Research
Microecology—Article植物乳杆菌 CCFM8610 缓解肠易激综合征并改善肠道菌群失调——
一项随机、双盲、安慰剂对照的先导性临床试验刘洋^{a,b}, 郁辛杰^c, 于雷雷^{a,b}, 田丰伟^{a,b,d}, 赵建新^{a,b}, 张灏^{a,b,e,f,g}, 钱龙^h, 王群^h, 薛正青^h,
翟齐啸^{a,b,d,*}, 陈卫^{a,b,e,i}^a State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China^b School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China^c Hwa Chong Institution (College), Singapore 269734, Singapore^d International Joint Research Laboratory for Probiotics, Jiangnan University, Wuxi 214122 China^e National Engineering Research Center for Functional Food, Jiangnan University, Wuxi 214122, China^f Wuxi Translational Medicine Research Center and Jiangsu Translational Medicine Research Institute Wuxi Branch, Wuxi 214122, China^g (Yangzhou) Institute of Food Biotechnology, Jiangnan University, Yangzhou 225004, China^h The Tinghu People's Hospital, Yancheng 224002, Chinaⁱ Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health, Beijing Technology and Business University (BTBU), Beijing 100048, China

ARTICLE INFO

Article history:

Received 9 April 2020

Revised 17 May 2020

Accepted 18 June 2020

Available online 24 December 2020

关键词

植物乳杆菌
肠易激综合征
肠道菌群
丁酸
临床试验

摘要

腹泻型肠易激综合征 (irritable bowel syndrome with diarrhea, IBS-D) 是一种伴有腹泻等复杂临床症状的慢性肠功能障碍, 对患者的日常生活和精神状态具有极大影响。一些研究报道称, 摄入益生菌可显著缓解多种肠道疾病。本研究的目的是探究一株具有多种保健作用的益生植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) CCFM8610 对 IBS-D 的缓解作用。这项研究是一项为期 12 周的随机、双盲、安慰剂对照的先导性临床试验。75 名患者被随机分配接受安慰剂、低聚糖或植物乳杆菌 CCFM8610 [每天 1×10^{10} CFU (菌落形成单位)], 进行为期两周的观察、8 周的干预及两周的后续随访。采用 IBS 症状严重程度量表 (IBS-SSS) 及 IBS 生活质量量表 (IBS-QOL) 评定患者的临床症状和生活质量。在干预期结束时, 测定肠道菌群组成和多样性的变化。结果表明, 口服植物乳杆菌 CCFM8610 显著降低了 IBS-SSS 和 IBS-QOL 评分, 减轻了 IBS-D 症状的严重程度, 恢复了肠道菌群的多样性, 降低了与腹胀相关的甲烷短杆菌属 (*Methanobrevibacter*) 的相对丰度, 增加了厌氧棒状菌属 (*Anaerostipes*)、双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*)、丁酸弧菌属 (*Butyricimonas*) 及臭杆菌属 (*Odoribacter*) 等丁酸生产种属的相对丰度。这些结果表明, 摄入植物乳杆菌 CCFM8610 可以显著缓解 IBS-D 患者的临床症状及肠道菌群失调。植物乳杆菌 CCFM8610 对 IBS-D 的缓解作用可能与肠道中丁酸生产种属的相对丰度上升有关。

© 2021 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. 引言

肠易激综合征 (IBS) 是一种慢性肠道疾病, 通常伴有肠道功能障碍, 但不会引起器质性损害[1]。现阶段,

全球中超过 10% 的人口患有 IBS [2]。由于高患病率和治愈方法的缺失, IBS 给世界各国的医疗系统带来了巨大的负担。根据患者粪便的性状特点 (硬块、松散、水样粪便), IBS 被可分为四种亚型: 腹泻型 IBS

* Corresponding author.

E-mail address: zhaiqixiao@sina.com (Q. Zhai).

(IBS-D)、便秘型IBS、混合型IBS及不定型IBS [3]。IBS-D即是IBS的亚型之一，其主要症状包括严重的腹泻、反复的腹痛和腹胀，以及排便习惯的改变[4]。由于IBS-D的临床症状比其他亚型更为迫切，因此IBS-D患者在饮食和日常活动方面受到了更多的限制[5]。此外，在IBS患者中，患有IBS-D的患者通常必须接受至少10倍于其他患者的检查才能确诊，这导致了极高的诊断成本[6]。随着社会的发展，生活环境污染和精神压力正在急剧增加[7,8]。这种环境及心理的变化进一步导致了IBS-D的发病与流行。而基于此，IBS-D患者无疑承受着更大的经济及精神压力。因此，尽快找到IBS-D的有效治疗方法是至关重要的。

多项研究表明，IBS-D患者的多个生理特征发生了显著变化。IBS-D患者结肠中环氧化酶-2和前列腺素E2的蛋白质表达水平显著高于健康对照组，这可能导致患者的内脏超敏症状并加重肠道功能的紊乱[9]。IBS-D患者肠道中肥大细胞的激活导致了大量的类胰蛋白酶和组胺的释放，这加剧了闭合蛋白（occludin）的降解并增加了肠道通透性[10]。此外，IBS-D患者还显示出了严重的肠道菌群失调症状。在IBS-D患者的肠道菌群中，厚壁菌门（Firmicutes）以及变形菌门（Proteobacteria）的相对丰度显著上升，拟杆菌门（Bacteroidetes）的相对丰度显著下降[11]。在肠道菌群属水平上，诸如双歧杆菌属（*Bifidobacterium*）、*Faecalibacterium*和瘤胃球菌属（*Ruminococcus*）等多个属的相对丰度也显示出了显著变化[12]。

益生菌指可以定殖在人体内发挥有益作用的活微生物，它们普遍被认为是安全可食用的，并常被用于缓解各种疾病[13]。多种动物模型已证明，摄入益生菌可以有效改善肠道菌群失调、调节免疫反应、增强肠屏障功能并抑制内脏超敏症状[14-17]。而在临床试验中，已发现部分益生菌具有缓解IBS的功效。丁酸梭菌（*Clostridium butyricum*）的摄入可以显著降低IBS患者的排便频率并改善其脂肪酸代谢[18]。两歧双歧杆菌（*Bifidobacterium bifidum*）的干预可以显著减轻腹痛并降低IBS的严重程度[19]。长双歧杆菌（*Bifidobacterium longum*）降低了IBS患者的抑郁症状并改善了患者的生活质量[20]。嗜酸乳杆菌（*Lactobacillus acidophilus*）则减轻了IBS患者的腹胀症状，使其排便习惯趋于正常[21]。这些动物实验及临床试验的证据表明益生菌作为IBS的潜在治疗剂正在受到关注。

植物乳杆菌（*Lactobacillus plantarum*）CCFM8610是一株分离自发酵蔬菜的益生菌菌株，具有卓越的生理特性。体外实验表明，植物乳杆菌CCFM8610的模拟胃肠道环境存活率可达 $83.18\% \pm 0.34\%$ ，具有菊粉、低聚果糖及低聚半乳糖的发酵能力，具有较高的共轭亚油酸转化能力（ $57.39\% \pm 1.08\%$ ），并具有较短的世代时间 [$(124.2 \pm 4.33) \text{ min}$] [22]。与其他乳杆菌菌株相比，植物乳杆菌CCFM8610在这些生理特性上具有明显优势。而这些优良的生理特性有助于该菌株在宿主体内发挥益生作用。在动物实验中，植物乳杆菌CCFM8610已被证明可以显著增加多种肠道紧密连接蛋白的表达，从而恢复肠屏障功能[23]。在结肠炎模型中，植物乳杆菌CCFM8610可降低结肠中白细胞介素-6（IL-6）、肿瘤坏死因子- α （TNF- α ）等促炎细胞因子水平，并抑制核因子 κ B（nuclear factor kappa-B, NF- κ B）信号通路的激活，从而减轻肠道炎症[22]。此外，先前进行的临床试验表明，植物乳杆菌CCFM8610可以显著恢复肠道菌群多样性并改善肠道菌群组成[24]。因此，我们认为该菌株具有缓解IBS-D患者临床症状的潜力。而为了验证这一假设，我们设计了这项随机、双盲、安慰剂对照的先导性临床研究，以探究植物乳杆菌CCFM8610缓解IBS-D的功效。本研究为益生菌缓解IBS-D临床症状提供了新的证据，并为探索益生菌治疗IBS的机制奠定了基础。

