

DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20250221.004

网络出版地址: https://link.cnki.net/urlid/46.1049.R.20250221.1155.008

## 基于UPLC-MS/MS代谢组学技术探究乳杆菌对神经递质合成的影响

石 谍, 成婷婷, 陈 静, 时应兰, 朱攀攀, 黄朝霞, 李 军<sup>✉</sup>

(贵州中医药大学, 贵州 贵阳 550025)

**[摘要]** **目的:** 探究两种不同乳杆菌对外周神经递质的影响。**方法:** 选取8周龄C57BL/6雄性小鼠18只适应性喂养1周后, 随机分为对照(DZ)组、罗伊氏乳杆菌(LYS)组、嗜酸乳杆菌(SS)组, 每组6只。DZ组每天灌胃生理盐水0.2 mL/只, 干预组(罗伊氏乳杆菌、嗜酸乳杆菌组)每天分别灌胃0.2 mL/只的对应菌种冻干粉溶液。灌胃10周后采集小鼠血液, 采用UPLC-MS/MS对小鼠血清中的神经递质进行定性定量分析。同时通过多元统计分析观察各组小鼠血清中神经递质含量的变化, 并结合 $t$ 检验( $P<0.05$ )与OPLS-DA(VIP>1)筛选出差异常代谢物。**结果:** 小鼠血清中检测到5类共39种神经递质, 其中氨基酸类21种, 单胺类13种, 胆碱类1种, 其他类4种。多元统计分析显示9种差异代谢物。通过罗伊氏乳杆菌和嗜酸乳杆菌干预后ILA( $P<0.01$ )、IAA( $P<0.01$ )含量均明显上升, GABA( $P<0.05$ )含量明显下降。同时, 在不同乳杆菌干预后发现SS组中IAM( $P<0.05$ )、5-HIAA( $P<0.05$ )、Pro( $P<0.01$ )含量明显升高, Trp( $P<0.01$ )、Gln( $P<0.0001$ )含量明显降低, 而LYS组中XA( $P<0.001$ )含量明显升高。**结论:** 两种乳杆菌均可促进兴奋性神经递质释放, 减少抑制性神经递质积累, 但两种乳杆菌对其他神经递质的积累存在一定的差异, 研究结果可为乳杆菌改善疾病的相关研究提供理论与实验依据。

**[关键词]** 罗伊氏乳杆菌; 嗜酸乳杆菌; 神经递质; 氨基酸类神经递质

**[中图分类号]** R371 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-5953(2026)06-0401-09

### Effect of *Lactobacillus* on neurotransmitter synthesis based on UPLC-MS/MS metabolomics technology

SHI Die, CHENG Tingting, CHEN Jing, SHI Yinglan, ZHU Panpan, HUANG Zhaoxia, LI Jun<sup>✉</sup>

(Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China)

**[Foundation Project]:** This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (82060163, 82160167); National and Provincial Scientific and Technological Innovation Talent Team Cultivation Project of Guizhou University of Chinese Medicine [Guizhou University of Chinese Medicine TD Hezi (2024) 002]

**[Author]:** SHI Die, E-mail: 414977193@qq.com.

**[Correspondence to]:** LI Jun, Ph.D., Professor, Master's Supervisor, E-mail: speker@163.com.

**Received:** 2024-11-17 **Revised:** 2025-02-09

JHMU, 2026;32(6):401-409

**View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.**

**[Abstract] Objective:** To investigate the effects of 2 different *Lactobacillus* species on peripheral neurotransmitters. **Methods:** A total of 18 8-week-old C57BL/6 male mice were selected for adaptive feeding for 1 week and randomly divided into the control (DZ), group the *Lactobacillus reuteri* (LYS) group, and the *Lactobacillus acidophilus* (SS) group, with 6 mice in each group. The DZ group was gavaged with 0.2 mL/each of saline per day, and the intervention groups (*Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus acidophilus* groups) were gavaged with 0.2 mL/each of lyophilized powdered solution of the corresponding strains per day, respectively. The blood of mice was collected after 10 weeks of gavage, and the neurotransmitters in mouse serum were analyzed qualitatively and quantitatively by UPLC-MS/MS. Meanwhile, the changes of neurotransmitter contents in the serum of mice in each group were observed by multivariate statistical analysis, and the differential metabolites were screened out by combining  $t$ -test

**[基金项目]** 国家自然科学基金(82060163, 82160167); 贵州中医药大学国家与省级科技创新人才团队培育项目[贵中医TD合字(2024)002号]

**[作者简介]** 石 谍, E-mail: 414977193@qq.com。

**[通讯作者]** 李 军, 博士, 教授, 硕士研究生导师, E-mail: speker@163.com。

**[收稿日期]** 2024-11-17 **[修回日期]** 2025-02-09 **网络出版时间:** 2025-02-24 10:45:52

( $P < 0.05$ ) with OPLS-DA (VIP > 1). **Results:** A total of 39 neurotransmitters from 5 classes were detected in mouse serum, including 21 amino acids, 13 monoamines, 1 choline, and 4 others. Multivariate statistical analysis revealed 9 differential metabolites. The content of ILA ( $P < 0.01$ ) and IAA ( $P < 0.01$ ) was significantly increased, and the content of GABA ( $P < 0.05$ ) was significantly decreased after the intervention by *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus acidophilus*. Meanwhile, IAM ( $P < 0.05$ ), 5-HIAA ( $P < 0.05$ ), and Pro ( $P < 0.01$ ) contents were found to be significantly higher, and Trp ( $P < 0.01$ ) and Gln ( $P < 0.000 1$ ) contents were significantly lower in the SS group after different *Lactobacillus* interventions, whereas XA ( $P < 0.001$ ) contents were found to be significantly higher in the LYS group. **Conclusion:** Both species of *Lactobacillus* can promote the release of excitatory neurotransmitters and reduce the accumulation of inhibitory neurotransmitters, but there are some differences between the two species of *Lactobacillus* in the accumulation of other neurotransmitters, and the results of the study can provide theoretical and experimental bases for studies related to *Lactobacillus* to improve the disease.

