI HF. Swine-derived probiotic *Lactobacillus plantarum* modulates porcine intestinal endogenous host defense peptide synthesis through TLR2/MAPK/AP-1 signaling pathway[J]. *Frontiers in Immunology*, 2019, 10: 2691.
- [50] MIZUNO H, ARCE L, TOMOTSUNE K, ALBARRACÍN L, FUNABASHI R, VERA DC, ISLAM MA, VIZOSO-PINTO MG, TAKAHASHI H, SASAKI Y, KITAZAWA H, VILLENA J. Lipoteichoic acid is involved in the ability of the immunobiotic

- strain *Lactobacillus plantarum* CRL1506 to modulate the intestinal antiviral innate immunity triggered by TLR3 activation[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020; 11, 571.
- [51] BENBARA T, LALOUCHE S, DRIDER D, BENDALI F. *Lactobacillus plantarum* S27 from chicken faeces as a potential probiotic to replace antibiotics: *in vivo* evidence[J]. *Beneficial Microbes*, 2020, 11(2): 163-173.
- [52] GONG L, WANG BK, ZHOU YH, TANG L, ZENG ZH, ZHANG HH, LI WF. Protective effects of *Lactobacillus plantarum* 16 and *Paenibacillus polymyxa* 10 against *Clostridium perfringens* infection in broilers[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 628374.
- [53] AN K, GAO W, LI P, LI L, XIA Z. Dietary *Lactobacillus plantarum* improves the growth performance and intestinal health of Pekin ducks[J]. *Poultry Science*, 2022, 101(6): 101844.
- [54] BROBERG A, JACOBSSON K, STRÖM K, SCHNÜRER J. Metabolite profiles of lactic acid bacteria in grass silage[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(17): 5547-5552.
- [55] MOKOENA MP. Lactic acid bacteria and their bacteriocins: classification, biosynthesis and applications against uropathogens: a mini-review[J]. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2017, 22(8): 1255.
- [56] ROCCHETTI MT, RUSSO P, CAPOZZI V, DRIDER D, SPANO G, FIOCCO D. Bioprospecting antimicrobials from *Lactiplantibacillus plantarum*: key factors underlying its probiotic action[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(21): 12076.
- [57] RAMAN J, KIM JS, CHOI KR, EUN H, YANG D, KO YJ, KIM SJ. Application of lactic acid bacteria (LAB) in sustainable agriculture: advantages and limitations[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(14): 7784.
- [58] NI KK, WANG FF, ZHU BG, YANG JX, ZHOU GA, PAN Y, TAO Y, ZHONG J. Effects of lactic acid bacteria and molasses additives on the microbial community and fermentation quality of soybean silage[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 238: 706-715.
- [59] BAI J, DING ZT, KE WC, XU DM, WANG MS, HUANG WK, ZHANG YX, LIU F, GUO XS. Different lactic acid bacteria and their combinations regulated the fermentation process of ensiled alfalfa: ensiling characteristics, dynamics of bacterial community and their functional shifts[J]. *Microbial Biotechnology*, 2021, 14(3): 1171-1182.
- [60] HU J, ZHANG Z, LIN Y, ZHAO S, MEI Y, LIANG Y, PENG N. High-titer lactic acid production from NaOH-pretreated corn stover by *Bacillus coagulans* LA204 using fed-batch simultaneous saccharification and fermentation under non-sterile condition[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 182: 251-257.
- [61] ZHANG ZT, XIE YJ, HE XL, LI XL, HU JL, RUAN ZY, ZHAO SM, PENG N, LIANG YX. Comparison of high-titer lactic acid fermentation from NaOH and $\text{NH}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ -pretreated corncob by *Bacillus coagulans* using simultaneous saccharification and fermentation[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 37245.
- [62] HU JL, LIN YX, ZHANG ZT, XIANG T, MEI YX, ZHAO SM, LIANG YX, PENG N. High-titer lactic acid production by *Lactobacillus pentosus* FL0421 from corn stover using fed-batch simultaneous saccharification and fermentation[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 214: 74-80.
- [63] LI F, KE W, DING Z, BAI J, ZHANG Y, XU D, LI Z, GUO X. Pretreatment of *Pennisetum sinense* silages with ferulic acid esterase-producing lactic acid bacteria and cellulase at two dry matter contents: fermentation characteristics, carbohydrates composition and enzymatic saccharification[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 295: 122261.
