

发酵粘液乳杆菌 IOB802 对小鼠骨骼生长的影响

闫梦娜¹, 孙韵琪¹, 刘晴晴¹, 付田民², 韩雪梅^{1*}

(1. 创源大健康学院, 天津 300457; 2. 天津创源生物科技有限公司, 天津 300457)

摘要: **目的** 探究发酵粘液乳杆菌(*Limosilactobacillus fermentum*) IOB802 对骨骼生长的影响。**方法** 以 IOB802 的后生元粉、冻干粉、多糖为实验对象, 将无特定病原体小鼠(specific pathogen free, SPF)级雄性小鼠分别灌胃相同剂量的不同样品, 测定了小鼠的一般形态、股骨长度、骨重和骨密度, 血清胰岛素生长因子(insulin-like growth factor-1, IGF-1)和血清骨钙素(osteocalcin, OCN)水平。**结果** 不同处理组对小鼠体重无明显影响, 3 种样品均能够促进小鼠身长增长, 均能够增加 6.96%以上的股骨长度, 6.77%以上的骨重, 10.04%以上的骨密度, 均能够提高血清中 IGF-1 和 OCN 水平。其中灌胃发酵粘液乳杆菌 IOB802 后生元粉表现较好。**结论** 以发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉, 发酵粘液乳杆菌 IOB802 冻干粉, 发酵粘液乳杆菌 IOB802 多糖均具有良好的增加股骨长度、骨重和骨密度、血清 IGF-1 和 OCN 水平的功能, 本研究为深入探究发酵粘液乳杆菌 IOB802 提供了一定的理论基础。

关键词: 发酵粘液乳杆菌 IOB802; 骨骼发育; 后生元; 菌粉; 胞外多糖

Effects of *Limosilactobacillus fermentum* IOB802 on bone growth in mice

YAN Meng-Na¹, SUN Yun-Qi¹, LIU Qing-Qing¹, FU Tian-Min², HAN Xue-Mei^{1*}

(1. *Chuang Yuan University of Health Sciences, Tianjin 300457, China*; 2. *Tianjin Chuangyuan Biotechnology Company, Tianjin 300457, China*)

ABSTRACT: Objective To investigate the effects of *Limosilactobacillus fermentum* IOB802 on bone growth. **Methods** The general morphology, femur length, bone weight and bone mineral density, serum insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and serum osteocalcin (OCN) levels were determined by gavage of different samples at the same dosage in male mice of specific pathogen free (SPF) class using the powdered, lyophilized and polysaccharides of the postbiotic IOB802 as the experimental subjects. **Results** The different treatment groups had no significant effect on the body weight of mice, and all 3 kinds of samples were able to promote the growth of mouse length, which could increase femur length by more than 6.96%, bone weight by more than 6.77%, bone density by more than 10.04%, and all of them were able to increase the levels of IGF-1 and OCN in serum. Among them, gavage fermented *Limosilactobacillus fermentum* IOB802 postbiotic powder performed better. **Conclusion** *Limosilactobacillus fermentum* IOB802 fermented postbiotic meta-powder, *Limosilactobacillus fermentum* IOB802 lyophilized powder, *Limosilactobacillus fermentum* IOB802 polysaccharide supernatant all had good functions in increasing femur length, bone weight and bone mineral density, and serum IGF-1 and OCN levels, and the present study provided some theoretical bases for the in-depth investigation of *Limosilactobacillus fermentum* IOB802.

*通信作者: 韩雪梅, 硕士, 工程师, 主要研究方向为功能食品发酵。E-mail: 1448006543@qq.com

*Corresponding author: HAN Xue-Mei, Master, Engineer, Tianjin Chuangyuan Biotechnology Company, Building 31, Green Valley Health Industrial Park, No.59 Kangtai Avenue, Binhai Science and Technology Park, Tianjin Binhai High Tech Zone, Tianjin 300457, China. E-mail: 1448006543@qq.com

KEY WORDS: *Limosilactobacillus fermentum* IOB802; skeletal development; postbiotic element; bacterial powder; exopolysaccharides

0 引言

骨骼生长发育在儿童和青少年时期最为快速, 这期间主要以骨构建为主, 骨转换加快, 且骨形成占优势, 因此骨量稳定增长^[1]。儿童期和青春期骨骼的健康发育对于减少患骨质疏松症的风险具有重要意义^[2]。长期以来, 钙和维生素 D 是骨骼发育中两种必需的营养素^[3], 乳制品中含有丰富的优质钙和多种维生素, 是人们获取骨骼必需营养素的主要来源^[4-6], 乳酸菌常用于乳制品的加工, 能够提高乳制品的口感, 增加香气和营养价值, 延长货架期^[7]。发酵粘液乳杆菌是乳杆菌中具有代表性的菌株, 可以抑制病原体生长、调节因肠道微生物失调引起的肥胖^[8-9]、还具有免疫调节、平衡肠道菌群等功能^[10-11]。研究表明, 肠道微生物群可能与骨代谢有关^[12-14], 肠道微生物被证实能够调节骨骼重塑, 对于骨质疏松症的治疗具有一定的潜力^[15-16]。其中, 乳酸杆菌能够改善骨骼健康, 促进骨骼发育^[17], JANSOON 等^[18]研究表明植物乳杆菌能够促进骨骼的生长和矿物质的沉积。