[Key words] *Lactobacillus reuteri*; *Lactobacillus acidophilus*; Neurotransmitters; Amino acid neurotransmitters

益生菌是一类对宿主有益的活性微生物,摄入足量的益生菌可改善宿主健康状况。益生菌通过维护肠道菌群的稳定状态,参与营养的吸收与代谢过程,可以预防甚至治疗胃肠道、神经退行性、代谢紊乱等许多常见疾病<sup>[1]</sup>。益生菌主要包括乳杆菌类、双歧杆菌类、革兰阳性球菌类等类别<sup>[2]</sup>,乳杆菌是最常用于功效研究的益生菌之一<sup>[3]</sup>,应用涵盖了食品、医药、农业、渔业以及日化产品等多个领域,具有巨大的商业价值和健康价值<sup>[4]</sup>。

乳杆菌在糖脂代谢紊乱性疾病(如非酒精性脂肪肝、糖尿病、高血脂)、神经退行性疾病(如帕金森、阿尔茨海默症)以及免疫调节和胃肠道疾病等的预防及治疗上体现出了巨大的潜力<sup>[5-7]</sup>。值得关注的是,乳杆菌可能是通过调节肠道菌群影响神经递质的产生以及水平,维持肠-脑轴的稳态,进而调节机体代谢、改善神经退行性疾病<sup>[8-10]</sup>。现有研究表明,补充植物乳杆菌<sup>[11-14]</sup>能够有效增加机体内5-羟色胺、多巴胺、去甲肾上腺素以及GABA的含量。与此同时,补充克劳氏芽孢杆菌和发酵乳杆菌<sup>[15]</sup>,可促进多巴胺、5-羟色胺和去甲肾上腺素的表达水平上调。而补充罗伊氏乳杆菌<sup>[16]</sup>,则有助于恢复GABA相关受体的表达。尽管已有许多研究成果揭示了乳杆菌与神经递质之间的关联,但关于乳杆菌究竟如何调控机体神经递质水平,具体的作用机制以及所产生的影响缺乏系统性的研究,仍有待进一步深入探索与清晰阐释。

基于此,本研究选用C57BL/6J小鼠给予两种常见的乳杆菌(罗伊氏乳杆菌、嗜酸乳杆菌)干预,通过超高效液相色谱-串联质谱联用(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)代谢组学技术,对小鼠血清中的39种神经递质进行定量分析。通过多维度实验分析,探究不同乳杆菌对小鼠神经递质水平的影响,以期乳杆菌通过影响神经递质水平进而改善

相关疾病的可能机制提供线索。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料和试剂

罗伊氏乳杆菌(*Lactobacillus reuteri*) LP121 (CGMCC No. 25311)、嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*) LA011 (CGMCC No. 26330),上述菌种冻干粉均购于郑州百益宝生物技术有限公司,在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。取上述菌种冻干粉按一定比例与生理盐水分别配置为 $10^9$  CFU/mL的冻干粉溶液,并于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴30 min活化,以便下一步使用。

### 1.2 动物与实验设计

实验动物为18只8周龄SPF级C57BL/6J小鼠,雄性,体重( $18.0 \pm 2.0$ ) g,购于长沙天勤生物科技有限公司。本研究所有动物实验和实验程序经中国贵州中医药大学实验动物研究所伦理委员会批准(批准号为:20210186)。以普通维持饲料进行一周适应性喂养后,随机分为3组( $n=6$ ):正常对照(DZ)组、罗伊氏乳杆菌(LYS)、嗜酸乳杆菌组(SS)组。DZ组每天按0.2 mL/只进行灌胃生理盐水,LYS组、SS组均每日灌胃0.2 mL/只相应乳杆菌冻干粉的生理盐水溶液<sup>[17]</sup>。实验进行10周后,禁食不禁水12 h,摘眼球取血后处死,将血液装于1.5 mL离心管中,室内静置2 h,离心机5 000 r/min离心10 min( $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ),分装血清并立即存放于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存,备用。

### 1.3 方法

**1.3.1 样品处理** 精确移取100  $\mu\text{L}$ 血清样本,加入20  $\mu\text{L}$ 同位素内标(5 000 ng/mL)和380  $\mu\text{L}$ 甲醇,涡旋1 min,然后 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 静置30 min, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  14 000 rcf离心15 min,取上清液250  $\mu\text{L}$ 放到冷冻浓缩离心干燥器中旋干,旋干后加入100  $\mu\text{L}$ 水涡旋复溶, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  14 000 rcf离心5 min,取上清至进样小瓶,作为低浓度物质检测样本。取原始上清10  $\mu\text{L}$ ,加入90  $\mu\text{L}$ 水,涡旋30 s,取稀释后的样本50  $\mu\text{L}$ ,加入50  $\mu\text{L}$  1 000 ng/mL的同位素内标,涡旋30 s, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  14 000 rcf

离心 2 min, 取上清液至进样小瓶, 作为高浓度物质检测样本。

**1.3.2 神经递质标准溶液制备** 精确称取 39 种神经递质标准品适量, 用甲醇或水配制单标母液。量取各母液适量制成混合标准品, 用水稀释至合适浓度, 制成工作标准溶液。称取同位素标准品 (Trp-D5、Glu-13C5) 适量, 用甲醇配制单标母液。量取同位素标准品各母液适量制成混合同位素标准品, 用水配制成同位素内标混标溶液浓度为 5 000 ng/mL 及 1 000 ng/mL。

