

益生菌抑制致病菌作用的机制研究进展

张英春 韩雪 单毓娟 张兰威*

(哈尔滨工业大学 食品科学与工程学院 黑龙江 哈尔滨 150090)

摘要: 致病菌引起的各种胃肠道疾病对人类健康造成危害, 应用益生菌制剂防治致病菌感染, 具有安全和减少耐药性等优点, 为控制致病菌感染性疾病提供了新的途径。主要从益生菌与致病菌竞争黏附位点、与致病菌的共聚作用及其产生的抗菌物质三个方面综述益生菌抑制致病菌的作用机制。

关键词: 益生菌, 致病菌, 抑制

Recent advances in mechanism on probiotic bacteria inhibition of pathogens

ZHANG Ying-Chun HAN Xue SHAN Yu-Juan ZHANG Lan-Wei*

(School of Food Science and Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin, Heilongjiang 150090, China)

Abstract: Pathogens is a major cause of gastrointestinal illness and hazardous to human health. Application of probiotics to the prevention of pathogen infection has received much attention due to safety and decreasing drugtolerance. Here we summarize the recent progress in mechanism of probiotic bacteria inhibition of pathogens including competition for adhesion sites with pathogens, coaggregation with pathogens and production of antimicrobial substances.

Keywords: Probiotic bacteria, Pathogen, Inhibition

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资助项目(No. HIT.NSRIF.2012082); 国家 863 计划项目(No. 2007AA10Z354)

*通讯作者: Tel: 86-451-86282901; 信箱: lanweizhang@yahoo.com.cn

收稿日期: 2011-12-28; 接受日期: 2012-02-15

肠道微生物生态系统是人体最大、最复杂的微生态系统(Microecosystem), 其中存在着大量不同含量和类型的各种细菌, 大多数在幼年获得^[1]。不同菌种之间通过拮抗和共生关系, 以及微生物与宿主之间的相互作用关系达到消化道微生态系统的平衡, 对于阻止肠道紊乱和致病菌感染非常重要, 这种平衡状态一旦被打破, 就易引起菌群失调, 给肠道致病菌及条件致病菌的生长提供机会, 造成肠道疾病的形成, 见图 1^[2]。由肠道致病菌引起的慢性胃炎、胃溃疡、腹泻类疾病、慢性肠炎等疾病每年在全球导致约两百万人死亡。临床上通常使用抗生素类药物对这类疾病进行治疗, 这样会增加致病菌的耐药性而使病情加重。因此, 针对致病菌感染及其对多种抗生素的抗性, 无残留、不产生抗药性、无毒副作用的益生菌制剂无疑具有广阔的开发和应用前景。

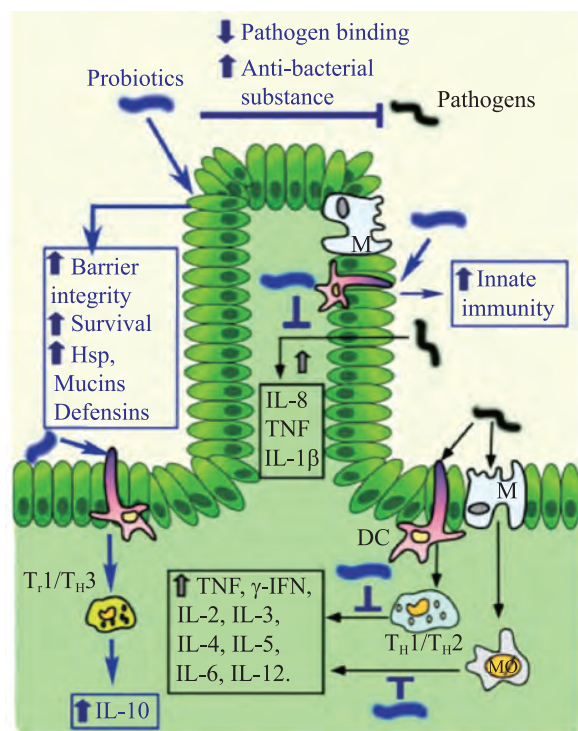


图 1 益生菌与致病菌对宿主肠动态平衡的作用^[2]