2. 材料与方法

2.1. 研究设计和伦理声明

这项研究是在中国江苏省盐城市亭湖区人民医院进行的一项为期12周的随机、双盲、安慰剂对照的先导性临床研究。研究的设计通过了盐城市亭湖区人民医院伦理委员会批准（伦理编号：ET2017015），并在中国临床试验注册中心（Chinese Clinical Trial Registry, ChiCTR）进行了注册[†]（注册编号：ChiCTR1800014886）。本研究按照《赫尔辛基宣言》的指导原则进行，并获得了每个参与者的知情同意。

2.2. 研究对象

本研究的患者招募工作是在2018年2月和3月进行的，招募纳入标准与排除标准参照Niv等[25]的研究进行了制定。年龄大于18岁的，被诊断为IBS-D的患者被允许参加本临床研究。两名消化内科医生根据罗马

[†] <http://www.chictr.org.cn/index.aspx>

III标准对患者进行了IBS-D症状评估。然而，具有以下特性的患者被排除在外：①患有传染病或胃肠道癌症的患者；②具有炎症性肠病症状或其他肠道疾病症状的患者；③在过去一个月内服用了止泻药或抗生素的患者；④在过去一个月内服用了微生态制剂、膳食补充剂或益生菌的患者；⑤经常饮用酸奶或益生菌饮料的患者；⑥近期饮食习惯发生重大变化的患者；⑦以及已怀孕或希望怀孕的女性。此外，在研究期间，任何未能按时服用益生菌、未能保留粪便样本或未能完成问卷调查的患者都被认为是自动退出本临床研究。

2.3. 研究产品

本研究中使用的产品包括安慰剂产品、低聚糖产品及植物乳杆菌CCFM8610产品。所有产品均为粉末状，外观相同，包装相同（每包2 g）。安慰剂产品的成分是麦芽糊精。低聚糖产品的成分是5%的麦芽糊精与95%的低聚糖（菊粉7.8%、低聚半乳糖15.6%、低聚果糖71.6%）。植物乳杆菌CCFM8610产品的成分是植物乳杆菌CCFM8610 [5%， $>5 \times 10^9$ 个菌落形成单位（CFU）·g⁻¹]与95%的低聚糖（成分等同于低聚糖产品）。所有产品均需4℃下保存。此外，经测定，植物乳杆菌CCFM8610产品中的活菌数在3个月内可保持在 5×10^9 CFU·g⁻¹以上。

2.4. 随机化与干预方法

最初，本研究共招募了96名患者。经体检后，21名患者因不符合研究要求而被排除在外。根据计算机生成的随机数表，剩余75位患者被随机分为了3组，安慰剂组、低聚糖组及植物乳杆菌CCFM8610组，每组25人。

研究总时长为12周，包括了两周的观察期（第1周、第2周）、8周的干预期（第3周到第10周）与两周的后续随访期（第11周、第12周）。观察期的目的是让患者自查IBS-D症状。在干预期中，各组患者都被要求每天服用相应的研究产品（2 g）。在随访观察期间，患者停止服用益生菌，但被要求报告任何不良健康状况。

此外，在整个研究过程中，患者被要求不能服用抗生素；不能服用任何胃肠道药物；不能服用其他益生菌、益生菌饮料、酸奶、微生态制剂或膳食补充剂。此外，患者被要求不能显著改变饮食习惯，也不能参加其他临床试验。

2.5. 问卷调查

参照Niv等[25]的研究，本研究采用了IBS症状严重

程度量表（IBS-SSS）和IBS生活质量量表（IBS-QOL）对IBS-D患者的临床症状和生活质量进行调查与评估。在医生的帮助下，患者在第3、7和11周报道了他们的IBS-SSS评分和IBS-QOL评分。

2.6. 粪便样品收集与肠道菌群分析

本研究在第11周安排了一次粪便样本采集。收集患者的新鲜粪便样本并保存在-80℃下。按照FastDNA[®] Spin试剂盒（安倍医疗器械贸易有限公司）的说明书提取粪便DNA。并按照Wang等[26]描述的方法进行肠道菌群的聚合酶链反应（PCR）和测序。采用主成分分析（PCA）和线性判别分析效应大小（linear discriminant analysis effect size, LEFSE）对肠道菌群组成进行分析。

2.7. 统计分析

本研究中符合正态分布的计量数据表示为平均值与标准差（standard deviation, SD）。使用单因素方差分析（analysis of variance, ANOVA）分析结果，然后使用Tukey多重比较检验确定其统计显著性。

本研究中不符合正态分布的计量数据表示为中位数与四分位距离。使用非参数检验来分析结果。由于IBS-SSS和IBS-QOL问卷数据样本的配对特性，因此使用弗里德曼（Friedman）秩和检验来确定其统计显著性。由于肠道菌群数据样本的独立性，使用克鲁斯卡尔-沃利斯（Kruskal-Wallis）方差分析确定了其统计显著性。

本研究中计数数据直接表示为数字。以卡方检验分析患者年龄、体重等基础数据的统计学显著性。以曼-惠特尼（Mann-Whitney）U检验分析不同组中IBS严重程度的统计学显著性。*p*值小于0.05被认为具有统计学意义。

3. 结果

3.1. 患者和基线特征

63名患者最终完成了这项研究。12名患者因为失去联络，被排除（图1）。每组患者基线的数据如表1所示。各组患者的基线特征没有显著差异。

3.2. 植物乳杆菌 CCFM8610 对 IBS-D 临床症状及严重程度的影响

经过8周的干预期后，各组患者的IBS-SSS问卷评分发生了显著变化（表2）。服用安慰剂的患者报道他们

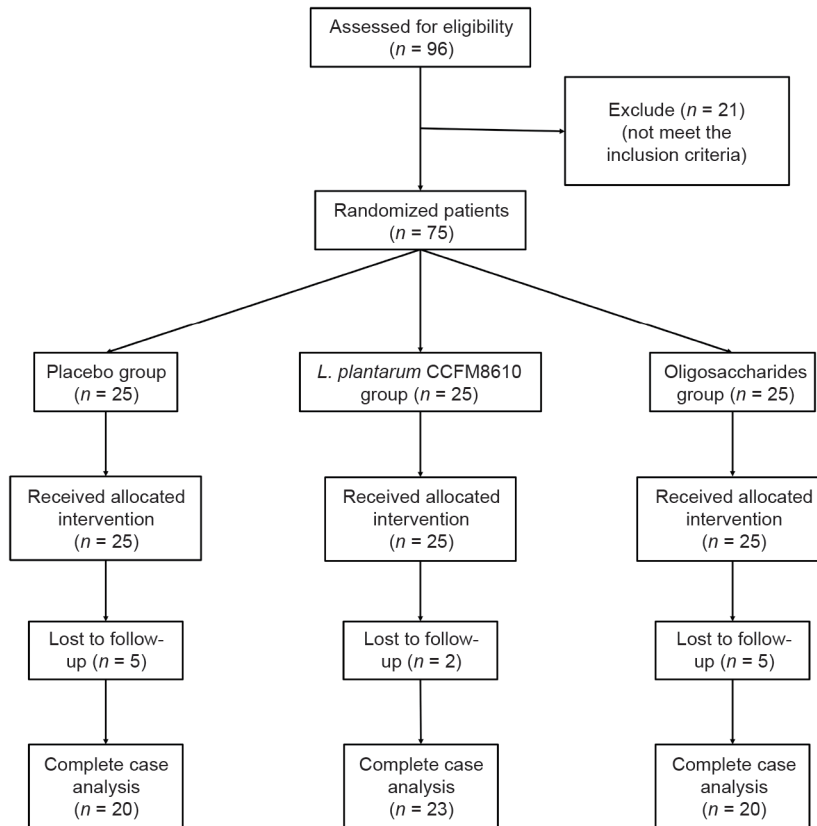


图1. 临床试验流程图。

表1 各组患者基线特征

Characteristics	Placebo group (n = 20)	Oligosaccharides group (n = 20)	<i>L. plantarum</i> CCFM8610 group (n = 23)	<i>p</i> -value
Age (years)	48.95 ± 9.38	51.10 ± 15.63	48.57 ± 11.14	0.783
Age range (years)	32–67	27–79	29–71	
Height (cm)	167.10 ± 9.11	166.25 ± 10.05	165.82 ± 7.54	0.889
Weight (kg)	70.91 ± 13.09	69.44 ± 15.53	69.34 ± 13.28	0.930
BMI (kg·m ⁻²)	25.42 ± 4.50	24.90 ± 4.08	25.14 ± 4.14	0.919
Female/male	11/9	9/11	9/14	0.907
Smokers, <i>n</i>	5	2	4	0.458
Drinkers, <i>n</i>	6	6	5	0.777

Age, height, weight, and BMI data were analyzed by one-way ANOVA; gender, smoking, and drinking data were analyzed by the chi-square test.