**1.3.3 UPLC-MS/MS 法对小鼠血清中的神经递质定性定量分析** (1) 色谱条件: 采用 ExionLC AD system, Waters HSS T3 (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm) 液相色谱柱, 流动相 A (0.1% 甲酸水), 流动相 B (0.1% 甲酸乙腈), 梯度洗脱 (0~1.0 min, 10% B; 1.0~1.5 min, 10%~98% B; 1.5~3.0 min, 98% B; 3.0~3.1 min, 98%~10% B; 3.1~5.0 min, 10% B); 流速 0.3 mL/min, 柱温 35 °C, 进样体积 1 μL。(2) 质谱条件: 利用 AB SCIEX QTRAP 6500+ 系统, 选择正/负模式检测, 气帘气 (curtain gas, CUR) 为 35, 碰撞气 (collision gas, CAD) 为 Medium, ionspray voltage (IS) 为 +5500/-4500, 辅助气加热温度 (temperature, TEM) 为 550, 辅助气 1 (ion source gas1, GS1) 为 55, 辅助气 2 (ion source gas2, GS2) 为 55。

#### 1.4 数据处理

在 AB Sciex 定量软件 OS 中采用默认参数对各离子碎片进行自动识别和积分, 并辅助人工检查。以分析物的质谱峰面积与内标峰面积的比值为纵坐标, 以分析物的浓度为横坐标绘制线性回归标准曲线。样本浓度计算: 将样品分析物的质谱峰面积与内标峰面积的比值, 代入线性方程中, 计算浓度结果。

#### 1.5 统计学处理

采用 SPSS 26.0 统计软件对神经递质浓度数据进行单因素方差分析; 采用学生 *t* 检验 (Student's *t* test) 对代谢组学数据进行单变量统计分析,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。神经递质浓度数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。使用 SIMCA 16.0.2 对数据进行多元统计分析, 包括主成分分析 (principal components analysis, PCA) 和正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal projections to latent structures discriminant analysis, OPLS-DA)。以 OPLS-DA 的变量投影重要度 (variable importance in the projection, VIP) 大于 1, 学生 *t* 检验  $P < 0.05$  为标准筛选差异神经递质。

## 2 结果

### 2.1 UPLC-MS/MS 的神经递质识别

对各组小鼠血清样本进行分析, 已有标准品的 39 种神经递质, 根据标准品的保留时间及定量离子和特征离子的精确质量数  $m/z \pm 10$  ppm 进行识别和定量, 神经递质物质离子对参数信息见表 1, 各组

表 1 神经递质物质离子对参数信息

Tab 1 Ion pair parameter information of neurotransmitter substances

序号	缩写	母离子	子离子	DP	CE
1	Trp	205.1	188.1	80	14
2	Kyn	209.1	94.1	20	18
3	3-HAA	154.1	136.1	30	17
4	HK	225.1	208.1	18	13
5	IAM	175.1	130.1	30	22
6	ILA	206.2	188.1	35	17
7	IAA	176.2	130.2	40	35
8	IARa	188.2	170.1	16	18
9	IPA	190.2	130.2	60	25
10	3IS	212.1	79.9	-50	-36
11	GABA	104.1	87.0	30	16
12	Om	133.0	70.1	20	25
13	XA	206.0	160.1	60	26
14	Gly	76.0	30.1	20	20
15	Pro	116.0	70.0	20	22
16	Asp	134.0	74.0	20	17
17	Asn	133.1	74.1	20	23
18	Glu	148.2	84.1	20	23
19	Gln	147.0	84.0	20	14
20	GSH	308.2	179.0	40	19
21	Pun	89.1	72.1	20	15
22	5-HIAA	192.1	146.2	40	23
23	5-HTP	221.2	221.2	20	15
24	Ser	177.2	177.2	10	16
25	NAS	219.2	160.2	30	20
26	DA	154.2	137.2	30	16
27	NE	152.0	107.2	60	25
28	EP	166.2	107.1	80	26
29	L-DP	198.1	152.21	60	19
30	HVA	183.1	137.2	30	22
31	Tyn	138.0	121.1	40	15
32	Hin	112.1	95.0	40	20
33	TRM	161.1	144.2	10	16
34	PEA	122.1	105.1	30	17
35	ACh	146.1	87.1	30	20
36	3-OMDP	212.1	153.1	30	22
37	5'-GMP	364.1	152.2	40	32
38	2-AP	110.1	92.0	40	23
39	IAA-L-A1a	247.2	130.2	35	28

小鼠血清中神经递质的总离子流图见图1。结果表明了采用本分析方法可得到较好的色谱峰,很好地实现了各神经递质的色谱分离。

## 2.2 小鼠血清中各类神经递质定量结果

本研究采用UPLC-MS/MS法,通过神经递质

的标准曲线,对3组小鼠中血清中的39种已知神经递质进行了准确定量,结果采用浓度(ng/mL)表示,见表2。

## 2.3 多元统计分析

本研究采用PCA分析对各组小鼠的神经递质

表2 39种神经递质定量结果(ng/mL,  $n=6, \bar{x} \pm s$ )

Tab 2 Quantitative results of 39 neurotransmitters(ng/mL,  $n=6, \bar{x} \pm s$ )

