

## · 综述 ·

## 肠道益生菌对骨代谢的影响

刘洲君 胡咏新 刘超

**【摘要】** 研究发现肠道益生菌对骨代谢有正性调节作用,对骨骼健康有益。乳酸菌和双歧杆菌是主要研究对象,肠道益生菌通过多种机制促进维生素 D 合成,提高矿物质利用度,增加血钙水平,降低甲状旁腺激素水平,增加骨密度和骨矿含量,可能有助于抑制骨质疏松。

**【关键词】** 益生菌;骨矿含量;骨密度;骨质疏松

**Effects of intestinal probiotics on bone metabolism** Liu Zhoujun, Hu Yongxin, Liu Chao. Endocrine and Diabetes Center, Jiangsu Province Hospital on Integration of Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

Corresponding author: Liu Chao, Email: liuchao@nfm.cn.com

**【Abstract】** Studies showed a positive effect of intestinal probiotic on bone metabolism, which is good for bone health. Most of the investigated bacteria are Lactobacillus and Bifidobacterium. The probiotics could promote the synthesis of vitamin D and increase the bioavailability of the minerals by various mechanisms, which leads to increased bone mass density and bone mineral content followed by increasing serum calcium level and reducing parathyroid hormone level. The probiotics may be helpful for inhibiting osteoporosis.

**【Key words】** Probiotics; Bone mineral content; Bone mass density; Osteoporosis

原发性骨质疏松是最常见的代谢性骨病。目前,欧洲、日本及美国有 7.5 亿人患有骨质疏松,预计 2020 年有 50% 的美国人会发展为骨量低下。抗骨质疏松治疗近来受到重视并被广泛研究,近年发现食用益生菌也是抗骨质疏松的方法之一。

人体正常肠道细菌也包含益生菌组分,这些益生菌可产生短链脂肪酸和乳酸代谢终末产物,临床上发现这些细菌可治疗及预防肠道内和肠道外来源的疾病。最近的研究还发现肠道细菌对骨骼健康有益,肠道益生菌可通过多种机制提高骨密度和骨矿含量,其中研究最多的细菌是乳酸菌和双歧杆菌,以下对其研究进展进行综述。

### 1 益生菌在动物实验中对骨代谢的影响

在绝经后动物模型的研究中发现,不同菌株如乳酸菌和双歧杆菌可能增加卵巢切除小鼠或大鼠的骨密度<sup>[1-3]</sup>。Chiang 和 Pan<sup>[2]</sup> 给卵巢切除小鼠  $1 \times 10^8$  CFU/ml 副干酪乳酸菌和植物乳杆菌,检查双侧股骨,结果显示,与未喂食这类益生菌的模型动物相比,喂食了益生菌的小鼠骨小梁数量更多。另一项

研究发现,经罗伊氏乳杆菌 ATCC PTA 6475 (*L. reuteri*) 菌株治疗的小鼠,骨吸收标志物和活化剂以及破骨细胞生成均明显下降,在体外研究中,骨髓 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞可促进破骨细胞生成,*L. reuteri* 可抑制由于卵巢切除诱导的骨髓 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞的增加,直接抑制破骨细胞生成,同时 *L. reuteri* 可改变卵巢切除鼠肠道的微生物群,研究者认为 *L. reuteri* 治疗是减少绝经后骨丢失简单而有效的方法<sup>[3]</sup>。

一项关于干酪乳酸菌、罗伊氏乳杆菌和加氏乳杆菌的研究还发现,给发育期小鼠喂食这些益生菌,与对照组相比,其钙的吸收会明显增加,骨的重量增加 35%<sup>[4]</sup>。另外, Kim 等<sup>[5]</sup> 指出虽然与对照组相比,卵巢切除大鼠的骨密度下降,但是注射发酵牛奶中所含的干酪乳酸菌 393 后,这些大鼠的骨密度得到明显改善,对照组骨断裂强力(骨强度)比卵巢切除组强,但是给卵巢切除组喂食发酵牛奶后,其骨强度与对照组没有区别。Sadeghi<sup>[6]</sup> 将 160 只肉仔鸡随机分为对照组、益生菌治疗组、感染肠炎沙门菌组及感染肠炎沙门菌-益生菌治疗组 4 组,在 21 d 时,益生菌治疗组胫骨灰分、钙含量最高,而感染肠炎沙门菌组最低,感染肠炎沙门菌-益生菌治疗组胫骨灰分、钙含量有所增加( $P < 0.05$ )。而随着仔鸡的生长,肠道沙门菌带来的不良影响和益生菌对骨代谢