- [64] LI FH, ZHANG BB, ZHANG YX, ZHANG X, USMAN S, DING ZT, HAO LZ, GUO XS. Probiotic effect of ferulic acid esterase-producing *Lactobacillus plantarum* inoculated alfalfa silage on digestion, antioxidant, and immunity status of lactating dairy goats[J]. *Animal Nutrition (Zhongguo Xu Mu Shou Yi Xue Hui)*, 2022, 11: 38-47.
- [65] ADDAH W, BAAH J, OKINE EK, MCALLISTER TA. A third-generation esterase inoculant alters fermentation pattern and improves aerobic stability of barley silage and the efficiency of body weight gain of growing feedlot cattle 1[J]. *Journal of Animal Science*, 2012, 90(5): 1541-1552.
- [66] ZHANG ZT, LIU JL, JIN XX, LIU C, FAN CW, GUO L, LIANG YX, ZHENG JS, PENG N. Developmental, dietary, and geographical impacts on gut microbiota of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*)[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(9): 1376.
- [67] AMADO IR, FUCIÑOS C, FAJARDO P, GUERRA NP, PASTRANA L. Evaluation of two

- bacteriocin-producing probiotic lactic acid bacteria as inoculants for controlling *Listeria monocytogenes* in grass and maize silages[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2012, 175(3/4): 137-149.
- [68] LI FH, DING ZT, ADESOGAN AT, KE WC, JIANG Y, BAI J, MUDASSAR S, ZHANG YX, HUANG WK, GUO XS. Effects of class IIa bacteriocin-producing *Lactobacillus* species on fermentation quality and aerobic stability of alfalfa silage[J]. *Animals: an Open Access Journal from MDPI*, 2020, 10(9): 1575.
- [69] WU H, GUANG CE, ZHANG WL, MU WM. Recent development of phenyllactic acid: physicochemical properties, biotechnological production strategies and applications[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2023, 43(2): 293-308.
- [70] TRINDER M, BISANZ JE, BURTON JP, REID G. Probiotic lactobacilli: a potential prophylactic treatment for reducing pesticide absorption in humans and wildlife[J]. *Beneficial Microbes*, 2015, 6(6): 841-847.
- [71] DORĐEVIĆ TM, ŠILER-MARINKOVIĆ SS, ĐUROVIĆ RD, DIMITRIJEVIĆ-BRANKOVIĆ SI, GAJIĆ UMILJENDIĆ JS. Stability of the pyrethroid pesticide bifenthrin in milled wheat during thermal processing, yeast and lactic acid fermentation, and storage[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2013, 93(13): 3377-3383.
- [72] LIU F, BAI J, HUANG WK, LI FH, KE WC, ZHANG YX, XIE DM, ZHANG B, GUO XS. Characterization of a novel beta-cypermethrin-degrading strain of *Lactobacillus pentosus* 3-27 and its effects on bioremediation and the bacterial community of contaminated alfalfa silage[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423(Pt A): 127101.
- [73] LIU L, CAI YY, LI H, ZHAO SM, HE MX, HU GQ, LIANG YX, PENG N, HU JL. Bio-detoxification bacteria isolated from dye-polluted soils promote lactic acid production from ammonia pretreated corn stover[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2019, 189(1): 129-143.
- [74] YU AO, LEVEAU JHJ, MARCO ML. Abundance, diversity and plant-specific adaptations of plant-associated lactic acid bacteria[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2020, 12(1): 16-29.
- [75] LAMONT JR, WILKINS O, BYWATER-EKEGÄRD M, SMITH DL. From yogurt to yield: potential applications of lactic acid bacteria in plant production[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 111: 1-9.
- [76] LE LAY C, COTON E, LE BLAY G, CHOBERT JM, HAERTLÉ T, CHOISSET Y, van LONG NN, MESLET-CLADIÈRE L, MOUNIER J. Identification and quantification of antifungal compounds produced by lactic acid bacteria and propionibacteria[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2016, 239: 79-85.
- [77] AHMAD V, KHAN MS, JAMAL QMS, ALZOHAIRY MA, AL KARAAWI MA, SIDDIQUI MU. Antimicrobial potential of bacteriocins: in therapy, agriculture and food preservation[J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2017, 49(1): 1-11.
- [78] TAMANG JP, LAMA S. Probiotic properties of yeasts in traditional fermented foods and beverages[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2022, 132(5): 3533-3542.