的排便满意度有显著改善 ($p < 0.05$)。然而这种改善只发生在干预期的前4周, 后4周并未发现显著变化。同时, 在8周的干预期内, 本组患者的IBS-SSS总分无明显变化 ($p > 0.05$)。植物乳杆菌CCFM8610组患者在摄入植物乳杆菌CCFM8610后, 腹胀症状、排便满意度和生活困扰评分均有改善, 且在整个干预期内均有体现 ($p < 0.05$)。此外, 植物乳杆菌CCFM8610组患者的IBS-SSS总分呈现明显的下降 ($p < 0.05$)。低聚糖组患者的症状改善不明显 ($p > 0.05$)。

经过对IBS-D严重程度的分析后, 结果发现, 在干预8周后, 安慰剂组中具有严重IBS症状的患者数量增加了 (表2)。但这种变化并未达到统计学意义上的改变 ($p > 0.05$)。同样地, 低聚糖组中, 各个严重程度的IBS-D患者数量也未出现显著改变 ($p > 0.05$)。然而, 经过8周的干预后, 许多服用植物乳杆菌CCFM8610的中度IBS-D症状患者报告说他们的症状转化为轻度症状。此外, 在植物乳杆菌CCFM8610组中, 所有严重症状的患者均出现了症状的改善。这说明植物乳杆菌

表2 患者在第3、7、11周时的IBS-SSS问卷得分与IBS-QOL得分

Characteristic	Placebo group (<i>n</i> = 20)				Oligosaccharides group (<i>n</i> = 20)				<i>L. plantarum</i> CCFM8610 group (<i>n</i> = 23)			
	Week 3	Week 7	Week 11	<i>p</i> -value	Week 3	Week 7	Week 11	<i>P</i> -value	Week 3	Week 7	Week 11	<i>p</i> -value
	IBS-SSS											
Total score	200(80)	190 (70)	180 (55)	0.061	180 (105)	180 (100)	160 (75)	0.249	160 (80)	160 (40)	140 (60)	0.013
Abdominal pain	40 (20)	30 (20)	30 (20)	0.905	20 (20)	20 (20)	20 (20)	0.405	20 (20)	20 (20)	20 (20)	0.559
Abdominal pain frequency	20 (20)	30 (20)	40 (20)	0.497	40 (20)	40 (40)	40 (35)	0.581	20 (20)	40 (20)	20 (20)	0.646
Bloating	40 (20)	40 (0)	40 (20)	0.313	20 (20)	20 (20)	20 (20)	0.552	40 (20)	40 (20)	20 (0)	0.012
Bowel habit satisfaction	60 (20)	40 (0)	40 (0)	0.01	40 (35)	40 (20)	40 (20)	0.249	40 (20)	40 (20)	20 (20)	0.001
Life interference	40 (15)	40 (20)	40 (35)	0.138	40 (20)	40 (20)	40 (20)	0.472	40 (0)	40 (0)	20 (20)	0.003
Number of severe symptoms, <i>n</i>	1	—	3	0.539	1	—	0	0.369	2	—	0	0.001
Number of moderate symptoms, <i>n</i>	10	—	9	—	10	—	8	—	9	—	5	—
Number of mild symptoms, <i>n</i>	9	—	8	—	9	—	12	—	12	—	18	—
IBS-QOL												
IBS-QOL total score	9.41 (6.76)	12.94 (9.56)	8.23 (7.06)	0.058	5.00 (8.38)	8.82 (14.56)	4.71 (12.06)	0.004	7.65 (11.76)	5.88 (10.00)	4.12 (9.41)	0.008
Emotion	7.50 (7.50)	12.50 (14.38)	6.25 (6.88)	0.066	1.25 (6.88)	7.50 (17.50)	2.50 (7.50)	0.027	5.00 (12.50)	5.00 (10.00)	2.50 (5.00)	0.034
Activity interference	11.43 (19.29)	14.29 (15.00)	11.43 (13.57)	0.232	5.71 (12.86)	11.43 (19.29)	7.14 (14.29)	0.009	8.57 (14.29)	5.71 (14.29)	5.71 (17.14)	0.229
Body image	7.50 (16.25)	15.00 (20.00)	10.00 (13.75)	0.051	5.00 (23.75)	10.00 (10.00)	5.00 (20.00)	0.344	5.00 (20.00)	5.00 (10.00)	0 (15.00)	0.169
Health worry	16.67 (20.00)	13.33 (18.33)	6.67 (6.67)	0.047	13.33 (23.33)	13.33 (13.33)	6.67 (13.33)	0.006	6.67 (20.00)	6.67 (6.67)	6.67 (13.33)	0.064
Food avoidance	13.33 (6.67)	23.33 (20.00)	20.00 (6.67)	0.331	6.67 (20.00)	16.67 (13.33)	6.67 (20)	0.002	13.33 (13.33)	13.33 (13.33)	6.67 (13.33)	0.014
Social reaction	2.50 (5.00)	5.00 (13.75)	0 (5.00)	0.096	0 (10.00)	0 (13.75)	0 (5.00)	0.298	5.00 (15.00)	0 (15.00)	0 (5.00)	0.043
Sexual life	5 (20.00)	0 (20.00)	0 (10.00)	0.931	0 (17.50)	0 (10.00)	0 (10.00)	0.542	0 (10.00)	0 (0)	0 (0)	0.108
Interpersonal relationship	0 (6.67)	10.00 (13.33)	0 (6.67)	0.088	0 (13.33)	0 (11.66)	0 (5.00)	0.030	6.67 (13.33)	0 (13.33)	0 (13.33)	0.212

The severity of IBS was determined by the IBS-SSS total score. Mild symptoms: 75–175 points; moderate symptoms: 176–300 points; severe symptoms ≥ 300 points. The number in parentheses indicated the interquartile range of the data.

CCFM8610可以有效缓解IBS的整体症状 ($p < 0.05$)。

3.3. 植物乳杆菌 CCFM8610 对 IBS-D 患者生活质量的影响

IBS-QOL 调查问卷的评分结果显示, 不同实验产品对患者生活质量的影响具有显著差异 (表2)。安慰剂组的患者报告他们的IBS-QOL总分未出现任何显著变化。然而, 这些患者报告说, 服用安慰剂后他们对自己健康的担忧有所减少 ($p < 0.05$)。同样的结论也出现在了低聚糖组的评分报告中 ($p < 0.05$)。此外, 低聚糖组的患者也报道了他们对人际关系的担忧显著减少 ($p < 0.05$)。然而, 低聚糖组患者的IBS-QOL总分、情绪变化评分、日常活动干预评分和饮食限制评分, 均在第7周时显著增加了 ($p < 0.05$)。在安慰剂组的一些子评分项目中 (情绪变化评分、个人形象担忧评分及人际关系担忧评分等) 也出现了类似的结果, 但这些变化在统计学上并不显著。这些上升的项目评分, 均在第11周时评分恢复到基线水平。这表明在干预期间IBS-D症状对患者的生活质量具有显著影响。与安慰剂和低聚糖相比, 植物乳杆菌CCFM8610显著提高了IBS-D患者的生活质量。植物乳杆菌CCFM8610组患者在情绪控制、饮食限制、社会印象担忧方面均有显著改善 ($p < 0.05$)。

3.4. 植物乳杆菌 CCFM8610 对 IBS-D 患者肠道菌群多样性和组成的影响

植物乳杆菌CCFM8610组患者的Simpson指数和Shannon指数明显高于安慰剂组 [图2 (a)、(b)]。这表明, 植物乳杆菌CCFM8610的干预确实增加了肠道菌群的多样性。

然而，低聚糖的效果不明显。

此外，各组肠道菌群属水平上的相对丰度是具有显著差异的[图2 (c)]。安慰剂组中普氏菌属 (*Prevotella*) 的相对丰度是所有组中最高的。然而，益生菌或低聚糖的摄入显著改变了患者的肠道菌群。与其他组相比，低聚糖组患者肠道中数个属的相对丰度有显著增加。植物乳杆菌CCFM8610组患者的双歧杆菌属等多个属的相对丰度也提高了。PCA分析结果进一步表明，添加低聚糖或益生菌可以改变肠道菌群的组成[图3 (a)]。然而，肠道菌群的变化在不同组之间具有差异。与安慰剂组相比，益生菌和低聚糖的摄入显著增加了拟杆菌属 (*Bacteroides*) 的相对丰度，降低了普氏菌属的相对丰度[图3(b)~(d)]。此外，在植物乳杆菌CCFM8610组患者肠道中，瘤胃球菌属和 *Parabacteroides* 的相对丰度有显著增加。同时，一些丁酸生产种属的相对丰度也发生了显著变化[图3 (c)]。