的影响均减弱,在42 d后对胫骨灰分、钙含量则没有影响。

发酵的花椰菜中长双歧杆菌对骨骼健康同样有益,研究者按喂食食物不同将雄性大鼠分为4组:正常饮食对照组、高脂饮食组、高脂+花椰菜组和高脂+长双歧杆菌组,与正常饮食对照组相比,高脂+花椰菜组和高脂+长双歧杆菌组的血清总胆固醇、血清有效抗氧化剂水平更高,在牙周,谷胱甘肽/氧化型谷胱甘肽比正常饮食对照组高34%;另外,与正常饮食对照组相比,高脂+花椰菜组大鼠只有少量抗酒石酸酸性磷酸酶阳性的破骨细胞,而抗酒石酸酸性磷酸酶是骨吸收和破骨细胞活性的良好标志物,提示长双歧杆菌可以抑制破骨细胞活性<sup>[1]</sup>。

但是Rodrigues等<sup>[7]</sup>对长双歧杆菌和雪莲果粉的研究结果与前述研究矛盾,该研究包含32只雄性Wistar大鼠,分为AIN-93G饲料对照组(C组)、雪莲果粉组(Y组)、饲料+长双歧杆菌组(B组)、雪莲果粉+长双歧杆菌组(YB组)。研究者评估每日摄入的食物、周次体重,从而通过体重/总摄入食物量计算食物效率系数,他们发现处理28 d后,大鼠体重、食物总摄入量和饲料转化效率没有变化,而钙、磷和镁等矿物含量在B组及YB组是升高的,但Y组、B组、YB组与C组之间,股骨厚度、长度和骨折强度没有发现差异。

在动物体外实验中,有学者从生长8~12周的雌性小鼠的股骨和胫骨取得骨髓细胞,研究细菌成分对成骨细胞和破骨细胞的影响,发现瑞士乳杆菌可增加骨密度,通过检测培养的成骨细胞中钙的沉积,发现发酵乳乳清中的瑞士乳杆菌浓度在 $1 \times 10^{-5}$ 、 $1 \times 10^{-4}$ 和 $1 \times 10^{-3}$ 时均可以使成骨细胞活性增加1.3~1.4倍。但在体外破骨细胞培养中,没有发现其对骨形成的作用<sup>[8]</sup>。

## 2 益生菌在人体试验中对骨代谢的影响

基于动物实验的结论,益生菌对人体骨代谢影响的研究也逐渐增加。在一项针对20名平均体重指数为 $26 \text{ kg/m}^2$ 的65岁绝经后妇女的随机双盲交叉研究中,研究对象被分为进食瑞士乳杆菌发酵乳组及不含益生菌乳组,洗脱期为6 d。在研究开始前,所有研究对象进食含600 mg钙的奶制品,避免因钙量的不同影响晨尿钙的量,研究评估血清甲状旁腺激素、离子钙、钙、磷和0, 1, 2, 4, 6, 8 h的1型胶原羧基末端肽以及0, 2, 4, 6和8 h的尿钙和尿肌酐水平。结果显示,发酵乳中的乳酸菌可明显降低甲状旁腺激素水平,增加血清钙水平,最终减少

绝经后妇女的骨吸收。与对照组相比,摄入瑞士乳杆菌发酵乳组血清离子钙、总钙、磷酸盐和尿钙更高<sup>[9]</sup>。

## 3 益生菌影响骨代谢的机制

3.1 益生菌产生短链脂肪酸 维生素A、B、C、D、E和K参与钙的代谢,是骨形成的必需元素,益生菌可促进维生素的合成<sup>[10-11]</sup>。另外,益生菌产生短链脂肪酸,通过其溶解作用提高矿物质吸收,降低甲状旁腺激素水平<sup>[12]</sup>。

3.2 益生菌产生植酸酶 谷物所含矿物质可被植酸所包围,锌、铁、铜和钙等矿物质的利用度会被植酸抑制<sup>[13]</sup>。而益生菌产生的植酸酶可抑制植酸作用,从而释放这些矿物质,在低钙、低磷饮食中加入植酸酶可改善生长能力、骨质及磷的利用<sup>[14]</sup>。