除了益生菌活菌, 后生元也具有增强免疫、调节肠道菌群、缓解结肠炎等益生功能^[19-20]。2021 年国际益生菌和益生元科学协会将后生元定义为对宿主健康有益的、遗传背景明确的灭活微生物和/或菌体成分, 包括或不包括其代谢产物^[21]。后生元具有调节肠道健康, 抑制病原体的生长等益生效果, 还可以增加酸奶的营养, 改善酸奶的质地^[22-24], 除此以外, 后生元对骨骼生长也有一定的促进作用, 研究表明, 热灭活副干酪乳杆菌 GMNL-653 具有抗骨质疏松功能^[25], 主要是通过抑制破骨细胞的形成, 并通过肠道-免疫-骨轴途径来缓解骨质疏松^[26-27]。国外研究结果显示, 灭活的部分乳酸杆菌、复合菌的裂解物及上清液能够促进成骨细胞的分化并抑制破骨细胞的生成。乳酸杆菌的上清液对于骨骼生长的益生作用可能是其中含有大量的胞外多糖(exopolysaccharides, EPS)。EPS 是细菌分泌到细胞外的高分子质量碳水化合物聚合物, 乳酸菌的 EPS 具有多种生理活性, 如抗氧化、抗肿瘤、抗癌、调节免疫、调节肠道菌群等^[28]。研究发现, 部分多糖能够促进骨骼健康生长, 主要通过调节成骨细胞和破骨细胞的活性来保护骨骼健康^[29]。

目前对骨骼生长的研究主要集中在遗传和药物治疗方面, 但是对于益生菌和后生元对骨骼生长的营养干预治疗却鲜少报道。乳酸菌及其复合物主要通过调节成骨细胞与破骨细胞的活性来促进骨骼发育, 在适当的剂量下使用, 能够促进骨骼的生长^[30]。之前实验室研究结果表明, 发酵

粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉能够促进小鼠骨骼生长, 同时还能够改善小鼠的免疫力^[31], 此外, 发酵粘液乳杆菌 IOB802 能够产生大量 EPS, 研究表明, 部分多糖能够促进骨骼健康生长^[32]。因此, 本研究以发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉, 发酵粘液乳杆菌 IOB802 冻干粉, 发酵粘液乳杆菌 IOB802 多糖上清液为样品, 测定了小鼠的一般形态、股骨长度、骨重和骨密度, 血清胰岛素生长因子(insulin-like growth factor-1, IGF-1)和血清骨钙素(osteocalcin, OCN)水平, 探究该乳酸菌的不同成分灌胃对小鼠骨骼生长的影响, 为促进益生菌对骨骼的生长发育研究提供了新的思路, 并为发酵粘液乳杆菌 IOB802 的应用提供了一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 试剂

SPF 级雄性小鼠[斯贝福(北京)生物技术有限公司]; 小鼠固定器、固定板、眼科剪、解剖刀、注射器、灌胃针(天津索罗门生物科技有限公司); IGF-酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒、OCN-ELISA 试剂盒(杭州联科生物技术股份有限公司); 中性甲醛固定液(分析纯, 上海源叶生物科技有限公司); 发酵粘液乳杆菌 IOB802(分离自发酵泡菜, 中科院保藏编号为: CGMCC No.23120)。

1.2 仪器与设备

DK-8 B 电热恒温水槽(河北黄骅市航空仪器厂); 5415 D 离心机(德美国 BECKMAN); L 420 台式离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司); YXQ-LS-30 SII 立式压力蒸汽灭菌锅(日本 YAMATO 公司); FA 1004 电子天平(感量为 0.1 mg, 中国 Haier 公司); DH-104 BS 鼓风干燥箱(天津市实验仪器厂)。

1.3 材料制备

发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉的制备: 将发酵粘液乳杆菌 IOB802 活化后, 接种到大豆固态培养基中进行发酵, 接种量为 5×10^7 CFU/mL, 共同培养 32 h, 将培养后的发酵粘液乳杆菌 IOB802 进行高温烘干, 水分含量控制在 $\leq 10\%$, 即可获得发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉。配制后生元粉溶液质量浓度为 0.3 g/mL。20 g 的小鼠灌胃剂量为 0.2 mL。

发酵粘液乳杆菌 IOB802 冻干粉的制备: 将 IOB802 活化后, 接种到 MRS 培养基(莫匹罗星锂盐和半胱氨酸盐改良 MRS 培养基基础(Li-Mupirocin and Cysteine

Hydrochloride Modified MRS Medium Base, MRS)中进行发酵,接种量为 5×10^7 CFU/mL,培养 24 h,低温离心取菌泥,真空冷冻干燥后即可获得发酵粘液乳杆菌 IOB802 冻干粉。配制活菌数为 2.96×10^7 CFU/mL 的溶液,20 g 的小鼠灌胃剂量为 0.2 mL。其中样品 2 的活菌数为 6.8×10^9 CFU/g。

发酵粘液乳杆菌 IOB802 多糖上清液的制备:将发酵粘液乳杆菌 IOB802 活化后,接种到 MRS 液体培养基中进行发酵,接种量为 5×10^7 CFU/mL,培养 48 h,低温离心取上清(多糖含量为 1.8622 g/L),多糖上清液直接灌胃,根据小鼠体重进行灌胃 0.2 mL/20 g。