3.5. 植物乳杆菌 CCFM8610 对 IBS-D 患者丁酸生产种属相对丰度及腹胀相关种属相对丰度的影响

厌氧棒状菌属 (*Anaerostipes*)、*Anaerotruncus*、双

歧杆菌属、丁酸弧菌属 (*Butyricimonas*) 及 *Odoribacter* 是植物乳杆菌CCFM8610干预后，相对丰度发生显著变化的丁酸生产种属[图4 (a)~(e)]。与安慰剂组相比，植物乳杆菌CCFM8610显著提高了这些丁酸生产种属的相对丰度 ($p < 0.05$)。甲烷短杆菌属 (*Methanobrevibacter*) 的相对丰度与肠道中气体的生产有关。口服植物乳杆菌CCFM8610可显著降低其相对丰度[图4 (f); $p < 0.05$]。低聚糖干预可以调节某些种属的相对丰度，但与安慰剂组没有显著差异 ($p > 0.05$)。

4. 讨论

本研究旨在探究前期筛选出的一株具有多种保健功能的益生菌——植物乳杆菌CCFM8610对IBS-D的缓解作用。为此，我们设计了这项随机、双盲、安慰剂对照的先导性临床试验，并分析了植物乳杆菌CCFM8610缓解IBS-D临床症状、提高患者生活质量、缓解患者肠道菌群失调的能力。

在本临床研究中，患者被随机分成三组，并给予了三种研究产品。其中，在植物乳杆菌CCFM8610产品

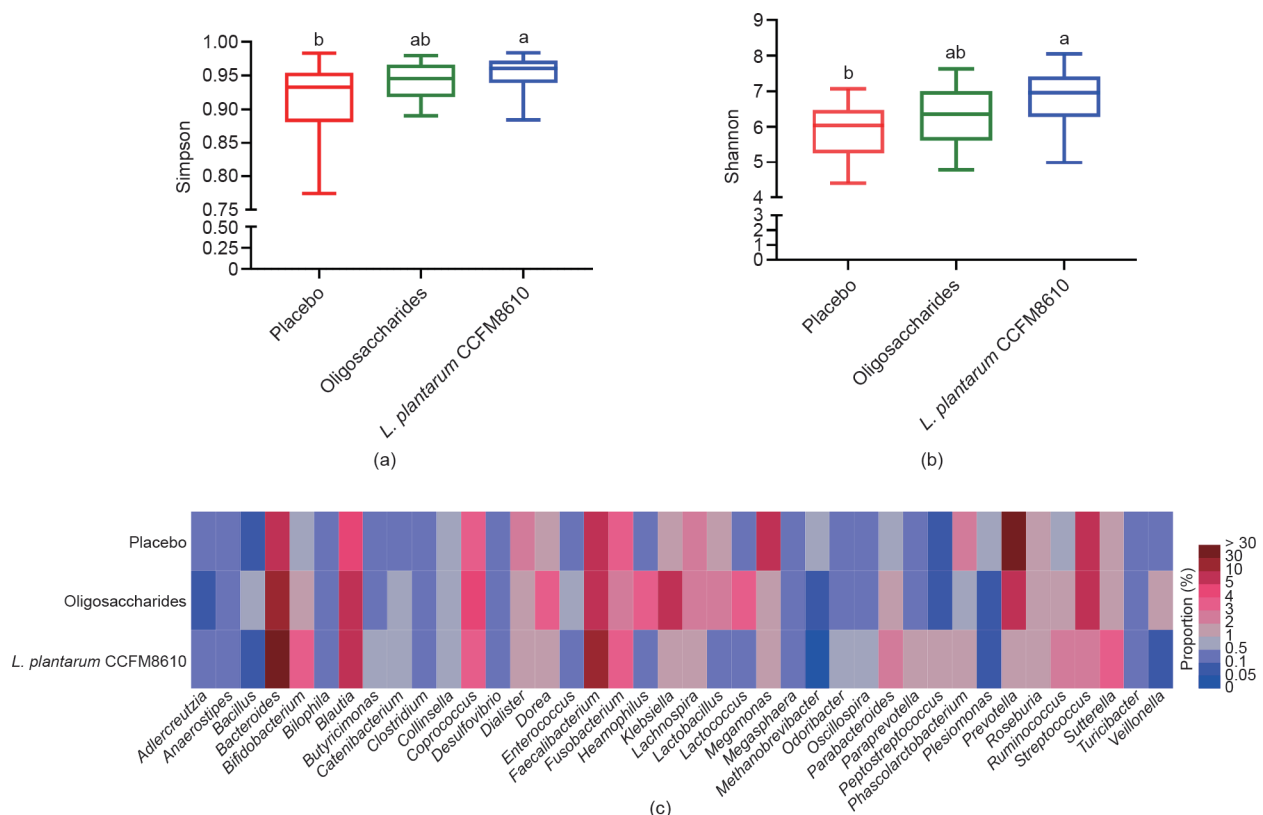


图2. 不同组别患者肠道菌群 α 多样性与主要种属的相对丰度。(a) Simpson指数; (b) Shannon指数; (c) 各组中相对丰度大于0.001的属。所有数据均采用单因素方差分析和Tukey多重比较检验。字母a和b表示具有显著性差异 ($p < 0.05$)。

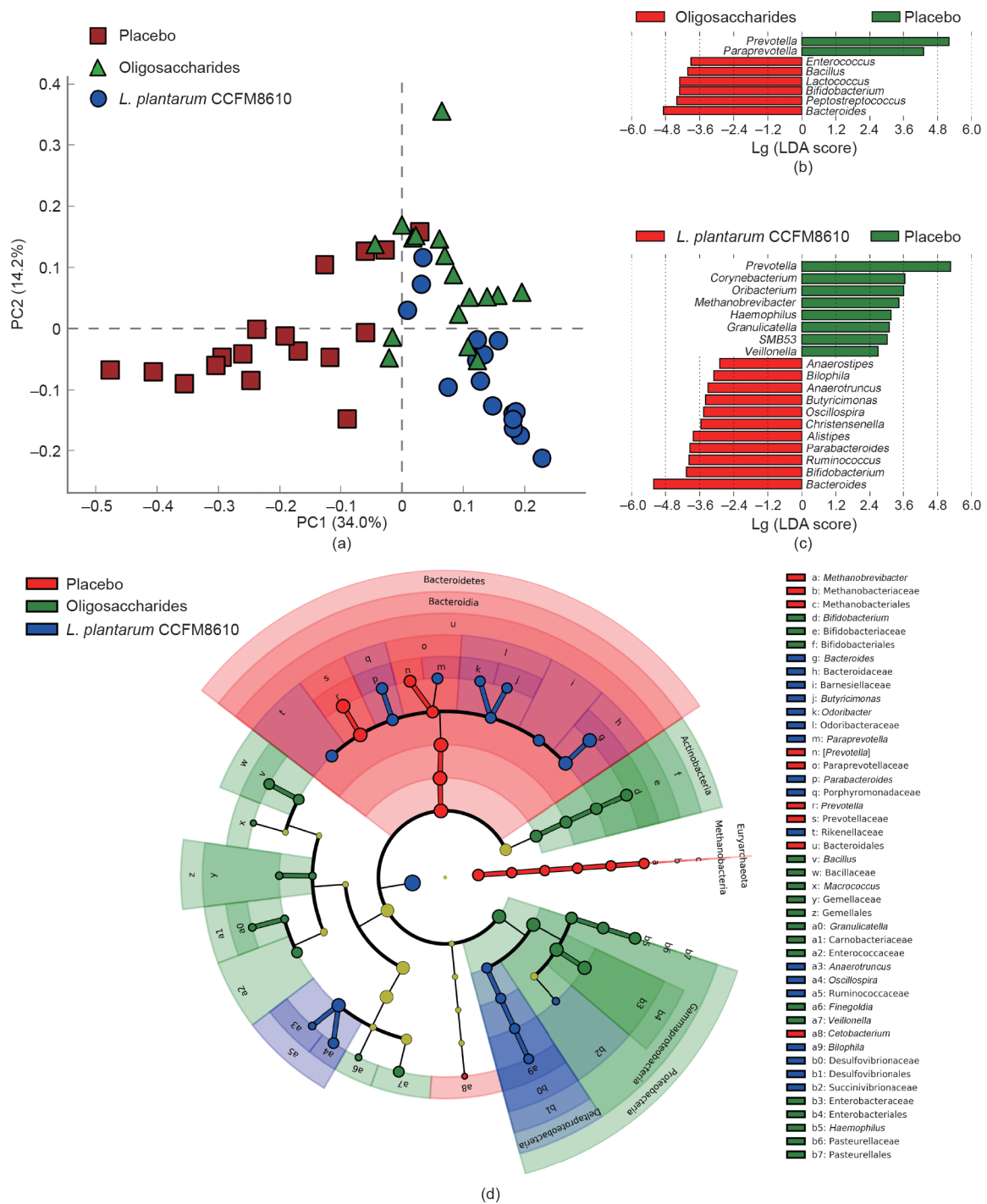


图3. 不同组患者肠道菌群组成的主成分分析和LEfSe分析。(a) 肠道菌群的主成分分析；(b) 安慰剂组和低聚糖组属水平上的LDA（最小判别分析）得分；(c) 安慰剂组和植物乳杆菌CCFM8610组属水平上的LDA得分；(d) 分类分支图。