- [79] STANISZEWSKI A, KORDOWSKA-WIATER M. Probiotic and potentially probiotic yeasts-characteristics and food application[J]. *Foods (Basel, Switzerland)*, 2021, 10(6): 1306.
- [80] ABID R, WASEEM H, ALI J, GHAZANFAR S, MUHAMMAD ALI G, ELASBALI AM, ALHARETHI SH. Probiotic yeast *Saccharomyces*: back to nature to improve human health[J]. *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, 2022, 8(5): 444.
- [81] PAIS P, ALMEIDA V, YILMAZ M, TEIXEIRA MC. *Saccharomyces boulardii*: what makes it tick as successful probiotic?[J]. *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, 2020, 6(2): 78.
- [82] CUI BX, LIN L, WANG BM, LIU WT, SUN C. Therapeutic potential of *Saccharomyces boulardii* in liver diseases: from passive bystander to protective performer?[J]. *Pharmacological Research*, 2022, 175: 106022.
- [83] ALAM K, MAZUMDER A, SIKDAR S, ZHAO YM, HAO JF, SONG CY, WANG YY, SARKAR R, ISLAM S, ZHANG YM, LI AY. *Streptomyces*: the biofactory of secondary metabolites[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 968053.
- [84] PALAZZOTTO E, TONG YJ, LEE SY, WEBER T. Synthetic biology and metabolic engineering of actinomycetes for natural product discovery[J]. *Biotechnology Advances*, 2019, 37(6): 107366.
- [85] LI YP, HU SB, GONG L, PAN LF, LI DJ, CAO LN, KHAN TA, YANG YH, PENG YN, DING XZ, YI GF,

- LIU SJ, XIA LQ. Isolating a new *Streptomyces amritsarensis* N1-32 against fish pathogens and determining its effects on disease resistance of grass carp[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020, 98: 632-640.
- [86] LATHA S, VINOTHINI G, JOHN DICKSON CALVIN D, DHANASEKARAN D. *In vitro* probiotic profile based selection of indigenous actinobacterial probiont *Streptomyces* sp. JD9 for enhanced broiler production[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2016, 121(1): 124-131.
- [87] SARMIENTO-RAMÍREZ JM, van der VOORT M, RAAIJMAKERS JM, DIÉGUEZ-URIBEONDO J. Unravelling the microbiome of eggs of the endangered sea turtle *Eretmochelys imbricata* identifies bacteria with activity against the emerging pathogen *Fusarium falciforme*[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e95206.
- [88] KIM HB, BOREWICZ K, WHITE BA, SINGER RS, SREEVATSAN S, TU ZJ, ISAACSON RE. Microbial shifts in the swine distal gut in response to the treatment with antimicrobial growth promoter, tylosin[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(38): 15485-15490.
- [89] CARTER R, MOURALIDARANE A, RAY S, SOEDA J, OBEN J. Recent advancements in drug treatment of obesity[J]. *Clinical Medicine (London, England)*, 2012, 12(5): 456-460.
- [90] CUOZZO S, de MORENO de LEBLANC A, LEBLANC JG, HOFFMANN N, TORTELLA GR. *Streptomyces* genus as a source of probiotics and its potential for its use in health[J]. *Microbiological Research*, 2023, 266: 127248.
- [91] MARTÍN R, LANGELLA P. Emerging health concepts in the probiotics field: streamlining the definitions[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1047.
- [92] CHANG CJ, LIN TL, TSAI YL, WU TR, LAI WF, LU CC, LAI HC. Next generation probiotics in disease amelioration[J]. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2019, 27(3): 615-622.
- [93] SAARELA MH. Safety aspects of next generation probiotics[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2019, 30: 8-13.
- [94] O'TOOLE PW, MARCHESI JR, HILL C. Next-generation probiotics: the spectrum from probiotics to live biotherapeutics[J]. *Nature Microbiology*, 2017, 2: 17057.
- [95] MIQUEL S, MARTÍN R, ROSSI O, BERMÚDEZ-HUMARÁN LG, CHATEL JM, SOKOL H, THOMAS M, WELLS JM, LANGELLA P. *Faecalibacterium prausnitzii* and human intestinal health[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2013, 16(3): 255-261.
- [96] DUNCAN SH, HOLD GL, HARMSSEN HJM, STEWART CS, FLINT HJ. Growth requirements and fermentation products of *Fusobacterium prausnitzii*, and a proposal to reclassify it as *Faecalibacterium prausnitzii* gen. nov., comb. nov.[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2002, 52(Pt 6): 2141-2146.