类别	中文名	缩写	DZ	LYS	SS
	色氨酸	Trp	91.36±40.21	131.84±24.92	35.45±9.12
	犬尿氨酸	Kyn	144.67±66.02	180.02±60.10	152.84±47.73
	3-羟基-2-氨基苯甲酸	3-HAA	1.28±0.53	1.91±0.74	1.71±1.05
	DL-3-羟基犬尿氨酸	HK	10.81±4.44	15.45±5.81	12.19±4.59
色氨酸及其代谢物	吲哚-3-乙酰	IAM	0.23±0.07	0.27±0.08	0.32±0.06
	吲哚-3-乳酸	ILA	93.34±53.92	172.02±57.23	120.78±21.08
	吲哚-3-乙酸	IAA	12.63±4.23	20.74±7.76	17.11±4.05
	3-吲哚丙烯酸	IArA	6.15±5.33	6.46±4.52	3.14±1.45
	吲哚-3-丙酸	IPA	123.04±80.08	235.4±153.49	136.79±62.65
氨基酸类	硫酸吲哚酚	3IS	2 001.68±932.18	2 047.16±1 140.21	1 391.95±431.37
	γ-氨基丁酸	GABA	97.26±19.45	67.99±17.41	86.33±47.83
	鸟氨酸	Om	218.89±145.32	224.43±29.59	256.92±72.10
	黄尿酸	XA	6.76±4.62	11.44±3.86	9.40±4.68
	甘氨酸	Gly	127.06±39.76	118.67±30.74	153.63±26.29
其他氨基酸类及其代谢物	L-脯氨酸	Pro	120.43±8.12	118.41±31.41	189.94±44.41
	L-天冬氨酸	Asp	46.12±18.68	44.21±19.06	44.55±5.98
	L-天冬酰胺	Asn	52.31±15.88	55.75±9.91	61.93±8.76
	L-谷氨酸	Glu	120.92±13.57	121.99±19.72	131.56±79.48
	L-谷氨酰胺	Gln	5 818.9±578.32	6 321.27±1 567.00	1 484.45±408.68
	谷胱甘肽	GSH	12.59±7.86	11.48±3.69	7.72±1.14
	1,4-二氨基丁烷(腐胺)	Pun	309.4±94.80	227.14±55.75	270.85±105.03
5-羟色胺及其代谢物	5-羟基吲哚乙酸	5-HIAA	85.16±35.12	123.76±26.02	133.24±24.52
	5-羟色氨酸	5-HTP	9.50±2.90	11.00±1.16	11.80±1.11
	血清素	Ser	668.38±200.20	703.66±96.29	780.44±98.18
	N-乙酰-5-羟色胺	NAS	0.77±0.16	0.97±0.21	1.10±0.48
	多巴胺	DA	0.09±0.06	0.10±0.05	0.07±0.06
单胺类	L-去甲肾上腺素	NE	0.30±0.28	0.26±0.2	0.25±0.23
儿茶酚胺类及其代谢物	L-肾上腺素	EP	0.36±0.31	0.35±0.24	0.54±0.52
	左旋多巴	L-DP	0.35±0.22	0.27±0.12	0.45±0.18
	高香草酸	HVA	5.88±4.76	3.28±2.61	4.27±2.75
	酪胺	Tyn	0.62±0.53	0.82±0.94	0.27±0.14
其他单胺类	组胺	Hin	5.47±2.10	5.29±3.49	6.38±2.06
	色胺	TRM	0.07±0.04	0.10±0.02	0.09±0.04
	苯乙胺	PEA	0.12±0.05	0.12±0.02	0.14±0.05
胆碱类	乙酰胆碱	ACh	4.65±1.39	4.87±1.54	5.63±1.78
	3-O-甲基多巴	3-OMDP	4.09±1.73	5.39±2.58	4.75±1.80
其他类	5'-鸟苷酸	5'-GMP	7.54±0.38	7.14±0.39	7.38±0.39
	邻氨基苯酚	2-AP	0.08±0.06	0.14±0.16	0.06±0.09
	N-(3-吲哚乙酰基)-L-丙氨酸	IAA-L-Ala	1.97±1.60	4.77±3.39	2.67±1.11

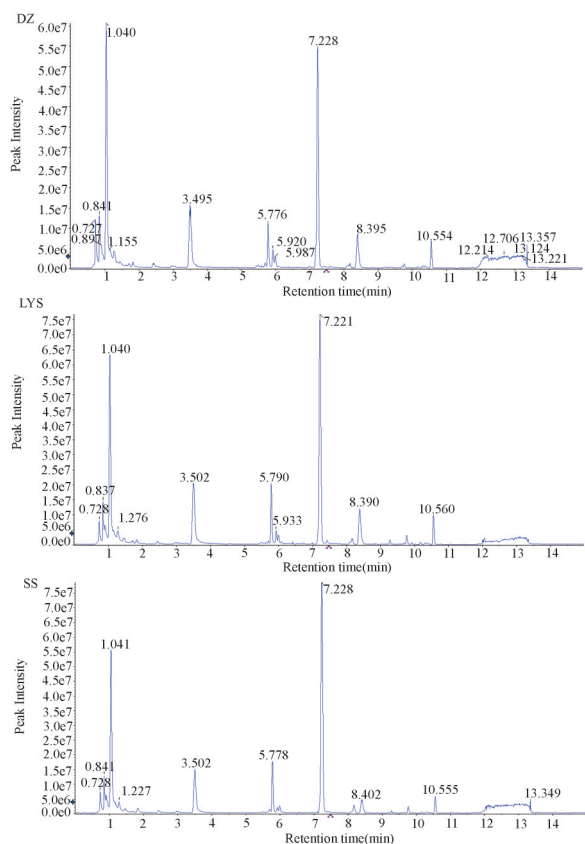


图1 各组小鼠血清中神经递质的总离子流图

Fig 1 Total ion current diagrams of neurotransmitters in the serum of mice in each group

代谢轮廓进行分析,采用OPLS-DA分析对3组进行两两比较,并对3组神经递质浓度进行层次聚类分析。

2.3.1 PCA分析 为了测试小鼠在给予不同乳杆

菌后其血清中是否表现出了神经递质含量的明显变化,对小鼠血清中39种神经递质的定量结果采用了PCA分析,见图2。PCA图显示各组样本全部处于95%置信区间,在图2中,LYS组与DZ组散点聚集在一定区域内,具有分离趋势,而SS组与DZ组的散点明显分离,且散点聚集程度较好。与DZ组相比,LYS组神经递质水平无明显差异,而SS组神经递质水平具有显著性差异。与LYS组相比,SS组神经递质表达水平具有明显差异。说明了经2种不同乳杆菌干预后,乳杆菌干预组小鼠血清中神经递质水平相较于DZ组均发生了变化。