中，添加了低聚糖作为佐剂。这是由于部分研究报道低聚糖可以调节免疫反应，并促进肠道中有益微生物的增殖[27,28]。然而，低聚糖是否具有缓解IBS-D的功效是一直存在争议的[29,30]。所以，我们设立了一个单独分组以探讨低聚糖对IBS-D的影响。结果表明，低聚糖对IBS-D不存在显著的缓解作用。该实验结果说明植物乳杆菌CCFM8610产品对IBS-D的缓解作用，均来自于益

生植物乳杆菌CCFM8610。

IBS-D是IBS的亚型之一，其严重程度受患者的生理状态、心理状态、饮食习惯和环境因素的影响[4]。与IBS的其他亚型相比，IBS-D患者通常会遭受频繁的腹痛与腹胀、不适的排便习惯、严重的活动障碍、严苛的饮食限制和高昂的治疗费用[31]。此外，IBS-D的临床症状也严重影响了患者的工作效率[32]。由于这些不

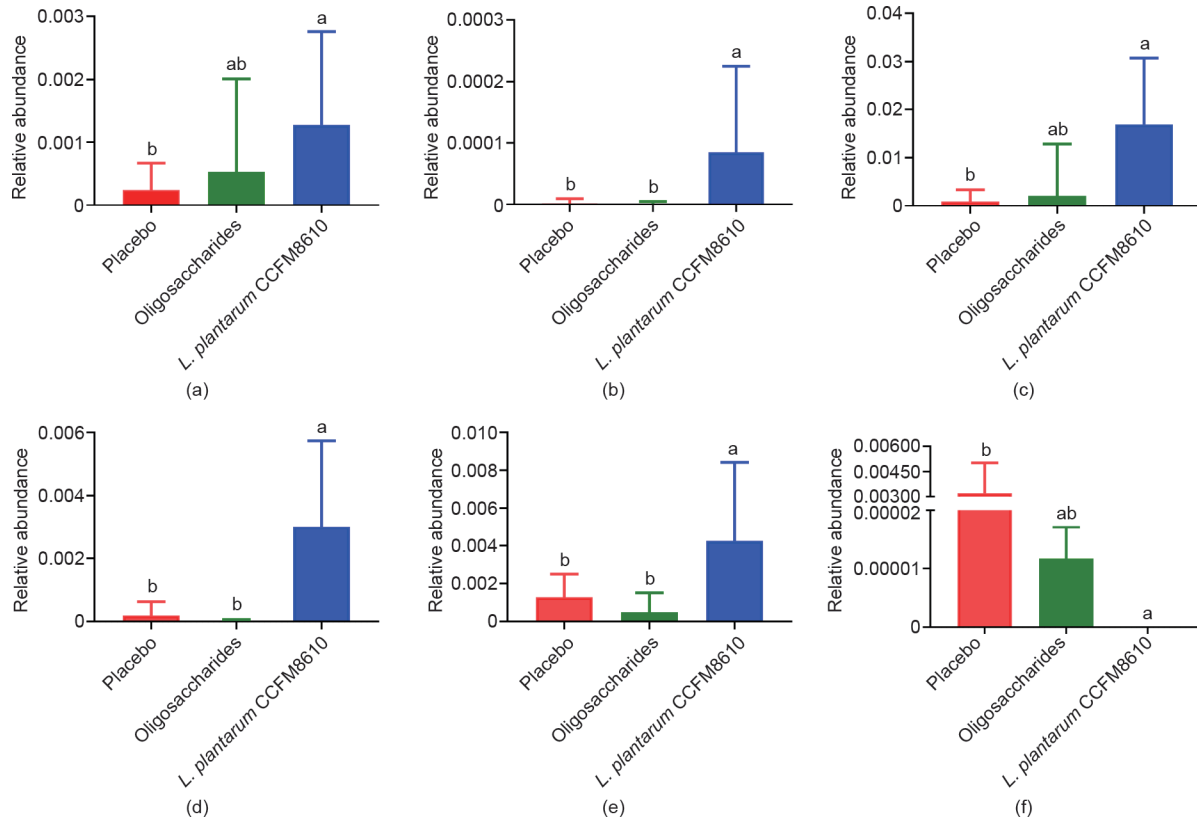


图4. 不同组患者肠道中丁酸生产种属及腹胀相关种属的相对丰度。(a) 厌氧棒状菌属 (*Anaerostipes*); (b) *Anaerotruncus*; (c) 双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*); (d) 丁酸弧菌属 (*Butyricimonas*); (e) *Odoribacter*; (f) 甲烷短杆菌属 (*Methanobrevibacter*)。所有数据均采用Kruskal-Wallis方差分析, 以中位数±四分位范围表示。字母a和b表示具有显著性差异 ($p < 0.05$)。

便, IBS-D患者的生活质量普遍也较低[5]。因此, 为了探讨植物乳杆菌CCFM8610对IBS-D患者临床症状及生活质量的改善作用, 我们在研究过程中设置了两份问卷调查, 以调查及评价患者的真实感受。

IBS-SSS量表是IBS临床研究中常用的调查问卷之一, 用于确定患者IBS的严重程度。分析IBS-SSS量表数据后, 我们发现在本研究实行的三种干预策略中, 只有植物乳杆菌CCFM8610降低了患者的IBS-SSS总分(表2)。该结果表明, 植物乳杆菌CCFM8610可以缓解患者IBS-D的临床症状。进一步对IBS-SSS量表的各个评分项目进行统计后发现, 植物乳杆菌CCFM8610可以显著缓解患者的腹胀症状, 提高患者的排便习惯满意度。腹胀是IBS-D的主要临床症状之一, 通常与患者内脏超敏有关[33]。对于IBS-D患者来说, 内脏超敏的特征表现为肠道痛觉的增强, 这本质上是一种外周和中枢神经系统的紊乱[34]。这种神经系统的紊乱降低了胃肠道刺激阈值, 因此IBS-D患者经常遭受腹痛、腹胀症状的困扰[33]。在动物模型中, 乳杆菌 (*Lactobacillus*) 已被证明可通过提高疼痛阈值、降低结肠平滑肌的收缩反应、抑

制血清皮质酮和脊髓神经递质的浓度、调节下丘脑-垂体-肾上腺轴来抑制内脏超敏反应[35,36]。我们的实验结果与这些结论具有相似性。因此, 我们推测植物乳杆菌CCFM8610株可能具有类似的机制, 从而减轻了患者的IBS-D临床症状。

除了内脏超敏外, IBS-D患者还具有典型的乳糖、果糖吸收不良症状。这阻碍了碳水化合物在小肠的充分吸收。这些未被吸收的碳水化合物在结肠中被微生物发酵, 产生了大量气体, 进而导致了严重的腹胀症状[37]。植物乳杆菌通常在结肠中发挥益生作用。由于植物乳杆菌极强的黏附性和糖类发酵能力, 饮食中未被发酵的糖类可以在结肠中被植物乳杆菌完全发酵, 从而减少产气量[38,39]。因此, 我们认为, 植物乳杆菌CCFM8610除了抑制内脏超敏反应外, 还可能通过减少结肠中气体的产生来抑制腹胀症状。

除去对腹胀症状的效果, 我们发现, 植物乳杆菌CCFM8610和安慰剂治疗都能提高患者的排便满意度。然而, 安慰剂的效果只出现在干预期的前四周, 而植物乳杆菌CCFM8610的效果在整个干预期内持续改善。在

先前的研究中,植物乳杆菌CCFM8610被证明可以改善肠蠕动[40]。而安慰剂(麦芽糊精)未曾有类似效果的报道。因此,有理由推测,安慰剂组患者排便的改善可能是由于安慰剂效应导致的[41]。此外,植物乳杆菌CCFM8610还显著减少了重度和中度症状IBS-D患者数量,但安慰剂组出现各症状的患者数量没有明显变化(表2)。