- [97] LOPEZ-SILES M, KHAN TM, DUNCAN SH, HARMSSEN HJM, GARCIA-GIL LJ, FLINT HJ. Cultured representatives of two major phylogroups of human colonic *Faecalibacterium prausnitzii* can utilize pectin, uronic acids, and host-derived substrates for growth[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(2): 420-428.
- [98] PALMNÁS-BÉDARD MS, COSTABILE G, VETRANI C, ÅBERG S, HJALMARSSON Y, DICKSVED J, RICCARDI G, LANDBERG R. The human gut microbiota and glucose metabolism: a scoping review of key bacteria and the potential role of SCFAs[J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2022, 116(4): 862-874.
- [99] MARTÍN R, CHAIN F, MIQUEL S, LU J, GRATADOUX JJ, SOKOL H, VERDU EF, BERCIK P, BERMÚDEZ-HUMARÁN LG, LANGELLA P. The commensal bacterium *Faecalibacterium prausnitzii* is protective in DNBS-induced chronic moderate and severe colitis models[J]. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2014, 20(3): 417-430.
- [100] QUÉVRAIN E, MAUBERT MA, MICHON C, CHAIN F, MARQUANT R, TAILHADES J, MIQUEL S, CARLIER L, BERMÚDEZ-HUMARÁN LG, PIGNEUR B, LEQUIN O, KHARRAT P, THOMAS G, RAINTEAU D, AUBRY C, BREYNER N, AFONSO C, LAVIELLE S, GRILL JP, CHASSAING G, CHATEL JM, TRUGNAN G, XAVIER R, LANGELLA P, SOKOL H, SEKSIK P. Identification of an anti-inflammatory protein from *Faecalibacterium prausnitzii*, a commensal bacterium deficient in Crohn's disease[J]. *Gut*, 2016, 65(3): 415-425.

- [101] MARTÍN R, MIQUEL S, CHAIN F, NATIVIDAD JM, JURY J, LU J, SOKOL H, THEODOROU V, BERCIK P, VERDU EF, LANGELLA P, BERMÚDEZ-HUMARÁN LG. *Faecalibacterium prausnitzii* prevents physiological damages in a chronic low-grade inflammation murine model[J]. *BMC Microbiology*, 2015, 15: 67.
- [102] CARLSSON AH, YAKYMENKO O, OLIVIER I, HÅKANSSON F, POSTMA E, KEITA ÅV, SÖDERHOLM JD. *Faecalibacterium prausnitzii* supernatant improves intestinal barrier function in mice DSS colitis[J]. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 2013, 48(10): 1136-1144.
- [103] LAPIERE A, GEIGER M, ROBERT V, DEMARQUAY C, AUGER S, CHADI S, BENADJAOUD M, FERNANDES G, MILLIAT F, LANGELLA P, BENDERITTER M, CHATEL JM, SÉMONT A. Prophylactic *Faecalibacterium prausnitzii* treatment prevents the acute breakdown of colonic epithelial barrier in a preclinical model of pelvic radiation disease[J]. *Gut Microbes*, 2020, 12(1): 1-15.
- [104] MA J, SUN LQ, LIU Y, REN H, SHEN YL, BI F, ZHANG T, WANG X. Alter between gut bacteria and blood metabolites and the anti-tumor effects of *Faecalibacterium prausnitzii* in breast cancer[J]. *BMC Microbiology*, 2020, 20(1): 82.
- [105] LI HB, XU ML, XU XD, TANG YY, JIANG HL, LI L, XIA WJ, CUI N, BAI J, DAI ZM, HAN B, LI Y, PENG B, DONG YY, ARYAL S, MANANDHAR I, ELADAWI MA, SHUKLA R, KANG YM, JOE B, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* attenuates CKD via butyrate-renal GPR43 axis[J]. *Circulation Research*, 2022, 131(9): e120-e134.
- [106] LOPEZ-SILES M, MARTINEZ-MEDINA M, SURÍS-VALLS R, ALDEGUER X, SABAT-MIR M, DUNCAN SH, FLINT HJ, GARCIA-GIL LJ. Changes in the abundance of *Faecalibacterium prausnitzii* phylogroups I and II in the intestinal mucosa of inflammatory bowel disease and patients with colorectal cancer[J]. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2016, 22(1): 28-41.