Fig. 1 Regulation of host homeostasis by probiotics and pathogens^[2]

虽然目前临床中许多益生菌已被用来预防或治疗各种胃肠疾病, 包括感染性腹泻、新生儿肠炎、慢性结肠炎、肠易激综合症和炎症性肠病^[3]。但是目前对临床应用益生菌抑制致病菌引起的肠道疾病的作用机制并不明了。一般认为益生菌在临床治疗肠道致病菌引起的炎症性疾病的分子和细胞机制主要涉及以下几个方面。本文主要从这几个方面阐明益生菌抑制致病菌的作用机制。

1 益生菌与致病菌竞争黏附位点

致病菌黏附到肠上皮细胞的机制之一是和肠上皮细胞表面分子的受体结合, 而益生菌细胞壁上的表面大分子能够阻断或抑制致病菌和这些受体的结合^[4-5]。非致病菌在肠上皮细胞黏附位点的占据抑制了致病菌的入侵, 同时在生态位点对营养的争夺也限制了致病菌的过度繁殖。益生菌能够黏附在肠上皮细胞中微绒毛的刷状缘和黏膜层, 通过肠蠕动很难将其带出肠道, 这也是益生菌抑制肠道致病菌定殖生长的前提条件。乳酸杆菌的细胞壁上由不同的大分子组成, 这些大分子对益生菌的一些特性起到决定性作用, 见图 2。研究表明, 益生菌与宿主的相互作用主要与菌体 S-层蛋白(S-layer protein)、脂磷壁酸(Lipoteichoic acids, LTA)和胞外多糖有关(Exopolysaccharides, EPS)等。

1.1 S-层蛋白与致病菌的竞争性黏附作用

S-层蛋白是由蛋白质或者糖蛋白亚基组成, 呈规则的晶状排列, 形成了能够覆盖整个细胞表面的固态表层。乳酸杆菌表层蛋白的分子量在 25–71 kD 之间, 是已知表层蛋白中分子量最小的一类。乳酸杆菌表层蛋白的等电点为 9.35–10.4, 均为碱性蛋白, 这是乳酸杆菌独有的特性。乳酸杆菌表层蛋白的氨基酸组成与其他表层蛋白的氨基酸组成基本相似, 含有大量疏水性氨基酸, 含量在 31.9%–38.7% 之间。正是因为高含量的疏水性氨基酸, S-层蛋白才不会被水等溶剂溶解,

这是 S-层蛋白自动聚集性的基础。另外, S-层蛋白中高含量的疏水性氨基酸也有助于乳酸杆菌与致病菌竞争黏附位点, 进而对致病菌的黏附起到一定的阻碍作用。相对于其它细菌而言, 目前

已发现的含有 S-层蛋白的乳酸菌并不多, 主要包括嗜酸乳杆菌(*L. acidophilus*)、瑞士乳杆菌(*L. helveticus*)、短乳杆菌(*L. brevis*)、卷曲乳杆菌(*L. crispatus*)等, 见表 1。

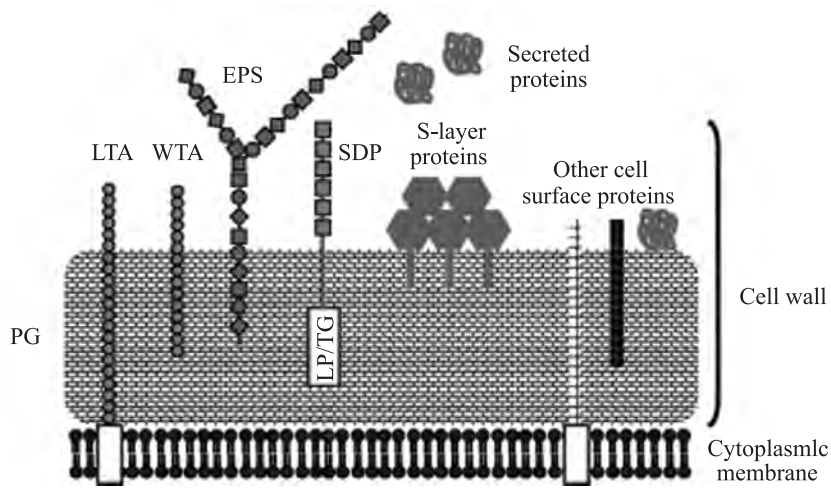


图 2 益生菌的表面结构含有的活性分子

Fig. 2 Cell surface architecture of probiotic bacteria

注: 主要包括脂磷壁酸, S-层蛋白和胞外多糖等, 还存在其他类型的表面蛋白^[6].
Note: A thick multilayered PG layer is decorated with LTA, S-layer proteins, EPSs, etc., but many other types of cell surface proteins anchors exist^[6].