2.3.2 OPLS-DA分析 为了进一步观察DZ组、LYS组和SS组之间神经递质差异表达,采用了OPLS-DA分析,见图3。OPLS-DA显示各组两两之间的散点均明显分离。结果显示,与DZ组相比,LYS组、SS组均具有明显差异。通过置换检验验证OPLS-DA模型拟合效果, $Q^2$ 的回归线在纵坐标

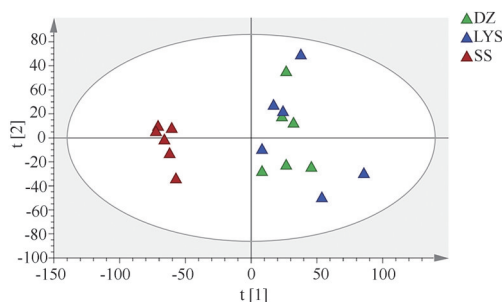
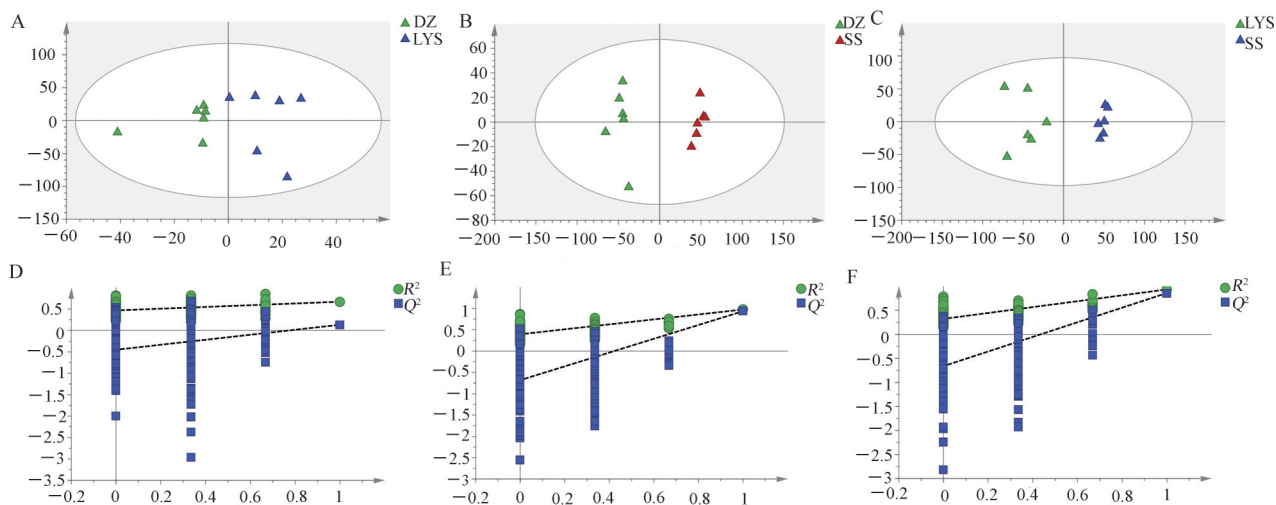


图2 PCA散点得分图

Fig 2 Score scatter plot of PCA model



A: LYS组 vs. DZ组 OPLS-DA 得分散点图; B: SS组 vs. DZ组的 OPLS-DA 得分散点图; C: SS vs. LYS组的 OPLS-DA 得分散点图; D: LYS组 vs. DZ组的置换检验结果; E: SS组 vs. DZ组的置换检验结果; F: SS组 vs. LYS组的置换检验结果

图3 OPLS-DA 得分散点图和置换检验结果

Fig 3 Score scatter plot of OPLS-DA model and permutation test

上的截距小于0,表明此模型无过度拟合现象,具有较好的可预测性和拟合度,可准确地描述数据。进一步证实了2种不同乳杆菌干预对小鼠血清中神经递质的代谢物水平产生了明显的影响。

**2.3.3 层次聚类分析** 为了显示神经递质表达的差异,对3组神经递质浓度数据进行层次聚类分析,颜色从蓝到红表示代谢物的表达丰度从低到高,见图4。与DZ组相比,乳杆菌干预组中氨基酸类神经递质:ILA、3-HAA、IAA、XA、IAM、Asn的含量呈上升趋势,3IS的含量呈下降趋势;单胺类神经递质:TRM、5-HTP、5-HIAA、NAS、Hin、PEA的含量呈上升趋势,NE的含量呈下降趋势;其他类神经递质:2-AP含量呈上升趋势,3-OMDP呈下降趋势。另外,与DZ组相比较,LYS组中Trp、IPA、Gln的含量呈上升趋势,Glu、Gly、Orn、L-DP、Ser、NAS、PEA的含量呈下降趋势,而这些神经递质在SS组中的含量表达趋势与LYS组中的含量表达趋势相反。进一步证实了2种不同乳杆菌干预可能与小鼠血清中神经递质的合成相关。接下来将深入分析具有明显差异的代谢物,探究不同乳杆菌干预对小鼠血清中各类神经递质合成的差异。

**2.4 差异神经递质筛选**

根据 Student's *t* test ( $P < 0.05$ ) 和 OPLS-DA ( $VIP > 1$ ) 分析筛选差异代谢物,从39种神经递质中筛选出各组之间的差异神经递质,见表3。与DZ组相比,LYS组中IAA ( $P < 0.05$ )、ILA ( $P < 0.01$ )、XA ( $P < 0.001$ )的水平明显升高,而GABA ( $P <$