- [107] CHASSAING B, DARFEUILLE-MICHAUD A. The commensal microbiota and enteropathogens in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases[J]. *Gastroenterology*, 2011, 140(6): 1720-1728.
- [108] ZHANG T, LI QQ, CHENG L, BUCH H, ZHANG FM. *Akkermansia muciniphila* is a promising probiotic[J]. *Microbial Biotechnology*, 2019, 12(6): 1109-1125.
- [109] DERRIEN M, VAUGHAN EE, PLUGGE CM, de VOS WM. *Akkermansia muciniphila* gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2004, 54(Pt 5): 1469-1476.
- [110] KAŹMIERCZAK-SIEDLECKA K, SKONIECZNA-ŻYDECKA K, HUPP T, DUCHNOWSKA R, MAREK-TRZONKOWSKA N, POŁOM K. Next-generation probiotics-do they open new therapeutic strategies for cancer patients?[J]. *Gut Microbes*, 2022, 14(1): 2035659.
- [111] TURCK D, BOHN T, CASTENMILLER J, DE HENAUW S, HIRSCH-ERNST KI, MACIUK A, MANGELSDORF I, MCARDLE HL, NASKA A, PELAEZ C, PENTIEVA K, SIANI A, THIES F, TSABOURI S, VINCETI M, CUBADDA F, FRENZEL T, HEINONEN M, MARCHELLI R, NEUHÄSER-BERTHOLD M, et al. Safety of pasteurised *Akkermansia muciniphila* as a novel food pursuant to regulation (EU) 2015/2283[J]. *EFSA Journal*. European Food Safety Authority. 2021; 19(9), e06780.
- [112] CANI PD, DEPOMMIER C, DERRIEN M, EVERARD A, de VOS WM. *Akkermansia muciniphila*: paradigm for next-generation beneficial microorganisms[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2022, 19(10): 625-637.
- [113] DEPOMMIER C, van HUL M, EVERARD A, DELZENNE NM, de VOS WM, CANI PD. Pasteurized *Akkermansia muciniphila* increases whole-body energy expenditure and fecal energy excretion in diet-induced obese mice[J]. *Gut Microbes*, 2020, 11(5): 1231-1245.
- [114] EVERARD A, BELZER C, GEURTS L, OUWERKERK JP, DRUART C, BINDELS LB, GUIOT Y, DERRIEN M, MUCCIOLI GG, DELZENNE NM, de VOS WM, CANI PD. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(22): 9066-9071.
- [115] KIM S, LEE Y, KIM Y, SEO Y, LEE H, HA J, LEE J, CHOI Y, OH H, YOON Y. *Akkermansia muciniphila* prevents fatty liver disease, decreases serum triglycerides, and maintains gut homeostasis[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2020, 86(7): e03004-e03019.

- [116] LI J, LIN SQ, VANHOUTTE PM, WOO CW, XU AM. *Akkermansia muciniphila* protects against atherosclerosis by preventing metabolic endotoxemia-induced inflammation in apoe^{-/-}mice[J]. *Circulation*, 2016, 133(24): 2434-2446.
- [117] BIAN XY, WU WR, YANG LY, LV LX, WANG Q, LI YT, YE JZ, FANG DQ, WU JJ, JIANG XW, SHI D, LI LJ. Administration of *Akkermansia muciniphila* ameliorates dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 2259.
- [118] SHI LL, SHENG JY, CHEN GZ, ZHU P, SHI CP, LI B, PARK C, WANG JY, ZHANG BX, LIU Z, YANG XL. Combining IL-2-based immunotherapy with commensal probiotics produces enhanced antitumor immune response and tumor clearance[J]. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 2020, 8(2): e000973.
- [119] GRANDER C, ADOLPH TE, WIESER V, LOWE P, WRZOSEK L, GYONGYOSI B, WARD DV, GRABHERR F, GERNER RR, PFISTER A, ENRICH B, CIOCAN D, MACHEINER S, MAYR L, DRACH M, MOSER P, MOSCHEN AR, PERLEMUTER G, SZABO G, CASSARD AM, TILG H. Recovery of ethanol-induced *Akkermansia muciniphila* depletion ameliorates alcoholic liver disease[J]. *Gut*, 2018, 67(5): 891-901.