表 1 S-层蛋白在乳酸杆菌中的分布 Table 1 The distribution of S-layer in lactobacilli				
乳酸杆菌菌种 <i>Lactobacillus</i> strains	S-层蛋白相对分子质量 Relative molecular masses of S-layers proteins	疏水性氨基酸含量 Amino acid composition	等电点 pI	参考文献 Reference
<i>L. acidophilus</i> ATCC4356	SlpA: 43.0 SlpB: 44.9	SlpA: 36.4 SlpB: 35.9	SlpA: 10.40 SlpB: 10.30	[19]
<i>L. acidophilus</i> M92	45.0	—	—	[20]
<i>L. acidophilus</i> NCC2628	21.5–45	—	—	[21]
<i>L. helveticus</i> R0052	48.0	—	—	[9]
<i>L. helveticus</i> ATCC12046	52.0	44	—	[22]
<i>L. helveticus</i> CNRZ 892	SlpH: 48.4	SlpH: 35.9	SlpH: 10.19	[23]
<i>L. helveticus</i> CNRZ1269	SlpH: 48.4	—	—	[23]
<i>L. brevis</i> GRL1 ATCC8287	46.0	SlpA: 32.4	9.88	[24]
<i>L. brevis</i> GRL1046	47.0	—	—	[24]
<i>L. brevis</i> ATCC14869	SlpB: 48 SlpC: 46 SlpD: 42	SlpB: 34.6 SlpC: 33.8 SlpD: 36.8	SlpB: 9.99 SlpC: 10.12 SlpD: 10.08	[25]
<i>L. crispatus</i> ZJ001	42.0	—	—	[8]
<i>L. crispatus</i> JCM5810	43.9	—	—	[26]
<i>L. johnsonii</i> La1 (NCC533)	50.0	Apf2: 38.7	—	[27]

S-层蛋白与致病菌竞争黏附肠上皮细胞的受体, 进而能够增强益生菌的益生功能。Horie 等^[7]研究表明, 将 *L. crispatus* JCM 5810 菌株用盐酸胍去除 S-层蛋白后, 其显著降低了 *L. crispatus* 抑制致病性 *E. coli* 黏附到上皮细胞的能力。Chen 等^[8]研究表明 *L. crispatus* ZJ001 经过 5 mol/L 的氯化锂处理后, 其抑制 *E. coli* 和 *S. typhimurium* 对 Caco-2 的作用和聚合能力都消失, 证明了 S-层蛋白与致病菌竞争抑制黏附的作用。Johnson-Henry 等^[9]研究了 *L. helveticus* R0052 对 *E. coli* O157:H7 黏附 HEp22 和 T84 上皮细胞的抑制作用, 发现 S-层蛋白发挥了重要作用, SDS-PAGE 分析表明提取的 S-层蛋白的分子量为 48 kD, 体外实验证实 S-层蛋白可抑制 *E. coli* O157:H7 对 HEp22 的粘附。Bergonzelli 等^[10]研究发现 *L. johnsonii* La1 中的 S-层蛋白除了存在于细胞壁表面, 同时能够分泌到培养基中, 有关于 S-层蛋白是否具有抑制致病菌生长的作用还有待于研究。另外, Golowcycz 等^[11]研究发现分离于 kefir 中的 *L. kefir* 和其 S-层蛋白能够抑制 *S. enteritidis* 对上皮细胞的黏附和侵袭。Hynönen 等^[12]研究发现菌株 *L. brevis* ATCC8287 的 S-层蛋白与人肠上皮细胞具有亲和性, 这也是其能够发挥抑制致病菌黏附的主要机制。