3.3 益生菌产生生物活性肽 肠道乳酸菌和双歧杆菌可水解雌激素活性食物的糖苷键,而富含雌激素活性的食物也可增加矿物质的生物利用度<sup>[2]</sup>。一些益生菌产生的多肽可发挥生物功能,被称为生物活性肽。不同的益生菌产生不同的生物活性肽<sup>[15]</sup>。瑞士乳杆菌产生的脯氨酰包含的多肽为异亮氨酰-脯氨酰-脯氨酸和异戊氨酰-脯氨酰-脯氨酸,可以增加矿物质利用度;另外,一些多肽虽然不能被吸收,但可以使矿物质从非溶解离子中释放出来,因此提高矿物质的吸收。研究还发现两歧双歧杆菌MF20/5发酵乳与异亮氨酰-脯氨酰-脯氨酸、异戊氨酰-脯氨酰-脯氨酸均有抑制和防止血管紧张素I转化成血管紧张素II的作用,其中两歧双歧杆菌MF20/5发酵乳作用最强。体外研究发现,血管紧张素II抑制成骨细胞分化和矿化结节形成,并且是骨骼脉管系统中的血管收缩剂,可减少组织供血<sup>[9,16-17]</sup>。瑞士乳杆菌发酵乳还可通过酪蛋白磷酸肽(CPP)减少骨丢失,研究发现,牛奶在肠道内消化产生CPP,而CPP可增加卵巢切除大鼠钙的生物利用度,预防骨质疏松<sup>[5,18]</sup>。

3.4 益生菌提高抗氧化作用及减少肠道炎性反应

人体原代骨髓细胞培养研究显示,过氧化氢激活抗酒石酸酸性磷酸酶阳性的多核巨细胞,增加破骨细胞活性,增加与破骨细胞分化有关的巨噬细胞集落刺激因子、核因子- $\kappa$ B受体活化因子配体的表达,使核因子- $\kappa$ B受体活化因子配体/护骨素比值增加,因此,氧化应激刺激破骨细胞分化形成,与骨吸收增加有关<sup>[19]</sup>。而长双歧杆菌可通过下调核因子- $\kappa$ B基因表达,提高牙周抗氧化状态。在牙槽骨质丢失过程中,诱导型一氧化氮合酶是重要的炎性

反应因子,长双歧杆菌在牙周组织中可下调诱导型一氧化氮合酶基因的表达,因此,免疫调节作用和抗氧化作用对牙槽骨表面的破骨细胞分化产生抑制作用<sup>[1]</sup>。

摄入益生菌可以减少肠道炎性反应,从而增加骨密度<sup>[20]</sup>。罗依双歧杆菌 6475 可减少全身促炎性细胞因子水平,从而增加骨体积分数;同样,它可减少空肠和回肠中促炎性细胞因子的表达。罗伊氏乳杆菌 6475 可提高钙的溶解度、减少肠道上皮细胞炎性反应,促进营养物质的运输,从而增加钙的吸收,影响骨代谢。该研究来源于动物实验,除了代谢的不同,人体和啮齿类动物如大鼠的胃肠道生理、解剖和生物化学均有区别,这些差异可引起摄入营养物质和药物吸收的明显差异。目前在胃肠道中发现大约有 400 种不同的微生物,肠道微生物群参与各种影响营养物质吸收的化学物质的代谢。

综上所述,无论动物实验或人体研究,均明确了益生菌对骨骼的有利影响,因此增加益生菌的摄入可能是增加矿物质吸收,改善骨密度的安全有效的方法。但益生菌对骨代谢影响机制的研究多源于动物实验,其对人类骨代谢的影响及作用机制仍需要进一步探讨。