- [120] OTTMAN N, REUNANEN J, MEIJERINK M, PIETILÄ TE, KAINULAINEN V, KLIEVINK J, HUUSKONEN L, AALVINK S, SKURNIK M, BOEREN S, SATOKARI R, MERCENIER A, PALVA A, SMIDT H, de VOS WM, BELZER C. Pili-like proteins of *Akkermansia muciniphila* modulate host immune responses and gut barrier function[J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): e0173004.
- [121] SUN FT, ZHANG QS, ZHAO JX, ZHANG H, ZHAI QX, CHEN W. A potential species of next-generation probiotics? The dark and light sides of *Bacteroides fragilis* in health[J]. *Food Research International* (Ottawa, Ont), 2019, 126: 108590.
- [122] VERNAY T, CANNIE I, GABORIAU F, GALL SD, TAMANAI-SHACOORI Z, BUREL A, JOLIVET-GOUGEON A, LORÉAL O, BOUSARGHIN L. *Bacteroides fragilis* prevents *Salmonella* Heidelberg translocation in co-culture model mimicking intestinal epithelium[J]. *Beneficial Microbes*, 2020, 11(4): 391-401.
- [123] BOLEIJ A, HECHENBLEIKNER EM, GOODWIN AC, BADANI R, STEIN EM, LAZAREV MG, ELLIS B, CARROLL KC, ALBESIANO E, WICK EC, PLATZ EA, PARDOLL DM, SEARS CL. The *Bacteroides fragilis* toxin gene is prevalent in the colon mucosa of colorectal cancer patients[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2015, 60(2): 208-215.
- [124] WAGNER VE, DEY N, GURUGE J, HSIAO A, AHERN PP, SEMENKOVICH NP, BLANTON LV, CHENG JY, GRIFFIN N, STAPPENBECK TS, ILKAYEVA O, NEWGARD CB, PETRI W, HAQUE R, AHMED T, GORDON JI. Effects of a gut pathobiont in a gnotobiotic mouse model of childhood undernutrition[J]. *Science Translational Medicine*, 2016, 8(366): 366ra164.
- [125] TZIANABOS AO, KASPER DL, ONDERDONK AB. Structure and function of *Bacteroides fragilis* capsular polysaccharides: relationship to induction and prevention of abscesses[J]. *Clinical Infectious Diseases: an Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 1995, 20(suppl 2): S132-S140.
- [126] TZIANABOS AO, FINBERG RW, WANG Y, CHAN M, ONDERDONK AB, JENNINGS HJ, KASPER DL. T cells activated by zwitterionic molecules prevent abscesses induced by pathogenic bacteria[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275(10): 6733-6740.
- [127] ENNAMORATI M, VASUDEVAN C, CLERKIN K, HALVORSEN S, VERMA S, IBRAHIM S, PROSPER S, PORTER C, YELISEYEV V, KIM M, GARDECKI J, SASSI S, TEARNEY G, CHERAYIL BJ, BRY L, SEED B, JAIN N. Intestinal microbes influence development of thymic lymphocytes in early life[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(5): 2570-2578.
- [128] MAZMANIAN SK, ROUND JL, KASPER DL. A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease[J]. *Nature*, 2008, 453(7195): 620-625.
- [129] TAN HZ, ZHAO JX, ZHANG H, ZHAI QX, CHEN W. Novel strains of *Bacteroides fragilis* and *Bacteroides ovatus* alleviate the LPS-induced inflammation in mice[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, 103(5): 2353-2365.
- [130] HSIAO EY, MCBRIDE SW, HSIEN S, SHARON G, HYDE ER, MCCUE T, CODELLI JA, CHOW J, REISMAN SE, PETROSINO JF, PATTERSON PH,

- MAZMANIAN SK. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders[J]. *Cell*, 2013, 155(7): 1451-1463.
- [131] JOHNSON JL, JONES MB, COBB BA. Bacterial capsular polysaccharide prevents the onset of asthma through T-cell activation[J]. *Glycobiology*, 2015, 25(4): 368-375.
- [132] ZHOU W, WU WH, SI ZL, LIU HL, WANG HY, JIANG H, LIU YF, ALOLGA RN, CHEN C, LIU SJ, BIAN XY, SHAN JJ, LI J, TAN NH, ZHANG ZH. The gut microbe *Bacteroides fragilis* ameliorates renal fibrosis in mice[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 6081.
- [133] ZHANG Y, SUN DH, ZHAO XB, LUO YC, YU H, ZHOU Y, GAO YL, HAN XJ, DUAN Y, FANG N, DUAN XX, LI TK, ZHANG S, GONG YT, LI Y. *Bacteroides fragilis* prevents aging-related atrial fibrillation in rats via regulatory T cells-mediated regulation of inflammation[J]. *Pharmacological Research*, 2022, 177: 106141.