1.4 动物实验设计

40 只 SPF 级雄性小鼠由斯贝福(北京)生物技术有限公司提供,许可证号:SCXK(京)2019-0010;合格证编号:110324220104516162,实验过程符合动物伦理实验规范。选择 1 月龄小鼠进行实验,饲养条件:动物饲养条件为温度 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$,相对湿度 40%~60%,照明时间 12 h。分笼饲养,自由饮水,定期清洗鼠笼,适应 5 d 后开始实验。将购入的小鼠随机分为 4 组,每组 10 只。为避免雌激素的影响,选择雄性鼠。其中包含空白组、实验组 1、实验组 2、实验组 3。分别为实验样品 1:发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉;实验样品 2:发酵粘液乳杆菌 IOB802 冻干粉;实验样品 3:发酵粘液乳杆菌 IOB802 多糖上清液,剩余 1 组为空白对照组。分别将实验样品 1、实验样品 2 和实验样品 3 对小鼠进行灌胃,每日一次,每种样品灌胃剂量均为 0.2 mL,其中粉剂样品现用现配。空白组:根据小鼠体重进行灌胃相同剂量的生理盐水。持续灌胃 4 周。4 周后颈椎脱臼处死小鼠后;立即进行相关指标检测。小鼠通过静脉采血获取血液,离心(4°C , 4000 r/min, 8 min)取上层血清。

1.4.1 小鼠体重和身长的测定

在实验期间内,每隔 7 d 测定小鼠的身长和体重。各组小鼠的原始体长和体重不存在显著差异,身长测量时,麻醉小鼠,使小鼠处于舒展状态,测定身长并做记录。

1.4.2 小鼠股骨长度和骨重的测定

对小鼠进行最后一次灌胃后,脱臼处死小鼠,解剖小鼠,分离小鼠双侧股骨,左侧股骨密封 -20°C 保存,右侧股骨在多聚甲醛固定保存待检。使用游标卡尺对股骨长度进行测量。取骨样去除附着的肌肉组织等,无水乙醚浸泡 12 h 脱脂,放置 105°C 烘干箱 72 h,室温平衡 24 h 后称量小鼠骨重。

1.4.3 小鼠骨密度测量

实验小鼠麻醉后,铺一次性中单,将小鼠放置在骨密度检查床上,用 X 线骨密度检测和分析骨密度,选用动物全身扫描模式,对实验小鼠逐一扫描,对小鼠的头部、脊椎和全身进行骨密度分析,并记录实验数据。

1.4.4 小鼠血清指标检测

分别于实验第 0、7、14、28 d 通过静脉采血,采用 ELISA 试剂盒对小鼠 IGF-1 水平和小鼠 OCN 水平进行测定。

1.5 数据处理

实验所得的所有数据使用 SPSS 26.0 软件进行分析,使用 Origin(2023 版)绘图。所有实验均进行 3 次,每次实验重复样本,结果以平均值 \pm 标准偏差表示,* $P < 0.05$ 表示显著差异。

2 结果与分析

2.1 小鼠体重增长情况

为了评估在治疗过程中小鼠体重的变化,在实验过程中,每周检测小鼠体重变化情况。各组小鼠体重总体呈增长趋势,并且在同一时间,各组小鼠的体重无明显差异,如图 1 所示,这说明在处理期内,各组处理组的小鼠在相同的时间内体重差异无统计学意义($P > 0.05$),不同处理组对小鼠体重无影响。

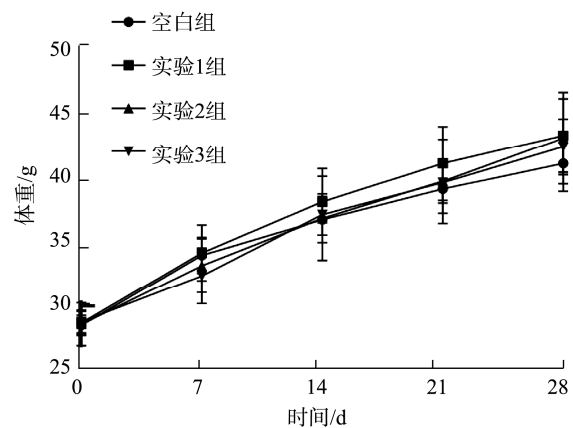


图1 不同组别小鼠体重变化

Fig.1 Changes of body weight in different groups of mice

2.2 小鼠身长增长情况

在实验过程中,每周检测小鼠身长变化情况。各组小鼠身长总体呈增长趋势。如图 2 所示,空白组小鼠身长增加了 19.68%,经发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉干预的小鼠身长增加了 22.84%,发酵粘液乳杆菌 IOB802 冻干粉干预的小鼠身长增加了 21.67%,经发酵粘液乳杆菌 IOB802 多糖上清液干预的小鼠身长增加了 21.76%。说明发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉、发酵粘液乳杆菌 IOB802 冻干粉和发酵粘液乳杆菌 IOB802 多糖上清液均能够促进小鼠身长增长,且发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉效果最佳。