同时, 我们课题组从传统发酵乳制品中分离筛选了一株副干酪乳杆菌 M5-L, 能够显著抑制宋内志贺菌对 HT-29 细胞的黏附作用, 主要是 S-层蛋白发挥主要作用, 进一步对 S-层蛋白的氨基酸组成研究发现, 其中疏水性氨基酸的含量达到 40.52%, 推测可能是这种疏水性氨基酸有助于 M5-L 抑制致病菌黏附作用^[13], 其中的脯氨酸含量为 2.81%, 其富含脯氨酸(Proline)的结构可插入上皮细胞的 SH3 结构域的疏水区域中, 可能与黏附机制有关^[14]。

另外, 有研究表明有些乳酸杆菌的 S-层蛋白

是介导乳酸杆菌与宿主肠道细胞黏附的主要介质。而且, 具有黏附性的 S-层蛋白与其预防致病菌的黏附作用及其益生特性也会有着必然的联系^[15]。正是因为这个原因利用 S-层蛋白对致病菌感染进行治疗已经引起了研究者的兴趣, 例如利用它作为活的目标抗原载体^[16]; 目前研究已经证明可以将外源的抗原决定部分整合到 S-层蛋白的亚基上, 而在乳酸杆菌的 S-层蛋白形成一体^[17]。因此 Åvall-Jääskeläinen 等^[18]用盐酸胍提取分离的 98 株乳酸杆菌的 S-层蛋白, 然后进行 SDS-PAGE 分析, 筛选出 6 株菌产生 S-层蛋白, 其分子量主要分布在 45–62 kD, 并进一步研究其作为抗原的载体。

1.2 胞外多糖与致病菌的竞争性黏附作用

乳酸杆菌的胞外多糖(EPS)具有复杂结构, 不仅糖单体特性存在差异, 而且单糖的链接、分支和替代方式也存在不同, 构成乳酸杆菌菌种特有的细胞壁结构。EPS 通过影响细胞表面理化特性, 在乳酸杆菌的生物性和非生物性表面特异性相互作用中起关键作用。另外, EPS 也通过屏蔽其他细胞表面黏附因子对黏附形成间接影响。Ruas-Madied 等^[28]发现胞外多糖对于益生菌和肠道致病菌的黏附作用起到调控作用。EPS 主要是做为宿主配体或致病菌凝集素, 调节致病菌的黏附作用。Neese 等^[29]研究发现 *L. johnsonii* 对 EPEC 和 ETEC 的抑制主要是与致病菌竞争糖基黏附位点。Mukai 等^[30]发现 *L. reuteri* 通过与 *Helicobacter pylori* 竞争上皮细胞表面中相同的糖基位点, 使得 *H. pylori* 失去黏附位点而被排出体外。EPS 起到空间排阻的作用。由此可见, EPS 作为益生菌和致病菌的竞争结合位点在抑菌机制中起主要作用。

1.3 脂磷壁酸与致病菌的竞争性黏附作用

脂磷壁酸(LTA)为乳酸杆菌和双歧杆菌细胞外层的疏水成分, 起到非特异性黏附作用^[31]。

LTA 在益生菌表面形成微毛结构, 构成益生菌黏附过程中的配位体。另外, LTA 具有低等电点特性, 这样就会导致益生菌表面分布多为负电荷, 这种静电作用成为益生菌与受体细胞黏附的基础。肠道益生菌表面的分子类结构物质 LTA, 可识别肠上皮细胞表面的黏附受体位点而引发与致病菌的竞争性黏附。乳酸杆菌 *L. johnsonii* La1 对于 Caco-2 细胞的黏附作用能被由该菌提取的 LTA 抑制。目前据资料报道, LTA 是双歧杆菌表面的主要黏附物质, 另外双歧杆菌中 LTA 还具有很多生物活性。