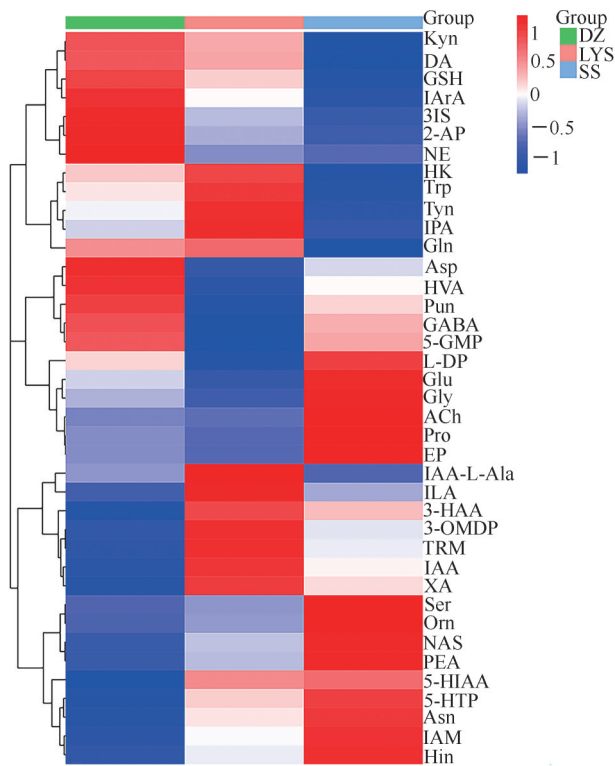


图4 各组间的层次聚类分析热图

Fig 4 Hierarchical cluster analysis heatmap for different groups

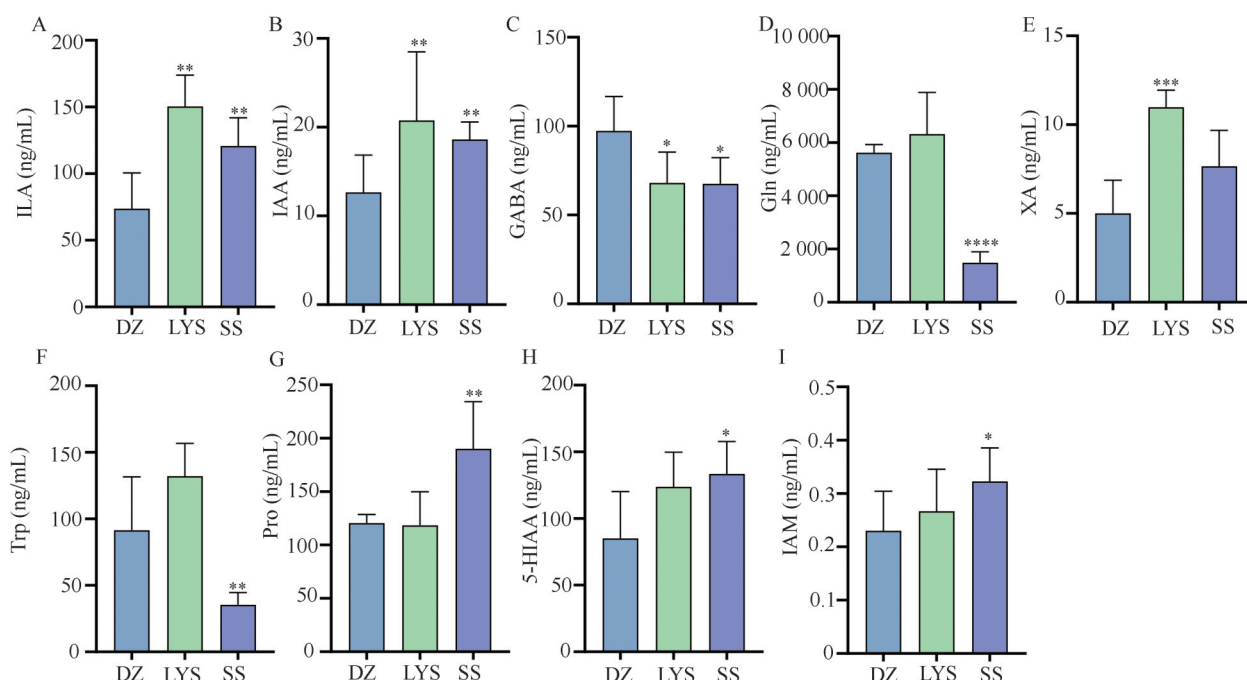
0.05)的水平明显降低。与DZ组相比,SS组中IAM ( $P < 0.05$ )、5-HIAA ( $P < 0.05$ )、Pro ( $P < 0.01$ )的水平明显升高,而Trp ( $P < 0.01$ )、Gln ( $P < 0.000 1$ )的水平明显降低。各组间的差异神经递质见图5。

表3 差异神经递质

Tab 3 Differential neurotransmitters profile

神经递质	LYS vs. DZ		SS vs. DZ	
	<i>P</i>	VIP	<i>P</i>	VIP
IAA	0.048 3 ↑	1.440 0	0.018 2 ↑	1.302 0
ILA	0.001 4 ↑	1.900 2	-	-
XA	0.000 7 ↑	1.395 8	-	-
GABA	0.020 6 ↓	1.962 3	-	-
IAM	-	-	0.041 9 ↑	1.603 3
5-HIAA	-	-	0.025 0 ↑	1.671 0
Trp	-	-	0.007 7 ↓	1.916 0
Pro	-	-	0.003 7 ↑	1.974 1
Gln	-	-	<0.000 1 ↓	2.490 6