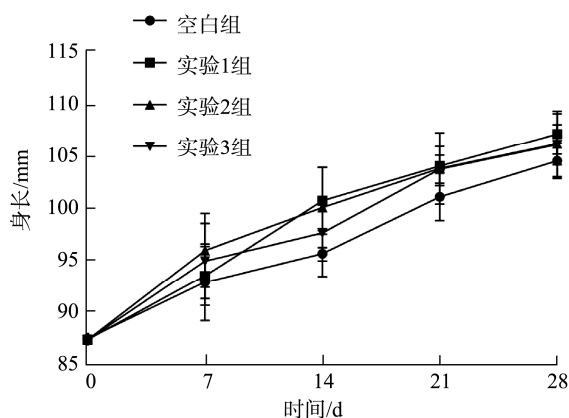
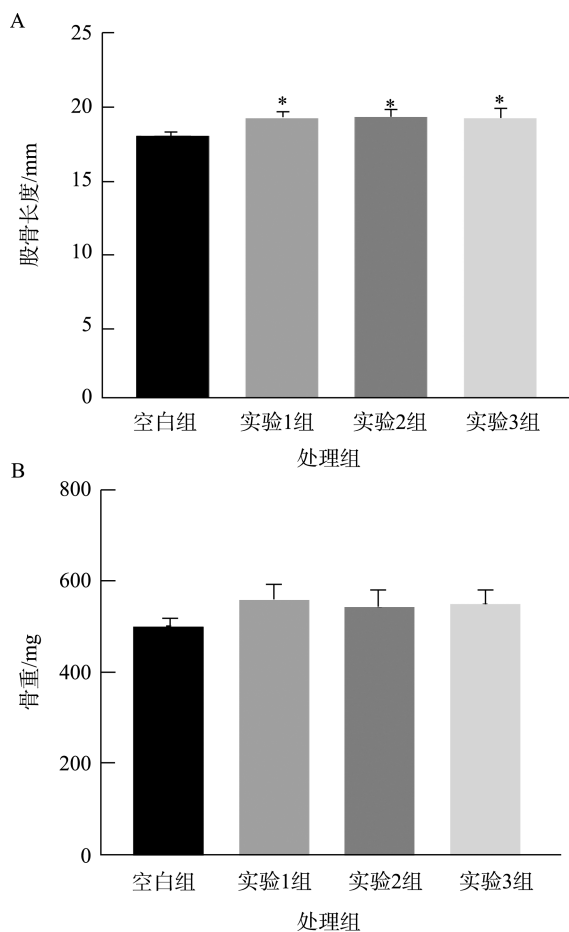


图2 不同组别小鼠身长变化

Fig.2 Changes of body length in different groups of mice

2.3 小鼠股骨长度和骨重情况

股骨长度在一定程度上能够反映骨骼发育的水平, 股骨越长, 骨骼发育越好^[33]。如图 3 所示, 与空白对照组相比, 经发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉、发酵粘液



注: *表示与空白组相比有显著差异($P < 0.05$), 下同。

图3 不同组别小鼠股骨长度(A)和骨重变化(B)

Fig.3 Changes of femur length (A) and bone weight (B) in different groups of mice

乳杆菌 IOB802 冻干粉和发酵粘液乳杆菌 IOB802 多糖上清液干预小鼠, 小鼠股骨长度和骨重均增加, 其中, 经发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉干预后, 股骨长度增长了 6.96%, 骨重增加了 12.01%; 经发酵粘液乳杆菌 IOB802 冻干粉干预后, 股骨长度增长了 7.62%, 骨重增加了 8.53%; 经发酵粘液乳杆菌 IOB802 多糖上清液干预后, 股骨长度增长了 7.62%, 骨重增加了 6.77%。表明发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵大豆后生元粉、发酵粘液乳杆菌 IOB802 冻干粉和发酵粘液乳杆菌 IOB802 多糖上清液均能够促进骨骼生长发育, 增强骨骼强度, 且发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉对于骨重的增加效果较好。

2.4 小鼠骨密度情况

骨密度是骨矿代谢的重要指标, 其原理是通过 X 线对人体骨骼的矿物质含量、密度等进行分析, 骨密度能够反映骨质量, 当骨密度指数异常时则显示患有骨骼疾病^[34]。与 X 射线相比, 双能 X 射线吸收测定法(dualenergy X-ray absorptiometry, DXA)对患者的辐射更小, 还可以用来测定骨龄^[35]。在儿童和成人中, DXA 目前广泛用于测量骨矿物质密度以评估骨质疏松症^[36]。如图 4 所示, 经 X 线骨密度仪检测, 与空白对照组相比, 实验组小鼠骨密度明显增加了 10%以上, 但是实验组之间的增幅没有明显差异, 其中, 灌胃发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉后, 小鼠骨密度增加了 10.04%, 灌胃发酵粘液乳杆菌 IOB802 冻干粉后, 小鼠骨密度增加了 10.39%, 发酵粘液乳杆菌 IOB802 多糖上清液后, 小鼠骨密度增加了 10.39%。这表明发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉、发酵粘液乳杆菌 IOB802 冻干粉和发酵粘液乳杆菌 IOB802 多糖上清液均对小鼠骨密度均有明显的促进作用, 均能够提高小鼠的骨骼强度。