1.4 防御物质抑制致病菌的黏附作用

除了通过各种机制维持肠上皮细胞的物理屏障外。益生菌也能刺激肠上皮细胞产生细胞保护物质, 如热休克蛋白和 β -Defensin。益生菌 LGG 培养物上清中的可溶因子可以诱导肠上皮细胞产生热休克蛋白^[32]。*E. coli* Nissle 1917 可以上调肠上皮细胞中 β -Defensin 的产生, 来阻止病原菌对肠上皮细胞的黏附和入侵^[33]。双歧杆菌产生的胞外糖苷酶, 能降解肠黏膜上皮细胞上的杂多糖, 从而起到阻止致病菌及细菌毒素对肠上皮细胞的黏附作用^[34], 如青春双歧杆菌的 β -呋喃果糖苷酶, 可催化 1-蔗糖三糖、棉子糖和菊糖等寡糖, 起到消除致病菌利用其进行黏附的作用。

2 益生菌与致病菌的共聚作用

益生菌在人体肠道内形成一个屏障从而抑制病原菌的入侵, 是发生益生作用的一个主要机制。尤其是益生菌株与致病菌的共聚合作用是其有效抑制致病菌在肠道内定殖的一个主要作用机制。有研究者认为乳酸杆菌与致病菌的共聚, 有助于致病菌从肠道中移除。Schär-Zammaretti 等^[35]研究了 *L. coryniformis* DSM 20001T 与致病菌的共聚能力及其乳酸杆菌表面蛋白之间的关系, 乳酸杆菌上凝集促进因子具有介导 *L. coryniformis*

DSM 20001T 与 *E. coli* K88、*C. coli* DSM4689T 和 *C. jejuni* DSM4688T 的凝集作用。另外, 在研究 *L. acidophilus* M92 对猪回肠上皮细胞的黏附特性时发现, 该菌株表面存在 S-层蛋白, 可以介导 *L. acidophilus* 与 *E. coli* 3014、*S. typhimurium* 的协同凝集作用^[20]。

3 益生菌产生的代谢产物抑制肠道致病菌的生长繁殖

乳杆菌作为益生菌中应用最广的菌种, 在体内抑制致病菌的主要机制就是能够对致病菌的生长环境造成限制, 主要是通过产生大量的短链脂肪酸(乳酸、乙酸、丙酸等)、脂肪酸(苯基乳酸、对羟基苯基乳酸)、过氧化氢、细菌素或多肽等物质, 抑制致病菌的生长, 从而发挥生物学屏障作用, 进而抑制致病菌对肠上皮细胞的黏附作用。

3.1 细菌素

细菌素是目前研究比较热的抗菌物质, 已经报道了乳酸杆菌产生的几种细菌素类物质, 但是这些细菌素的抗菌活性是有差异的。乳酸链球菌素(Nisin)是世界公认安全的天然食品防腐剂; 迄今为止, 已有 50 多个国家和地区将其应用于食品工业中。但 Nisin 只能抑制 G^+ 菌, 对 G^- 菌、酵母菌、霉菌及病毒一般没有抑制作用, 对由大肠杆菌、沙门菌、志贺菌等肠道致病菌无能为力, 而且在中性及碱性环境中溶解度低、不稳定而使抗菌效果大大降低。随着研究的深入, 人们的研究目标主要集中于广谱细菌素的开发。例如益生菌 *L. salivarius* subsp. *salivarius* UCC118 所产生的抗菌肽具有广谱抗菌作用, 对 *Bacillus*, *Staphylococcus*、*Enterococcus*、*Listeria* 和 *Salmonella* 菌都具有抑制作用^[36]; *Lactococcus lactis* subsp. 产生的细菌素 Lacticin 3147 能够有效抑制 *C. difficile* 的生长^[37]。我们课题组从传统发酵食品中分离出一株干酪乳杆菌 J23 能够产生广谱抗菌肽,

对 G^+ 和 G^- 菌均具有抑制作用^[38]。另外, 乳酸杆菌产生的细菌素和酸可以协同作用直接作用于病原, 抑制病原体在肠道的生长繁殖^[39]。但是就目前的研究现状来看, 都很难阐明广谱抗菌肽的结构及其作用机制。