注: ↑:含量上升; ↓:含量下降。



A: ILA; B: IAA; C: GABA; D: Gln; E: XA; F: Trp; G: Pro; H: IAM; I: 5-HIAA; DZ: 对照组; LYS: 罗伊氏乳杆菌组; SS: 嗜酸乳杆菌组; 与DZ组比较: \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ;  $n = 6$

图5 不同组差异神经递质浓度比较

Fig 5 Differential neurotransmitters among different groups

### 3 讨论

本研究利用UPLC-MS/MS代谢组学技术对小鼠血清中的神经递质进行鉴定,获得了39种已知神经递质,主要分为氨基酸类、单胺类、胆碱类、其他类神经递质。研究结果显示乳杆菌干预组相较于DZ组氨基酸类神经递质、单胺类神经递质、其他类神经递质中共有13种神经递质含量呈上升趋势,3种呈下降趋势,其中具有明显差异的神经递质代谢物主要集中于氨基酸类神经递质(ILA、IAA、IAM、Trp、Gln、GABA、Pro、XA),提示乳杆菌干预可影响小鼠血清中神经递质的含量。

氨基酸类神经递质不仅介入神经元之间的信号传递,对神经可塑性的调控也具有一定的作用,为神经营养提供关键支持的同时深度参与神经组织的发育,分为兴奋性与抑制性氨基酸类神经递质,二者之间的平衡操控着人体的脑功能<sup>[18]</sup>。色氨酸代谢物ILA、IAA在2种不同的乳杆菌干预下,均呈上升趋势( $P < 0.01$ ),其他类氨基酸神经递质GABA均呈下降趋势( $P < 0.05$ )。ILA、IAA等兴奋性氨基酸类神经递质均呈上升趋势,而抑制性神经递质GABA呈下降趋势,说明乳杆菌干预后,可能会促进兴奋性神经递质释放增加,进而使抑制性神经递质释放减少。一方面,兴奋性神经递质释放增加

可能与乳杆菌介导色氨酸代谢有关。近期研究表明<sup>[19-22]</sup>,外源补充乳杆菌触发Trp代谢或诱导IAA、ILA产生、恢复并增加,进而发挥增强自身免疫,改善肠道炎症并重建剖宫产肠道稳态,减轻特异性皮炎等作用。另一方面,兴奋性神经递质释放增加可能与乳杆菌可改善消化并提高氨基酸的生物利用率有关。有证据表明<sup>[23-28]</sup>,乳杆菌对Trp进行直接代谢产生吲哚及其衍生物,如ILA、IAA等,它们可结合或激活芳烃受体,改善小鼠肠道屏障,间接影响肠道对氨基酸等营养物质的吸收和利用。此外,氨基酸类神经递质中Gln、Trp、Pro、IAM的含量仅在嗜酸乳杆菌干预下发生了明显变化,而XA的含量仅在罗伊氏乳杆菌干预下发生了明显变化,说明了罗伊氏乳杆菌和嗜酸乳杆菌均能对小鼠血清中神经递质的合成产生影响,但二者所发挥的作用存在一定的差异。

综上所述,本研究通过靶向代谢组学技术鉴别出39种差异神经递质,并结合多元统计分析筛选获得8种氨基酸类神经递质具有明显差异,表明补充罗伊氏乳杆菌和嗜酸乳杆菌可能与神经递质合成相关,且存在一定的差异,这为后续深入探讨乳杆菌通过影响神经递质水平改善疾病的相关研究提供可靠的理论基础与实验依据。

作者贡献度说明:

石谍:实验设计,动物实验,论文撰写;李军:论文核修,论文校审;朱攀攀,黄朝霞:代谢组学分析;成婷婷,时应兰,陈静:统计分析,动物实验。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