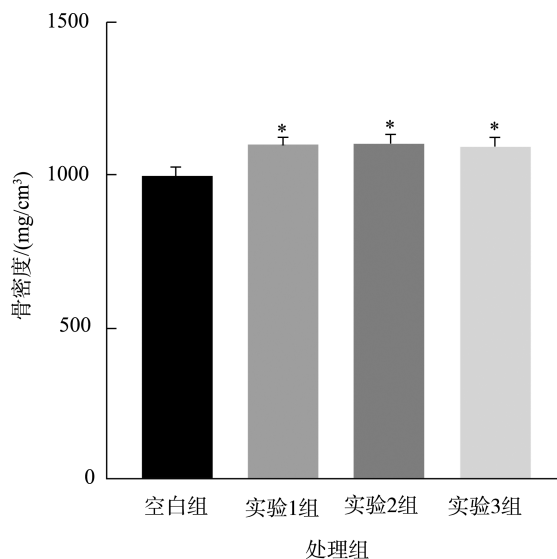


图4 不同组别小鼠骨密度变化

Fig.4 Changes of bone density in different groups of mice

2.5 小鼠 IGF-1 含量

IGF-1 是生长所需的主要激素,也是骨骼线性生长的主要调节因子,局部表达的 IGF-1 能够促进纵向骨骼生长。如果没有功能性 IGF-1 活性,就不会发生正常的骨骼发育^[37]。实验结果表明,经发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉、发酵粘液乳杆菌 IOB802 冻干粉和发酵粘液乳杆菌 IOB802 多糖上清液灌胃小鼠后,血清中 IGF-1 含量均呈现上升趋势,但是与空白组相比差异不显著,如图 5 所示。表明发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵的后生元粉、冻干粉和多糖上清液均能够诱导血清中 IGF-1 表达水平的上升。持续灌胃到第 28 d 后,与空白组相比,发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉灌胃后明显表现出更高的血清 IGF-1 水平的提高,这表明发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉对于促进骨骼的生长和重塑方面功效更强。IGF-1 是一种对骨骼生长有作用的激素,与微生物的定植数量存在正相关的关系。微生物群发酵纤维时产生的短链脂肪酸(short chain fatty acids, SCFAs)能够诱导 IGF-1 的显著增加,促进骨骼生长和重塑,这也是微生物群影响骨骼健康的机制^[38],使用 3 种样品均能够促进 IGF-1 的原因可能是灌胃发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉,发酵粘液乳杆菌 IOB802 冻干粉,发酵粘液乳杆菌 IOB802 多糖上清液后调节了宿主的微生物群落,进而诱导了 IGF-1 的增加。

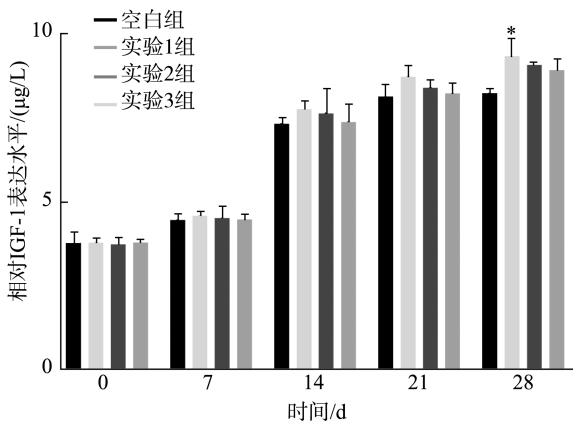


图5 不同组别小鼠血清IGF-1含量变化

Fig.5 Changes of serum IFG-1 levels in different groups of mice

2.6 小鼠血清 OCN 含量

OCN 是成骨细胞特异性分泌的物质,OCN 由成骨细胞合成后释放进入血液,血清 OCN 是骨形成的标志物^[39]。肠道微生物群被证明可以调节成骨细胞和破骨细胞的活性,最近一项研究发现 OCN 可能影响微生物群组成,进一步影响骨骼的发育,是评估骨量的一个关键指标,同时也是骨形成以及骨转换的特殊标志^[40],OCN 作为骨因子的作用越来越广泛,随着动物模型的大规模使用,OCN 对体重增加,胰岛素敏感性、葡萄糖稳态和骨骼肌中的合成代谢均

有重要作用^[41-42]。如图 6 所示,用不同样品灌胃小鼠后,小鼠的血清 OCN 含量逐渐增加,灌胃至第 28 d 后,与空白对照组相比,经发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉、发酵粘液乳杆菌 IOB802 冻干粉和发酵粘液乳杆菌 IOB802 多糖上清液灌胃小鼠后,血清中 OCN 含量均大幅度增加,表明发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉、发酵粘液乳杆菌 IOB802 冻干粉和发酵粘液乳杆菌 IOB802 多糖上清液均能够使血清中 OCN 表达水平上升,促进成骨细胞活性和骨更新率增加,进而促进骨骼的生长,且发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉效果较明显。