- [134] DENG HM, YANG SQ, ZHANG YC, QIAN K, ZHANG ZH, LIU YY, WANG Y, BAI Y, FAN HY, ZHAO XM, ZHI FC. *Bacteroides fragilis* prevents *Clostridium difficile* infection in a mouse model by restoring gut barrier and microbiome regulation[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2976.
- [135] CHATZIDAKI-LIVANIS M, COYNE MJ, COMSTOCK LE. An antimicrobial protein of the gut symbiont *Bacteroides fragilis* with a MACPF domain of host immune proteins[J]. *Molecular Microbiology*, 2014, 94(6): 1361-1374.
- [136] TAN HZ, WANG C, ZHANG QS, TANG XS, ZHAO JX, ZHANG H, ZHAI QX, CHEN W. Preliminary safety assessment of a new *Bacteroides fragilis* isolate[J]. *Food and Chemical Toxicology: an International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 2020, 135: 110934.
- [137] CLAUS SP. The strange case of *Prevotella copri*: dr. Jekyll or mr. Hyde?[J]. *Cell Host & Microbe*, 2019, 26(5): 577-578.
- [138] NII T, MAEDA Y, MOTOOKA D, NAITO M, MATSUMOTO Y, OGAWA T, OGURO-IGASHIRA E, KISHIKAWA T, YAMASHITA M, KOIZUMI S, KURAKAWA T, OKUMURA R, KAYAMA H, MURAKAMI M, SAKAGUCHI T, DAS B, NAKAMURA S, OKADA Y, KUMANOGOH A, TAKEDA K. Genomic repertoires linked with pathogenic potency of arthritogenic *Prevotella copri* isolated from the gut of patients with rheumatoid arthritis[J]. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2023, 82(5): 621-629.
- [139] WEN CP, ZHENG ZJ, SHAO TJ, LIU L, XIE ZJ, le CHATELIER E, HE ZX, ZHONG WD, FAN YS, ZHANG LS, LI HC, WU CY, HU CF, XU Q, ZHOU J, CAI SF, WANG DW, HUANG Y, BREBAN M, QIN N, et al. Quantitative metagenomics reveals unique gut microbiome biomarkers in ankylosing spondylitis[J]. *Genome Biology*, 2017, 18(1): 142.
- [140] ROLHION N, CHASSAING B, NAHORI MA, de BODT J, MOURA A, LECUIT M, DUSSURGET O, BÉRARD M, MARZORATI M, FEHLNER-PEACH H, LITTMAN DR, GEWIRTZ AT, van de WIELE T, COSSART P. A *Listeria monocytogenes* bacteriocin can target the commensal *Prevotella copri* and modulate intestinal infection[J]. *Cell Host & Microbe*, 2019, 26(5): 691-701.e5.
- [141] CHRISTENSEN L, ROAGER HM, ASTRUP A, HJORTH MF. Microbial enterotypes in personalized nutrition and obesity management[J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2018, 108(4): 645-651.
- [142] ERIKSEN AK, BRUNIUS C, MAZIDI M, HELLSTRÖM PM, RISÉRUS U, IVERSEN KN, FRISTEDT R, SUN L, HUANG Y, NØRSKOV NP, KNUDSEN KEB, KYRØ C, OLSEN A, TJØNNELAND A, DICKSVED J, LANDBERG R. Effects of whole-grain wheat, rye, and lignan supplementation on cardiometabolic risk factors in men with metabolic syndrome: a randomized crossover trial[J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2020, 111(4): 864-876.
- [143] ASNICAR F, BERRY SE, VALDES AM, NGUYEN LH, PICCINNO G, DREW DA, LEEMING E, GIBSON R, le ROY C, al KHATIB H, FRANCIS L, MAZIDI M, MOMPEO O, VALLES-COLOMER M, TETT A, BEGHINI F, DUBOIS L, BAZZANI D, THOMAS AM, MIRZAYI C, et al. Microbiome connections with host metabolism and habitual diet from 1 098 deeply phenotyped individuals[J]. *Nature Medicine*, 2021, 27(2): 321-332.