对于患者的生活质量,我们使用了IBS-QOL量表进行了量化评估。在分析IBS-QOL量表的结果后,我们发现,植物乳杆菌CCFM8610干预显著改善了患者的IBS-QOL评分、饮食限制、社会印象担忧与情绪波动(表2)。部分饮食成分会导致IBS-D患者的腹痛和腹胀,因此这些患者往往在饮食上具有诸多限制[4]。此外,IBS-D急迫的临床症状经常使患者避免社交活动和团体旅行,因此这些患者通常会担心自己的社会印象[32,42]。这种饮食和社交活动的不便进一步导致了IBS-D患者的情绪变化。肠道与大脑可以通过脑肠轴进行双向交流[43]。肠道刺激和不适可导致患者情绪变化,然而这些情绪变化也可通过迷走神经引起肠道内脏超敏症状与肠道应激反应[44]。患者的焦虑、抑郁、强迫等情绪也可能加重IBS-D的症状,降低生活质量[44,45]。Liu等[46]关于焦虑、抑郁临床试验的荟萃分析表明,乳杆菌具有改善焦虑和抑郁情绪的作用,而安慰剂与低聚糖则没有。这个证据支持了植物乳杆菌CCFM8610调节IBS-D患者情绪的作用。此外,由于植物乳杆菌CCFM8610良好的碳水化合物发酵特性,患者的腹胀症状得以改善,继而改善了患者的饮食限制。因此,我们认为植物乳杆菌CCFM8610具有改善患者的饮食限制与情绪变化的功效,从而提高了IBS-D患者的生活质量。

肠道菌群失调是IBS-D的重要特征之一[47]。与健康人相比,IBS-D患者的肠道菌群组成发生了显著变化,肠道菌群多样性显著降低[48]。目前有研究表明,肠道菌群失调可能是IBS-D的病因之一[49]。因此,为了探究本研究干预策略对IBS-D患者肠道菌群的影响,我们对患者粪便菌群进行了测序,并分析了其多样性与属水平差异。结果表明,摄入植物乳杆菌CCFM8610显著增加了肠道菌群多样性,这为益生菌缓解肠道菌群失调提供了初步证据(图2)。在进一步分析了各组肠道菌群属水平上的物种差异后,我们发现在安慰剂组中拟杆菌属的相对丰度较低,而普氏菌属的相对丰度较高。低聚糖或植物乳杆菌CCFM8610的干预可以提高拟杆菌属

的相对丰度,降低普氏菌属的相对丰度。这种拟杆菌属与普氏菌属相对丰度的变化使IBS-D患者肠道菌群的组成更接近于健康人[50,51]。

此外,除了拟杆菌属与普氏菌属外,我们发现不同组间甲烷短杆菌属的相对丰度存在显著差异。甲烷短杆菌属是一种厌氧细菌,可以利用氢气将二氧化碳还原为甲烷。由于甲烷短杆菌属的产气特性,其相对丰度的增加往往会引起严重的胃肠胀气,加重IBS-D的临床症状[52,53]。我们发现,植物乳杆菌CCFM8610的摄入降低了IBS-D患者肠道中甲烷短杆菌属的相对丰度,这与之前植物乳杆菌CCFM8610显著缓解IBS-D患者腹胀症状的结果是一致的。因此,我们认为植物乳杆菌CCFM8610可以通过改善肠道菌群紊乱来缓解IBS-D的临床症状。

与其他已报道的具有缓解IBS-D功效的益生菌相比,我们发现植物乳杆菌CCFM8610显著提高了丁酸生产种属的相对丰度。在属水平上,厌氧棒状菌属、*Anaerotruncus*、双歧杆菌属、丁酸弧菌属及*Odoribacter*等一系列丁酸生产种属在植物乳杆菌CCFM8610组患者中具有较高的相对丰度水平。丁酸是一种短链脂肪酸,具有多种促进健康的作用。在肠道内,丁酸可以减少NF- κ B的信号通路表达,抑制巨噬细胞释放TNF- α ,激活肠上皮细胞的缺氧诱导因子-1(HIF-1),从而维持肠屏障的完整性,减轻肠道的炎症反应、急性神经性疼痛和腹胀[54-56]。此外,丁酸也是一种重要的组蛋白乙酰酶抑制剂,可以促进组蛋白乙酰化从而影响大脑功能,并抑制抑郁情绪[57,58]。有研究表明,IBS-D患者肠道中丁酸生产种属的相对丰度显著低于健康人[59]。因此,肠道内丁酸浓度的升高可能实现对IBS-D患者临床症状和情绪的双重调节。肠道菌群发酵肠道中碳水化合物是肠道中丁酸的主要来源[60]。因此,一个可能的机制是摄入植物乳杆菌CCFM8610显著增加了IBS-D患者肠道中丁酸生产种属的相对丰度,从而促进了肠道中丁酸浓度的提高,进而缓解了IBS-D患者的临床症状和负面情绪。植物乳杆菌CCFM8610对IBS-D的改善作用与丁酸生产种属的相对丰度增加有关。同时,研究表明,IBS-D患者较低的肠道菌群多样性与肠道中丁酸生产种属的低相对丰度是有关的[59]。因此,植物乳杆菌CCFM8610对丁酸生产种属相对丰度的提升作用可能有助于IBS-D患者肠道菌群失调的恢复。在先前的益生菌缓解IBS-D的临床研究中,没有发现类似的结果报道。

这表明提高丁酸生产种属的相对丰度可能是植物乳杆菌CCFM8610所特有的功效。我们认为这是植物乳杆菌CCFM8610菌株在缓解IBS-D方面的一个优势。

除上述结果外,植物乳杆菌CCFM8610治疗IBS-D的安全性也明显优于其他方法。IBS的治疗选择每天都在增加,但往往伴随着更复杂的副作用。低FODMAP饮食(限制可发酵的低聚糖、双糖、单糖和多元醇的饮食)仅对部分IBS-D患者有作用,并能引起结肠菌群的巨大变化[61]。化学药物如阿洛司琼和伊卢多啉可缓解腹泻,但也可引起严重的缺血性结肠炎、便秘、胰腺炎和括约肌痉挛[62,63]。一些研究支持使用心理疗法来缓解IBS症状,但其疗效还有待探索[4]。这些结论表明,大多数IBS-D治疗方法仍存在严重缺陷。当然,也有关于益生菌造成不良健康状况的报道。这说明益生菌对某种疾病而言并不是一种绝对安全的饮食成分。因此,我们调查了以往有关益生菌引起的不良健康事件的文献。我们发现,益生菌不良健康事件的报道大多发生在特定人群中,如重症监护病房的患者[64]、免疫缺陷和营养不良的老年人[65]或者结构性心脏病患者等[66]。对于轻症患者,益生菌几乎不会引起任何不良健康事件。本研究的疾病模型IBS-D不涉及器质性损伤,是一种相对温和的疾病。因此,发生不良健康事件的可能性很低。此外,益生菌的不良健康事件大多是由酵母菌(*Saccharomyces*)引起的,乳杆菌引起的不良健康事件极少[67]。而在有关乳杆菌不良健康事件的报道中,鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus*)最为常见,这可能与其菌毛结构和胞外多糖组成有关[68]。目前,还没有关于植物乳杆菌引起的不良健康事件的报道。此外,在本研究进行之前,我们的菌株植物乳杆菌CCFM8610已经进行了数次动物实验[22,23,69]和一次临床研究[24],均未发生不良健康事件。因此,结合本研究中未发生不良健康事件的结果,我们初步得出结论,植物乳杆菌CCFM8610对IBS-D的干预是一种健康的膳食策略。

5. 结论

本研究旨在探究植物乳杆菌CCFM8610对IBS-D的缓解功效。为此,我们设计了这项随机、双盲、安慰剂对照的先导性临床试验。结果表明,植物乳杆菌CCFM8610能明显恢复IBS-D患者肠道菌群组成和多样性、减轻临床症状和负面情绪。此外,我们还发现,植

物乳杆菌CCFM8610对肠道菌群、IBS-D临床症状和生活质量的有益功效可能与增加的丁酸生产种属的相对丰度有关。本研究结果验证了益生菌对IBS-D的缓解作用,并为探讨缓解IBS-D的机制奠定了基础。

致谢

本研究得到了国家自然科学基金面上项目(31871773)、国家自然科学基金重点国际(地区)合作研究项目(31820103010)、“十三五”国家重点研发计划课题(2018YFC1604206)、新疆兵团科技攻关项目课题(2018DB002)、国家一流学科建设项目食品科学与工程(JUFSTR20180102)、英国生物技术与生物科学研究理事会(BBSRC)牛顿基金联合研究中心项目及江苏省食品安全与质量协同创新中心的支持。

Compliance with ethics guidelines

Yang Liu, Xinjie Yu, Leilei Yu, Fengwei Tian, Jianxin Zhao, Hao Zhang, Long Qian, Qun Wang, Zhengqing Xue, Qixiao Zhai, and Wei Chen declare that they have no conflict of interest or financial conflicts to disclose.