## 参考文献

- Aponte M, Murru N, Shoukat M. Therapeutic, prophylactic, and functional use of probiotics: A current perspective[J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 562048.
- 程之梁,张钰龙,杨涵,等. 益生菌及其代谢产物调控胰高血糖素样肽-1缓解2型糖尿病的研究进展[J]. *食品科学*, 2024, 45(12):292-303.  
Chen ZL, Zhang YL, Yang H, et al. Probiotics and their alleviate type 2 diabetes mellitus by regulating glucagon-like peptide-1: A review of recent research [J]. *Food Sci*, 2024, 45(12):292-303.
- 中国食品科学技术学会益生菌分会. 益生菌功效性研究与评价的科学综述[J]. *中国食品学报*, 2023, 23(5): 444-455.  
Probiotics Society of the Chinese Institute of Food Science and Technology. A scientific review of research and evaluation of probiotics efficacy[J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2023, 23(5):444-455.
- 李文,刘夫锋. 基于益生菌口服药物递送系统的研究进展[J]. *微生物学报*, 2024, 64(11):4086-4105.  
Li W, Liu FF. Research progress in oral delivery systems with probiotics as carriers [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2024, 64(11):4086-4105.
- 赵祥运,梁慧洁,陆诗发,等. 鼠李糖乳杆菌对非酒精性脂肪肝病小鼠肠道菌群及血清因子的影响[J]. *中国病原生物学杂志*, 2024, 19(11):1283-1289,1294.  
Zhao XY, Liang HJ, Lu SF, et al. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* on intestinal flora and serum factors in mice with nonalcoholic fatty liver disease[J]. *J Pathog Biol*, 2024, 19(11):1283-1289,1294.
- 姜金池,顾敏雯,苏印,等. 益生菌对糖脂代谢紊乱相关疾病的缓解作用及机制[J]. *食品与生物技术学报*, 2024, 43(4):17-24.  
Jiang JC, Gu MW, Su Y, et al. Alleviating effect and mechanism of probiotics on glycolipid metabolism disorder[J]. *J Food Sci Biotechnol*, 2024, 43(4):17-24.
- Beltrán-Velasco AI, Reiriz M, Uceda S, et al. *Lactiplantibacillus (Lactobacillus) plantarum* as a complementary treatment to improve symptomatology in neurodegenerative disease: A systematic review of open access literature[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(5): 3010.
- Di Chiano M, Sallustio F, Fiocco D, et al. Psychobiotic properties of *Lactiplantibacillus plantarum* in neurodegenerative diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(17): 9489.
- Ma T, Jin H, Kwok LY, et al. Probiotic consumption relieved human stress and anxiety symptoms possibly via modulating the neuroactive potential of the gut microbiota [J]. *Neurobiol Stress*, 2021, 14: 100294.
- Liao JF, Cheng YF, Li SW, et al. *Lactobacillus plantarum* PS128 ameliorates 2, 5-Dimethoxy-4-iodoamphetamine-induced tic-like behaviors via its influences on the microbiota - gut-brain-axis [J]. *Brain Res Bull*, 2019, 153: 59-73.
- Ma J, Chen Y, Wang Z, et al. *Lactiplantibacillus plantarum* CR12 attenuates chronic unforeseeable mild stress induced anxiety and depression-like behaviors by modulating the gut microbiota-brain axis [J]. *J Funct Foods*, 2023, 107: 105710.
- Wang L, Li S, Jiang Y, et al. Neuroprotective effect of *Lactobacillus plantarum* DP189 on MPTP-induced Parkinson's disease model mice [J]. *J Funct Foods*, 2021, 85: 104635.
- Chen CM, Wu CC, Huang CL, et al. *Lactobacillus plantarum* PS128 promotes intestinal motility, mucin production, and serotonin signaling in mice [J]. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 2022, 14(3): 535-545.
- Lee DY, Baek JS, Shin YJ, et al. Alleviation of immobilization stress or fecal microbiota-induced insomnia and depression-like behaviors in mice by *Lactobacillus plantarum* and its supplement [J]. *Nutrients*, 2024, 16(21): 3711.
- Rehman MU, Ghazanfar S, Ul Haq R, et al. Probiotics (*Bacillus clausii* and *Lactobacillus fermentum* NMCC-14) ameliorate stress behavior in mice by increasing monoamine levels and mRNA expression of dopamine receptors (D1 and D2) and synaptophysin [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 915595.
- Zhou H, Wang R, Zhang S, et al. Depression-like symptoms due to Dcf1 deficiency are alleviated by intestinal transplantation of *Lactobacillus murine* and *Lactobacillus reuteri* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022, 593: 137-143.
- Duan C, Ma L, Yu J, et al. Oral administration of *Lactobacillus plantarum* JC7 alleviates OVA-induced murine food allergy through immunoregulation and restoring disordered intestinal microbiota [J]. *Eur J Nutr*, 2023, 62(2): 685-698.
- 武春阳,李炜,张丹参,等. 脑内氨基酸水平与学习记忆能力的相关性[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2019, 33(6):471-472.  
Wu CY, Li W, Zhang DS, et al. The correlation between amino acid levels in the brain and learning and

- memory abilities [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol*, 2019, 33(6):471-472.
- 19 Montgomery TL, Eckstrom K, Lile KH, et al. *Lactobacillus reuteri* tryptophan metabolism promotes host susceptibility to CNS autoimmunity [J]. *Microbiome*, 2022, 10(1):198.
- 20 Xia Y, Liu C, Li R, et al. *Lactobacillus*-derived indole-3-lactic acid ameliorates colitis in cesarean-born offspring *via* activation of aryl hydrocarbon receptor [J]. *iScience*, 2023, 26(11):108279.
- 21 Fang Z, Pan T, Wang H, et al. *Limosilactobacillus reuteri* attenuates atopic dermatitis *via* changes in gut bacteria and indole derivatives from tryptophan metabolism [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(14):7735.
- 22 Chi YY, Xiang JY, Li HM, et al. Schisandra chinensis polysaccharide prevents alcohol-associated liver disease in mice by modulating the gut microbiota-tryptophan metabolism-AHR pathway axis [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 282(Part 2):136843.
- 23 Agus A, Planchais J, Sokol H. Gut microbiota regulation of tryptophan metabolism in health and disease [J]. *Cell Host Microbe*. 2018, 23(6):716-724.
- 24 Xue C, Li G, Zheng Q, et al. Tryptophan metabolism in health and disease [J]. *Cell Metab*, 2023, 35(8):1304-1326.
- 25 Cen QY, Pang RZ, Hu XM, et al. New developments in the role of *Lactobacillus reuteri* in regulating intestinal barrier function [J]. *Chin General Pract*, 2022, 25(15):1918-1922.
- 26 杜邦营养生物科学有限公司. 通过益生菌菌株改善蛋白质消化和氨基酸生物利用度的制作方法: 202180084640.3 [P]. 2023-08-22. DuPont Nutrition & Biosciences Ltd. Method for improving protein digestion and amino acid bioavailability through probiotic strains: 202180084640.3 [P]. 2023-08-22.
- 27 王诚, 丁博群, 董桂红, 等. 罗伊氏粘液乳杆菌后生元在改善胃肠道功能性消化不良中的作用 [J]. *食品安全导刊*, 2024, (31):112-115. Wang C, Ding BQ, Dong GH, et al. The role of *Limosilactobacillus reuteri* postbiotics in improving gastrointestinal functional dyspepsia [J]. *China Food Safety Mag*, 2024, (31):112-115.
- 28 大连工业大学. 一株代谢L-色氨酸产吲哚衍生物且具有增强肠道屏障功能的植物乳杆菌及其应用: 202310503602.8 [P]. 2023-05-06. Dalian Polytechnic University. A strain that metabolizes  $\gamma$ -tryptophan to produce indole derivatives and has the function of enhancing the intestinal barrier, and its applications: 202310503602.8 [P]. 2023-05-06.

[本文编辑] 朱金月