- [144] de VADDER F, KOVATCHEVA-DATCHARY P, ZITOUN C, DUCHAMPT A, BÄCKHED F, MITHIEUX G. Microbiota-produced succinate

- improves glucose homeostasis via intestinal gluconeogenesis[J]. *Cell Metabolism*, 2016, 24(1): 151-157.
- [145] JIANG B, YUAN G, WU J, WU Q, LI L, JIANG P. *Prevotella copri* ameliorates cholestasis and liver fibrosis in primary sclerosing cholangitis by enhancing the FXR signalling pathway[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 2022, 1868(3): 166320.
- [146] METWALY A, HALLER D. Strain-level diversity in the gut: the *P. copri* case[J]. *Cell Host & Microbe*, 2019, 25(3): 349-350.
- [147] CORDAILLAT-SIMMONS M, ROUANET A, POT B. Live biotherapeutic products: the importance of a defined regulatory framework[J]. *Experimental & Molecular Medicine*, 2020, 52(9): 1397-1406.
- [148] MCCHALICHER CW, AUNIŇŠ JG. Drugging the microbiome and bacterial live biotherapeutic consortium production[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2022, 78: 102801.
- [149] CHARBONNEAU MR, ISABELLA VM, LI N, KURTZ CB. Developing a new class of engineered live bacterial therapeutics to treat human diseases[J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 1738.
- [150] STEIDLER L, HANS W, SCHOTTE L, NEIRYNCK S, OBERMEIER F, FALK W, FIERIS W, REMAUT E. Treatment of murine colitis by *Lactococcus lactis* secreting interleukin-10[J]. *Science*, 2000, 289(5483): 1352-1355.
- [151] CHANG X, WANG SL, ZHAO SB, SHI YH, PAN P, GU L, YAO J, LI ZS, BAI Y. Extracellular vesicles with possible roles in gut intestinal tract homeostasis and IBD[J]. *Mediators of Inflammation*, 2020, 2020: 1945832.
- [152] HO CL, TAN HQ, CHUA KJ, KANG A, LIM KH, LING KL, YEW WS, LEE YS, THIERY JP, CHANG MW. Engineered commensal microbes for diet-mediated colorectal-cancer chemoprevention[J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2018, 2(1): 27-37.
- [153] TIDJANI ALOU M, NAUD S, KHELAFIA S, BONNET M, LAGIER JC, RAOULT D. State of the art in the culture of the human microbiota: new interests and strategies[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2020, 34(1): e00129-19.
- [154] OVERMANN J, ABT B, SIKORSKI J. Present and future of culturing bacteria[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2017, 71: 711-730.
- [155] KARACAER F, HAMED I, ÖZOGUL F, GLEW RH, ÖZCENGİZ D. The function of probiotics on the treatment of ventilator-associated pneumonia (VAP): facts and gaps[J]. *Journal of Medical Microbiology*, 2017, 66(9): 1275-1285.
- [156] OLIER M, MARCQ I, SALVADOR-CARTIER C, SECHER T, DOBRINDT U, BOURY M, BACQUIÉ V, PÉNARY M, GAULTIER E, NOUGAYRÈDE JP, FIORAMONTI J, OSWALD E. Genotoxicity of *Escherichia coli* Nissle 1917 strain cannot be dissociated from its probiotic activity[J]. *Gut Microbes*, 2012, 3(6): 501-509.
- [157] LIU L, YANG DL, ZHANG ZY, LIU T, HU GQ, HE MX, ZHAO SM, PENG N. High-efficiency genome editing based on endogenous CRISPR-Cas system enhances cell growth and lactic acid production in *Pediococcus acidilactici*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2021, 87(20): e0094821.

彭楠, 博士, 华中农业大学生命科学技术学院教授, 博士生导师, 农业微生物学国家重点实验室固定研究人员、湖北洪山实验室固定研究人员。湖北省“双创战略团队”带头人并入选“3551 光谷人才计划”。致力于 CRISPR-Cas 生物学及编辑工具开发、益生菌合成生物学等研究工作。主持国家自然科学基金重大(培育)、面上及青年项目、公益性行业(农业)科研专项等十余项, 发表 SCI 论文 60 余篇, 任 *BioDesign Research* 和 *Frontiers in Microbiology* 副主编。在 CRISPR-Cas 工作机制和微生物基因组编辑领域取得一系列研究成果, 相关论文发表在 *Nucleic Acids Research* (2020, 2017, 2015), *Applied Environmental Microbiology* (2021), *Biotechnology for Biofuels* (2021) 等期刊上。