References

- [1] Holtmann GJ, Ford AC, Talley NJ. Pathophysiology of irritable bowel syndrome. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2016;1(2):133–46.
- [2] Lovell RM, Ford AC. Global prevalence of and risk factors for irritable bowel syndrome: a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012;10(7):712–21.
- [3] Shin A, Ballou S, Camilleri M, Xu H, Lembo A. Information- and health-care seeking behaviors in patients with irritable bowel syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol*. In press.
- [4] Longo DL, Ford AC, Lacy BE, Talley NJ. Irritable bowel syndrome. *N Engl J Med* 2017;376(26):2566–78.
- [5] Singh P, Staller K, Barshop K, Dai E, Newman J, Yoon S, et al. Patients with irritable bowel syndrome-diarrhea have lower disease-specific quality of life than irritable bowel syndrome-constipation. *World J Gastroenterol* 2015;21(26):8103–9.
- [6] Lin S, Mooney PD, Kurien M, Aziz I, Leeds JS, Sanders DS. Prevalence, investigational pathways and diagnostic outcomes in differing irritable bowel syndrome subtypes. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2014;26(10):1176–80.
- [7] Ding Y. Sustainable management and action in China under the increasing risks of global climate change. *Engineering* 2018;4(3):301–5.
- [8] Huang Y, Wang Y, Wang H, Liu Z, Yu X, Yan J, et al. Prevalence of mental disorders in China: a cross-sectional epidemiological study. *Lancet Psychiatry* 2019;6(3):211–24.
- [9] Grabauskas G, Wu X, Gao J, Li JY, Turgeon DK, Owyang C. Prostaglandin E₂, produced by mast cells in colon tissues from patients with irritable bowel syndrome, contributes to visceral hypersensitivity in mice. *Gastroenterology* 2020;158(8):2195–207.e6.
- [10] Coëffier M, Gloro R, Boukhattala N, Aziz M, Leclaire S, Vandaele N, et al. Increased proteasome-mediated degradation of occludin in irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2010;105(5):1181–8.
- [11] Rajilić-Stojanović M, Biagi E, Heilig HG, Kajander K, Kekkonen RA, Tims S, et al. Global and deep molecular analysis of microbiota signatures in fecal samples from patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2011;141(5):1792–801.
- [12] Liu Y, Zhang L, Wang X, Wang Z, Zhang J, Jiang R, et al. Similar fecal microbiota