### 参 考 文 献

- [1] Tomofuji T, Ekuni D, Azuma T, et al. Supplementation of broccoli or Bifidobacterium longum-fermented broccoli suppresses serum lipid peroxidation and osteoclast differentiation on alveolar bone surface in rats fed a high-cholesterol diet[J]. Nutr Res, 2012, 32(4):301-307. DOI: 10.1016/j.nutres.2012.03.006.
- [2] Chiang SS, Pan TM. Antiosteoporotic effects of Lactobacillus-fermented soy skim milk on bone mineral density and microstructure of femoral bone in ovariectomized mice[J]. J Agric Food Chem, 2011, 59(14):7734-7742. DOI: 10.1021/jf2013716.
- [3] Britton RA, Irwin R, Quach D, et al. Probiotic L. reuteri treatment prevents bone loss in a menopausal ovariectomized mouse model[J]. J Cell Physiol, 2014, 229(11):1822-1830. DOI: 10.1002/jcp.24636.
- [4] Ghanem KZ, Badawy IH, Abdel-Salam AM. Influence of yoghurt and probiotic yoghurt on the absorption of calcium, magnesium, iron and bone mineralization in rats[J]. Milchwissenschaft, 2004, 59(9-10):472-475.
- [5] Kim JG, Lee E, Kim SH, et al. Effects of a Lactobacillus casei 393 fermented milk product on bone metabolism in ovariectomized rats[J]. Int Dairy J, 2009, 19(11):690-695.
- [6] Sadeghi AA. Bone mineralization of broiler chicks challenged with salmonella enteritidis fed diet containing probiotic(Bacillus subtilis)[J]. Probiotics Antimicrob Proteins, 2014, 6(3-4):136-140. DOI:10.1007/s12602-014-9170-6.
- [7] Rodrigues FC, Castro AS, Rodrigues VC, et al. Yacon flour and Bifidobacterium longum modulate bone health in rats[J]. J Med Food, 2012, 15(7):664-670. DOI: 10.1089/jmf.2011.0296.
- [8] Narva M, Halleen J, Väänänen K, et al. Effects of Lactobacillus helveticus fermented milk on bone cells *in vitro*[J]. Life Sci, 2004, 75(14):1727-1734.
- [9] Gonzalez-Gonzalez C, Gibson T, Jauregi P. Novel probiotic-fermented milk with angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides produced by Bifidobacterium bifidum MF 20/5[J]. Int J Food Microbiol, 2013, 167(2):131-137. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2013.09.002.
- [10] Ahmadi H, Arabi A. Vitamins and bone health: beyond calcium and vitamin D[J]. Nutr Rev, 2011, 69(10):584-598. DOI: 10.1111/j.1753-4887.2011.00372.x.
- [11] Hancock RD, Viola R. The use of micro-organisms for L-ascorbic acid production: current status and future perspectives[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2001, 56(5-6):567-576.
- [12] Campbell JM, Fahey GC Jr, Wolf BW. Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats[J]. J Nutr, 1997, 127(1):130-136.
- [13] Lopez HW, Coudray C, Levrat-Verny MA, et al. Fructooligosaccharides enhance mineral apparent absorption and counteract the deleterious effects of phytic acid on mineral homeostasis in rats[J]. J Nutr Biochem, 2000, 11(10):500-508.
- [14] Shang Y, Rogiewicz A, Patterson R, et al. The effect of phytase and fructooligosaccharide supplementation on growth performance, bone quality, and phosphorus utilization in broiler chickens[J]. Poult Sci, 2015, 94(5):955-964. DOI: 10.3382/ps/pev044.
- [15] Matar C, Amiot J, Savoie L, et al. The effect of milk fermentation by Lactobacillus helveticus on the release of peptides during *in vitro* digestion[J]. J Dairy Sci, 1996, 79(6):971-979.
- [16] Nakai K, Kawato T, Morita T, et al. Angiotensin II suppresses osteoblastic differentiation and mineralized nodule formation via AT1 receptor in ROS17/2.8 cells[J]. Arch Med Sci, 2015, 11(3):628-637. DOI:10.5114/aoms.2015.52369.
- [17] Ma YF, Stimpel M, Liang H, et al. Impact of antihypertensive therapy on the skeleton: effects of moexipril and hydrochlorothiazide on osteopenia spontaneously hypertensive ovariectomized rats[J]. J Endocrinol, 1997, 154(3):467-474.
- [18] Bennett T, Desmond A, Harrington M, et al. The effect of high intakes of casein and casein phosphopeptide on calcium absorption in the rat[J]. Br J Nutr, 2000, 83(6):673-680.
- [19] Baek KH, Oh KW, Lee WY, et al. Association of oxidative stress with postmenopausal osteoporosis and the effects of hydrogen peroxide on osteoclast formation in human bone marrow cell cultures[J]. Calcif Tissue Int, 2010, 87(3):226-235. DOI:10.1007/s00223-010-9393-9.
- [20] Sjögren K, Engdahl C, Henning P, et al. The gut microbiota regulates bone mass in mice[J]. J Bone Miner Res, 2012, 27(6):1357-1367. DOI:10.1002/jbmr.1588.

(收稿日期:2015-05-24)