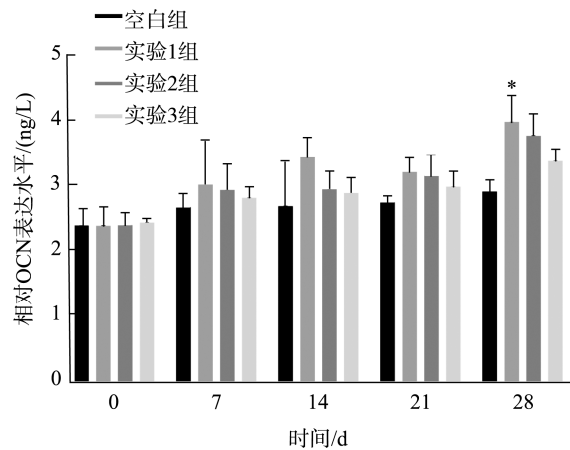


图6 不同组别小鼠血清OCN含量变化

Fig.6 Changes of serum OCN levels in different groups of mice

3 结论

本研究测定了小鼠血清 IGF-1、OCN 及股骨长度、骨重、骨密度的变化,结果表明:发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉、发酵粘液乳杆菌 IOB802 冻干粉和发酵粘液乳杆菌 IOB802 多糖上清液均能够诱导血清中 IGF-1、OCN 表达水平上升,均可以增加骨密度,提高骨骼强度,能够促进骨骼生长发育。其中,在促进小鼠身长,增加骨重、提高血清中 IGF-1 和 OCN 水平表达方面,发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵大豆后生元粉表现较好;在提高股骨长度和骨密度方面,发酵粘液乳杆菌 IOB802 冻干粉和发酵粘液乳杆菌 IOB802 多糖上清液效果相当。IGF-1 能够增强骨质量,促进骨合成和代谢^[43],是评价骨成熟的重要指标^[44],除此以外,OCN 也作为骨形成的标志物之一,在骨骼的生长过程中发挥着重要作用^[45]。3 种实验样品灌胃处理后,随着给药时间的延长,血清中 IGF-1 和 OCN 表达水平均有一定程度的上升,且发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉的促进效果更强,这表明 3 种实验样品对骨骼的生长和骨重塑的调节均具有一定的促进作用,这与乳酸菌对骨骼生长影响的研究结果一致^[22]。IOB802 后生元粉对 IGF-1

和 OCN 的促进效果更强可能是由于后生元中同时含有益生菌和多糖等代谢产物, 与单独的菌粉和多糖灌胃相比, 增加了作用强度。本研究证明, 发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉、发酵粘液乳杆菌 IOB802 冻干粉和发酵粘液乳杆菌 IOB802 多糖上清液均具有益生效果, 对骨骼生长有促进作用。本研究从后生元、乳酸菌和多糖的角度探究了发酵粘液乳杆菌 IOB802 对骨骼发育的影响, 对于从益生菌的角度研究骨骼发育提供了基础参考, 并为促进儿童骨骼发育提供了新的思路。然而, 本研究缺乏临床实验, 对于该菌株在人体中的作用情况尚不清楚。后生元是一种新的微生态制剂, 具有多种益生功能, 可以提高机体免疫力, 促进成骨细胞的分化并促进骨骼生长^[46]。后续将对发酵粘液乳杆菌 IOB802 后生元的制备工艺进行进一步的研究, 以提高其营养物质与产量。