- signatures in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome and patients with depression. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016;14 (11):1602–11.
- [13] Özogul F, Hamed I. The importance of lactic acid bacteria for the prevention of bacterial growth and their biogenic amines formation: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2018;58(10):1660–70.
- [14] Natividad JM, Lamas B, Pham HP, Michel ML, Rainteau D, Bridonneau C, et al. *Bifidobacterium wadsworthii* aggravates high fat diet induced metabolic dysfunctions in mice. *Nat Commun* 2018;9(1):1–15.
- [15] Kuhn KA, Schulz HM, Regner EH, Severs EL, Hendrickson JD, Mehta G, et al. Bacteroidales recruit IL-6-producing intraepithelial lymphocytes in the colon to promote barrier integrity. *Mucosal Immunol* 2018;11(2):357–68.
- [16] Fukui H, Oshima T, Tanaka Y, Oikawa Y, Makizaki Y, Ohno H, et al. Effect of probiotic *Bifidobacterium bifidum* G9-1 on the relationship between gut microbiota profile and stress sensitivity in maternally separated rats. *Sci Rep* 2018;8(1):12384.
- [17] Lu YM, Xie JJ, Peng CG, Wang BH, Wang KC, Li LJ. Enhancing clinical efficacy through the gut microbiota: a new field of traditional Chinese medicine. *Engineering* 2019;5(1):40–9.
- [18] Sun YY, Li M, Li YY, Li LX, Zhai WZ, Wang P, et al. The effect of *Clostridium butyricum* on symptoms and fecal microbiota in diarrhea-dominant irritable bowel syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Sci Rep* 2018;8(1):2964.
- [19] Andresen V, Gschossman J, Layer P. Heat-inactivated *Bifidobacterium bifidum* MIMBb75 (SYN-HI-001) in the treatment of irritable bowel syndrome: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2020;5(7):658–66.
- [20] Pinto-Sanchez MI, Hall GB, Ghajar K, Nardelli A, Bolino C, Lau JT, et al. Probiotic *Bifidobacterium longum* NCC3001 reduces depression scores and alters brain activity: a pilot study in patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2017;153(2):448–59.
- [21] Martoni CJ, Srivastava S, Leyer GJ. *Lactobacillus acidophilus* DDS-1 and *Bifidobacterium lactis* UABla-12 improve abdominal pain severity and symptomatology in irritable bowel syndrome: randomized controlled trial. *Nutrients* 2020;12(2):363.
- [22] Liu Y, Sheng Y, Pan Q, Xue Y, Yu L, Tian F, et al. Identification of the key physiological characteristics of *Lactobacillus plantarum* strains for ulcerative colitis alleviation. *Food Funct* 2020;11(2):1279–91.
- [23] Zhai Q, Gong X, Wang C, Zhao J, Zhang H, Tian F, et al. Food-borne patulin toxicity is related to gut barrier disruption and can be prevented by docosahexaenoic acid and probiotic supplementation. *Food Funct* 2019;10(3):1330–9.
- [24] Fang Z, Lu W, Zhao J, Zhang H, Qian L, Wang Q, et al. Probiotics modulate the gut microbiota composition and immune responses in patients with atopic dermatitis: a pilot study. *Eur J Nutr* 2020;59:2119–30.
- [25] Niv E, Naftali T, Hallak R, Vaisman N. The efficacy of *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 in the treatment of patients with irritable bowel syndrome—a double blind, placebo-controlled, randomized study. *Clin Nutr* 2005;24(6):925–31.
- [26] Wang L, Pan M, Li D, Yin Y, Jiang T, Fang S, et al. Metagenomic insights into the effects of oligosaccharides on the microbial composition of cecal contents in constipated mice. *J Funct Foods* 2017;38:486–96.
- [27] Wu RY, Määttänen P, Napper S, Scruten E, Li B, Koike Y, et al. Non-digestible oligosaccharides directly regulate host kinome to modulate host inflammatory responses without alterations in the gut microbiota. *Microbiome* 2017;5(1):135.
- [28] Liu Y, Gibson GR, Walton GE. An *in vitro* approach to study effects of prebiotics and probiotics on the faecal microbiota and selected immune parameters relevant to the elderly. *PLoS ONE* 2016;11(9):e0162604.
- [29] Silk D, Davis A, Vulevic J, Tzortzis G, Gibson G. Clinical trial: the effects of a trans-galactooligosaccharide prebiotic on faecal microbiota and symptoms in irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;29(5):508–18.
- [30] Wilson B, Rossi M, Dimidi E, Whelan K. Prebiotics in irritable bowel syndrome and other functional bowel disorders in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2019;109(4):1098–111.
- [31] Buono JL, Carson RT, Flores NM. Health-related quality of life, work productivity, and indirect costs among patients with irritable bowel syndrome with diarrhea. *Health Qual Life Outcomes* 2017;15(1):35.
- [32] Brenner DM, Sayuk GS. Current US Food and Drug Administration-approved pharmacologic therapies for the treatment of irritable bowel syndrome with diarrhea. *Adv Ther* 2020;37(1):83–96.
- [33] Farzaei MH, Bahramsoltani R, Abdollahi M, Rahimi R. The role of visceral hypersensitivity in irritable bowel syndrome: pharmacological targets and novel treatments. *J Neurogastroenterol* 2016;22(4):558–74.
- [34] Zielin´ska A, Sałaga M, Włodarczyk M, Fichna J. Chronic abdominal pain in irritable bowel syndrome—current and future therapies. *Expert Rev Clin Pharmacol* 2018;11(7):729–39.
- [35] Wang H, Gong J, Wang W, Long Y, Fu X, Fu Y, et al. Are there any different effects of *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and *Streptococcus* on intestinal sensation, barrier function and intestinal immunity in PI-IBS mouse model? *PLoS ONE* 2014;9(3):e90153.
- [36] Liu YW, Wang YP, Yen HF, Liu PY, Tzeng WJ, Tsai CF, et al. *Lactobacillus plantarum* PS128 ameliorated visceral hypersensitivity in rats through the gut–brain axis. *Probiotics Antimicro* 2020;12(3):980–93.
- [37] Goebel-Stengel M, Stengel A, Schmidtman M, Van Der Voort I, Kobelt P, Mönnikes H. Unclear abdominal discomfort: pivotal role of carbohydrate malabsorption. *J Neurogastroenterol* 2014;20(2):228–35.
- [38] Zhang S, Xu Z, Qin L, Kong J. Low-sugar yogurt making by the co-cultivation of *Lactobacillus plantarum* WCF51 with yogurt starter cultures. *J Dairy Sci* 2020;103(4):3045–54.
- [39] Dimitrovski D, Velickova E, Dimitrovska M, Langerholc T, Winkelhausen E. Synbiotic functional drink from Jerusalem artichoke juice fermented by probiotic *Lactobacillus plantarum* PCS26. *J Food Sci Technol* 2016;53(1):766–74.
- [40] Zhai Q, Wang G, Zhao J, Liu X, Tian F, Zhang H, et al. Protective effects of *Lactobacillus plantarum* CCFM8610 against acute cadmium toxicity in mice. *Appl Environ Microbiol* 2013;79(5):1508–15.
- [41] Tavel ME. The placebo effect: the good, the bad, and the ugly. *Am J Med* 2014;127(6):484–8.
- [42] Ballou S, McMahon C, Lee HN, Katon J, Shin A, Rangan V, et al. Effects of irritable bowel syndrome on daily activities vary among subtypes based on results from the IBS in America survey. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2019;17(12):2471–8.
- [43] Cryan JF, O'Riordan KJ, Cowan CS, Sandhu KV, Bastiaanssen TF, Boehme M, et al. The microbiota–gut–brain axis. *Physiol Rev* 2019;99(4):1877–2013.
- [44] Fond G, Loundou A, Hamdani N, Boukouaci W, Dargel A, Oliveira J, et al. Anxiety and depression comorbidities in irritable bowel syndrome (IBS): a systematic review and meta-analysis. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2014;264(8):651–60.
- [45] Turna J, Kaplan KG, Patterson B, Bercik P, Anglin R, Soreni N, et al. Higher prevalence of irritable bowel syndrome and greater gastrointestinal symptoms in obsessive-compulsive disorder. *J Psychiatr Res* 2019;118:1–6.
- [46] Liu RT, Walsh RF, Sheehan AE. Prebiotics and probiotics for depression and anxiety: a systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials. *Neurosci Biobehav Rev* 2019;102:13–23.
- [47] Gu Y, Zhou G, Huang S, Wang B, Cao H. The potential role of gut mycobiome in irritable bowel syndrome. *Front Microbiol* 2019;10:1894.
- [48] Carroll IM, Ringel-Kulka T, Keku TO, Chang YH, Packey CD, Sartor RB, et al. Molecular analysis of the luminal- and mucosal-associated intestinal microbiota in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Am J Physiol-Gastr Liver Physiol* 2011;301(5):G799–807.
- [49] De Palma G, Lynch MD, Lu J, Dang VT, Deng Y, Jury J, et al. Transplantation of fecal microbiota from patients with irritable bowel syndrome alters gut function and behavior in recipient mice. *Sci Transl Med* 2017;9(379):eaaf6397.
- [50] Chung CS, Chang PF, Liao CH, Lee TH, Chen Y, Lee YC, et al. Differences of microbiota in small bowel and faeces between irritable bowel syndrome patients and healthy subjects. *Scand J Gastroenterol* 2016;51(4):410–9.
- [51] Nagel R, Traub RJ, Allcock RJ, Kwan MM, Bielefeldt-Ohmann H. Comparison of faecal microbiota in *Blastocystis*-positive and *Blastocystis*-negative irritable bowel syndrome patients. *Microbiome* 2016;4(1):47.
- [52] Tap J, Derrien M, Törnblom H, Brazeilles R, Cools-Portier S, Doré J, et al. Identification of an intestinal microbiota signature associated with severity of irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2017;152(1):111–23.
- [53] Seo M, Heo J, Yoon J, Kim SY, Kang YM, Yu J, et al. Methanobrevibacter attenuation via probiotic intervention reduces flatulence in adult human: a non-randomised paired-design clinical trial of efficacy. *PLoS ONE* 2017;12(9):e0184547.
- [54] Klampfer L, Huang J, Sasazuki T, Shirasawa S, Augenlicht L. Inhibition of interferon gamma signaling by the short chain fatty acid butyrate. *Mol Cancer Res* 2003;1(11):855–62.
- [55] Fachi JL, de Souza FJ, Pral LP, da Silva BK, Corrêa RO, de Andrade MCP, et al. Butyrate protects mice from *Clostridium difficile*-induced colitis through an HIF-1-dependent mechanism. *Cell Reports* 2019;27(3):750–61.
- [56] Krokowicz L, Kaczmarek BF, Krokowicz P, Stojcev Z, Mackiewicz J, Walkowiak J, et al. Sodium butyrate and short chain fatty acids in prevention of travellers' diarrhoea: a randomized prospective study. *Travel Med Infect Dis* 2014;12(2):183–8.
- [57] Schroeder FA, Lin CL, Crusio WE, Akbarian S. Antidepressant-like effects of the histone deacetylase inhibitor, sodium butyrate, in the mouse. *Biol Psychiatry* 2007;62(1):55–64.
- [58] Stilling RM, van de Wouw M, Clarke G, Stanton C, Dinan TG, Cryan JF. The neuropharmacology of butyrate: the bread and butter of the microbiota–gut–brain axis? *Neurochem Int* 2016;99:110–32.
- [59] Pozuelo M, Panda S, Santiago A, Mendez S, Accarino A, Santos J, et al. Reduction of butyrate- and methane-producing microorganisms in patients with irritable bowel syndrome. *Sci Rep* 2015;5(1):12693.
- [60] Liu H, Wang J, He T, Becker S, Zhang G, Li D, et al. Butyrate: a double-edged sword for health? *Adv Nutr* 2018;9(1):21–9.
- [61] Sloan TJ, Jalanka J, Major GA, Krishnasamy S, Pritchard S, Abdelrazig S, et al. A low FODMAP diet is associated with changes in the microbiota and reduction in breath hydrogen but not colonic volume in healthy subjects. *PLoS ONE* 2018;13(7):e0201410.
- [62] Chang L, Chey WD, Harris L, Olden K, Surawicz C, Schoenfeld P. Incidence of ischemic colitis and serious complications of constipation among patients using alosetron: systematic review of clinical trials and post-marketing

- surveillance data. *Am J Gastroenterol* 2006;101(5):1069–79.
- [63] Lembo AJ, Lacy BE, Zuckerman MJ, Schey R, Dove LS, Andrae DA, et al. Eluxadolone for irritable bowel syndrome with diarrhea. *N Engl J Med* 2016;374(3):242–53.
- [64] Yelin I, Flett KB, Merakou C, Mehrotra P, Stam J, Snesrud E, et al. Genomic and epidemiological evidence of bacterial transmission from probiotic capsule to blood in ICU patients. *Nat Med* 2019;25(11):1728–32.
- [65] Dauby N. Risks of *Saccharomyces boulardii*-containing probiotics for the prevention of *Clostridium difficile* infection in the elderly. *Gastroenterology* 2017;153(5):1450–1.
- [66] Doron S, Snyderman DR. Risk and safety of probiotics. *Clin Infect Dis* 2015;60 Suppl 2:S129–34.
- [67] Costa RL, Moreira J, Lorenzo A, Lamas CC. Infectious complications following probiotic ingestion: a potentially underestimated problem? A systematic review of reports and case series. *BMC Complement Altern Med* 2018;18(1):329.
- [68] Rossi F, Amadoro C, Colavita G. Members of the *Lactobacillus* genus complex (LGC) as opportunistic pathogens: a review. *Microorganisms* 2019;7(5):126.
- [69] Zhai Q, Liu Y, Wang C, Zhao J, Zhang H, Tian F, et al. Increased cadmium excretion due to oral administration of *Lactobacillus plantarum* strains by regulating enterohepatic circulation in mice. *J Agric Food Chem* 2019;67(14):3956–65.