参考文献

- [1] MATKOVIC V. Skeletal development and bone turnover revisited [J]. *Clin Endocrinol Metab*, 1996, 81(6): 2013–2016.
- [2] 赵笛辰, 李梅. 儿童及青少年骨骼发育特点及其影响因素[J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2018, 11(6): 608–612.
ZHAO DC, LI M. Characteristics of bone development in children and adolescents and its influencing factors [J]. *Chin J Osteoporosis Bone Mineral Salt Dis*, 2018, 11(6): 608–612.
- [3] STAGI S, CAVALLI L, IURATO C, *et al.* Bone metabolism in children and adolescents: Main characteristics of the determinants of peak bone mass [J]. *Clin Cases Miner Bone Metab*, 2013, 10(3): 172–179.
- [4] 揭良, 苏米亚, 贾宏信, 等. 乳制品中强化骨骼的功能成分研究进展[J]. *乳业科学与技术*, 2020, 43(6): 36–40.
JIE L, SU MY, JIA HX, *et al.* Progress in the study of bone strengthening functional components in dairy products [J]. *Dairy Sci Technol*, 2020, 43(6): 36–40.
- [5] 王起山, 赵军英, 魏鑫越, 等. 乳制品对骨质疏松症的预防和干预作用研究进展[J]. *食品科学*, 2023, 44(9): 245–258.
WANG QS, ZHAO JY, WEI XY, *et al.* Progress of research on the preventive and interventional effects of dairy products on osteoporosis [J]. *Food Sci*, 2023, 44(9): 245–258.
- [6] 王起山, 魏鑫越, 刘彦品, 等. 高钙鲜牛奶对卵巢切除大鼠骨骼及血清骨标志物的影响[J]. *中国食品添加剂*, 2023, 34(7): 50–56.
WANG QS, WEI XY, LIU YP, *et al.* Effects of high-calcium fresh milk on bone and serum bone markers in ovariectomized rats [J]. *China Food Addit*, 2023, 34(7): 50–56.
- [7] 闫波, 刘宁. 乳酸菌及其在食品工业中的应用与展望[J]. *食品研究与开发*, 2004, (4): 22–25.
YAN B, LIU N. Lactic acid bacteria and their applications and prospects in the food industry [J]. *Food Res Dev*, 2004, (4): 22–25.
- [8] WANG M, HU J, YU H, *et al.* *Lactobacillus fermentum* 1.2133 display probiotic potential *in vitro* and protect against *Salmonella pullorum* in chicken of infection [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2023, 76(1): ovac041.
- [9] MOLINA-TIJERAS JA, DIEZ-ECHAVE P, VEZZA T, *et al.* *Lactobacillus fermentum* CECT5716 ameliorates high fat diet-induced obesity in mice through modulation of gut microbiota dysbiosis [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 167: 105471.
- [10] 方伟, 李佳佳, 耿伟涛, 等. 发酵乳杆菌 CECT 5716 产胞外多糖培养基成分优化及抗氧化活性研究[J]. *中国酿造*, 2022, 41(11): 187–192.
FANG W, LI JJ, GENG WT, *et al.* Optimization of the composition and antioxidant activity of extracellular polysaccharide-producing medium of *Lactobacillus fermentum* CECT 5716 [J]. *China Brew*, 2022, 41(11): 187–192.
- [11] RODRIGUEZ-NOGALES A, ALGIERI F, GARRIDO-MESA J, *et al.* Differential intestinal anti-inflammatory effects of *Lactobacillus fermentum* and *Lactobacillus salivarius* in DSS mouse colitis: Impact on microRNAs expression and microbiota composition [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2017, 61: e1700144.
- [12] 李志强, 杨乾滋, 苏安平, 等. 肠道微生物与骨质疏松症的研究进展[J]. *中国骨与关节杂志*, 2023, 12(4): 311–315.
LI ZQ, YANG QZ, SU ANP, *et al.* Research progress on gut microbes and osteoporosis [J]. *Chin J Bone Joint*, 2023, 12(4): 311–315.
- [13] 李平顺, 王钢, 周孟茹. “脑-肠-骨骼”轴对骨质疏松症发病机制的影响[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2020, 26(7): 1068–1073.
LI PS, WANG G, ZHOU MR. Influence of the “brain-gut-bone” axis on the pathogenesis of osteoporosis [J]. *Chin J Osteoporosis*, 2020, 26(7): 1068–1073.
- [14] 李丽娟, 林静, 王凌. 肠道微生态影响绝经后骨质疏松症发生发展的研究进展[J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(16): 2032–2037.
LI LJ, LIN J, WANG L. Advances in the study of intestinal microecology affecting the development of postmenopausal osteoporosis [J]. *Chin J Immunol*, 2019, 35(16): 2032–2037.
- [15] LYU Z, HU Y, GUO Y, *et al.* Modulation of bone remodeling by the gut microbiota: A new therapy for osteoporosis [J]. *Bone Res*, 2023, 11(1): 31.
- [16] LU L, CHEN X, LIU Y, *et al.* Gut microbiota and bone metabolism [J]. *Faseb J*, 2021, 35(7): e21740.
- [17] 崔耀明, 管军军, 王金荣, 等. 益生乳酸菌对肉鸡骨骼发育的影响及作用机制研究进展[J]. *动物营养学报*, 2021, 33(1): 13–19.
CUI YM, GUAN JJ, WANG JR, *et al.* Progress on the effects of probiotic lactic acid bacteria on bone development and mechanism of action in broilers [J]. *J Anim Nutr*, 2021, 33(1): 13–19.
- [18] JANSSON PA, CURIAC D, AHRÉN IL, *et al.* Probiotic treatment using a mix of three *Lactobacillus* strains for lumbar spine bone loss in postmenopausal women: A randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial [J]. *Lancet Rheumatol*, 2019, 1(3): e154–e162.
- [19] VINDEROLA G, SANDERS ME, SALMINEN S. The concept of postbiotics [J]. *Foods*, 2022, 11(8): 1077.
- [20] XU X, WU J, JIN Y, *et al.* Both *Saccharomyces boulardii* and its postbiotics alleviate dextran sulfate sodium-induced colitis in mice, association with modulating inflammation and intestinal microbiota [J]. *Nutrients*, 2023, 15(6): 1484.
- [21] SALMINEN S, COLLADO MC, ENDO A, *et al.* The international scientific association of probiotics and prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18(9): 649–667.
- [22] 钟扬丹, 陈佳欣, 张立实, 等. 后生元的健康益处及作用机制研究进展[J]. *中国食品添加剂*, 2023, 34(10): 22–33.
ZHONG YD, CHEN JX, ZHANG LS, *et al.* Progress in the study of health benefits and mechanism of action of postbiotic [J]. *China Food Addit*, 2023, 34(10): 22–33.
- [23] 谢莹莹, 庞旭, 周海泳, 等. 后生元的作用机制及其在食品领域的应用

- 用[J/OL]. 食品科学, 1-15. [2023-11-09]. <https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v>
- XIE YY, PANG X, ZHOU HY, *et al.* Mechanism of action of postbiotic elements and their application in the food field [J/OL]. Food Sci, 1-15. [2023-11-09]. <https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v>
- [24] 瞿茜楠, 兰冬雪, 黄天, 等. 后生元的功能及应用研究进展[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(7): 6-13.
- QU QN, LAN DX, HUANG T, *et al.* Progress of research on the function and application of postbiotic elements [J]. Food Res Dev, 2023, 44(7): 6-13.
- [25] JHONG JH, TSAI WH, YANG LC, *et al.* Heat-killed *Lactocaseibacillus paracasei* GMNL-653 exerts antiosteoporotic effects by restoring the gut microbiota dysbiosis in ovariectomized mice [J]. Front Nutr, 2022, 9: 804210.
- [26] BHARDWAJ A, SAPRA L, TIWARI A, *et al.* "Osteomicrobiology": The nexus between bone and bugs [J]. Front Microbiol, 2022, 12: 812466.
- [27] WALLIMANN A, MAGRATH W, THOMPSON K, *et al.* Gut microbial-derived short-chain fatty acids and bone: A potential role in fracture healing [J]. Eur Cell Mater, 2021, 41: 454-470.
- [28] JURÁŠKOVÁ D, RIBEIRO SC, SILVA CCG. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: From biosynthesis to health-promoting properties [J]. Foods, 2022, 11(2): 156.
- [29] YU Y, LI T, WANG X, *et al.* Structural characterization and anti-osteoporosis activity of two polysaccharides extracted from the rhizome of *Curculigo orchoides* [J]. Food Funct, 2022, 13(12): 6749-6761.
- [30] YE Z, LI T, QING D, *et al.* Structural elucidation and osteogenic activity of a novel heteropolysaccharide from *Alhagi pseudalhagi* [J]. Int J Biol Macromol, 2021, 171: 185-197.
- [31] 梁武, 付田民, 王海宽, 等. 一种发酵粘液乳杆菌 IOB802 发酵后生元粉的制备方法及其应用: 中国, CN116058469B[P]. 2023-06-27.
- LIANG W, FU TM, WANG HK, *et al.* A method of preparing a post fermentation metabolic powder of *Limosilactobacillus fermentum* IOB802 and its application: China, CN116058469B [P]. 2023-06-27.
- [32] LEI SS, SU J, ZHANG Y, *et al.* Benefits and mechanisms of polysaccharides from Chinese medicinal herbs for anti-osteoporosis therapy: A review [J]. Int J Biol Macromol, 2021, 193(Pt B): 1996-2005.
- [33] CONNOLLY SA, JARAMILLO D, HONG JK, *et al.* Skeletal development in fetal pig specimens: MR imaging of femur with histologic comparison [J]. Radiology, 2004, 233(2): 505-514.
- [34] 乔泽宁, 翟晨, 曹谨玲, 等. 广叶绣球菌多糖对铅致小鼠骨骼钙代谢紊乱的调节作用[J]. 山西农业科学, 2023, 51(5): 516-524.
- QIAO ZN, ZHAI C, CAO JL, *et al.* Regulatory effects of polysaccharides from *Hydrangea expansa* on lead-induced skeletal calcium metabolism disorders in mice [J]. Shanxi Agric Sci, 2023, 51(5): 516-524.
- [35] PLUDOWSKI P, LEBIEDOWSKI M, LORENC RS. Evaluation of the possibility to assess bone age on the basis of DXA derived hand scans-preliminary results [J]. Osteoporos Int, 2004, 15: 317-322.
- [36] NJEH CF, FUERST T, HANS D, *et al.* Radiation exposure in bone mineral density assessment [J]. Appl Radiat Isot, 1999, 50: 215-236.
- [37] RACINE HL, SERRAT MA. The actions of IGF-1 in the growth plate and its role in postnatal bone elongation [J]. Curr Osteoporos Rep, 2020, 18(3): 210-227.
- [38] YAN J, HERZOG JW, TSANG K, *et al.* Gut microbiota induce IGF-1 and promote bone formation and growth [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2016, 113(47): E7554-E7563.
- [39] KOMORI T. Functions of osteocalcin in bone, pancreas, testis, and muscle [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(20): 7513.
- [40] HOU YF, SHAN C, ZHUANG SY, *et al.* Gut microbiota-derived propionate mediates the neuroprotective effect of osteocalcin in a mouse model of Parkinson's disease [J]. Microbiome, 2021, 9(1): 34.
- [41] 陆新颜, 谭利群, 刘群锋. 中老年女性骨代谢生化指标对早期骨质疏松症的诊断价值及与骨密度的相关性[J]. 中国妇幼保健, 2021, 36(17): 3967-3969.
- LU XY, TAN LQ, LIU QY. Diagnostic value of bone metabolism biochemical indexes for early osteoporosis and correlation with bone mineral density in middle-aged and elderly women [J]. China Mater Child Health Care China, 2021, 36(17): 3967-3969.
- [42] QIAN Z, LIU C, LI H, *et al.* Osteocalcin alleviates lipopolysaccharide-induced acute inflammation via activation of GPR37 in macrophages [J]. Biomedicine, 2022, 10(5): 1006.
- [43] JOSHI AS, HATCH NE, HAYAMI T, *et al.* IGF-1 TMJ injections enhance mandibular growth and bone quality in juvenile rats [J]. Orthod Craniof Res, 2022, 25(2): 183-191.
- [44] SELVA-AROCKIAM A, UMA-MAHESWARIR, DEVAKI-VIJAYALAKSHMI R, *et al.* Can IGF-1 serve as a reliable skeletal maturity indicator? A meta-analysis [J]. Orofac Orthop, 2022, 83(2): 124-140.
- [45] GUO M, LIU H, YU Y, *et al.* *Lactobacillus rhamnosus* GG ameliorates osteoporosis in ovariectomized rats by regulating the Th17/Treg balance and gut microbiota structure [J]. Gut Microbes, 2023, 15(1): 2190304.
- [46] MCCABE LR, PARAMESWARAN N. Advances in probiotic regulation of bone and mineral metabolism [J]. Calcif Tissue Int, 2018, 102(4): 480-488.

(责任编辑: 韩晓红 于梦娇)

作者简介



闫梦娜, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品加工与安全。

E-mail: A2052956630@163.com



韩雪梅, 硕士, 工程师, 主要研究方向为功能食品发酵。

E-mail: 1448006543@qq.com