3.2 有机酸

乳酸是乳酸菌产生的重要抑菌化合物, 未解离乳酸具有高脂溶性, 能融入细胞膜并以未解离乳酸的分子形式渗透入特定肠道致病菌细胞质, 酸化细胞质, 并破坏细胞膜的底物转运、能量供应、大分子合成, 达到抑菌效果。乳酸杆菌和双歧杆菌能够代谢肠道中不被人吸收的低聚糖和氨基酸类产生这种有机酸, 主要包括乳酸、醋酸、丙酸、丁二酸、苯基乳酸和羟基苯基乳酸等。通过产生有机酸降低肠道中 pH 值。在低酸环境下, 致病菌细胞膜内外 pH 值差能增强未解离有机酸的细胞毒性。但是有资料报道单纯的低酸环境并不能抑制产肠毒素大肠杆菌(ETEC)和产志贺样毒素大肠杆菌(STEC)部分耐酸菌株的活性, 而是通过低酸环境来增强未解离乳酸的细胞毒性和抑菌能力^[40]。De Keersmaecker 等^[41]研究 LGG 对 *S. typhimurium* 的抑菌作用, 结果发现也是由于乳酸积累的作用。Ogawa 等^[42]报道益生性乳酸杆菌对产毒素 *E. coli* O157:H7 生长的抑制作用也是通过乳酸发挥作用的。另外, 乳酸作为 G^- 菌细胞膜的渗透剂, 能够促进其他抑菌化合物进入细胞内, 起到协同抑菌的作用。有些有机酸还具有螯合特性, 能够捕获致病菌生长的必需元素, 例如铁, 从而抑制其生长^[43]。

4 展望

我国是一个乳酸菌菌种资源十分丰富的国家, 这为乳酸菌的研究和开发利用提供了很好的平台。阐明益生菌抑制致病菌作用的机制、通过基因工程等方法提高益生菌的抑制作用等问题

都值得深入研究, 这样可以为高通量筛选具有抑制致病菌作用的益生菌菌株提供依据, 从基因和分子水平研究益生菌的抑制致病菌的黏附机制, 对于开发新型微生态制剂, 改善微生态制剂的使用效果都具有重要意义。发酵乳制品是人们摄入外源乳酸菌的一条重要途径, 筛选具有良好抑制致病菌作用的发酵乳制品菌株, 或者通过改善现有发酵乳制品菌株的抑制致病菌作用, 从而增加这类菌株的益生功能, 对于开发新的功能性乳制品、丰富现有乳制品的附加值也将具有重要意义。

参考文献

- [1] Palmer C, Bik EM, Digiulio DB, et al. Development of the human infant intestinal microbiota[J]. PLoS Biology, 2007, 5 (7): e177.
- [2] Vanderpool C, Yan F, Polk DB. Mechanisms of probiotic action: implications for therapeutic applications in inflammatory bowel diseases[J]. Inflammatory Bowel Diseases, 2008, 14(11): 1585–1596.
- [3] Ouwehand AC, Isolauri E, Salminen S. The role of the intestinal microflora for the development of the immune system in early childhood[J]. European Journal of Nutrition, 2002, 41(Suppl 1): 32–37.
- [4] Sun J, Le GW, Shi YH, et al. Factors involved in binding of *Lactobacillus plantarum* Lp6 to rat small intestinal mucus[J]. Letters in Applied Microbiology, 2007, 44(1): 79–85.
- [5] Tallon R, Arias S, Bressollier P, et al. Strain and matrix-dependent adhesion of *Lactobacillus plantarum* is mediated by proteinaceous bacterial compounds[J]. Journal of Applied Microbiology, 2007, 102(2): 442–451.
- [6] Lebeer S, Vanderleyden J, De Keersmaecker SCJ. Genes and molecules of lactobacilli supporting probiotic action[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2008, 72(4): 728–764.
- [7] Horie M, Ishiyama A, Fujihira-Ueki Y, et al. Inhibition of the adherence of *Escherichia coli* strains to basement membrane by *Lactobacillus*

- crispatus* expressing an S-layer[J]. Journal of Applied Microbiology, 2002, 92(3): 396–403.
- [8] Chen XY, Xu JJ, Shuai JB, et al. The S-Layer proteins of *Lactobacillus crispatus* strain ZJ001 is responsible for competitive exclusion against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium*[J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 115(3): 307–312.
- [9] Johnson-Henry KC, Hagen KE, Gordonpour M, et al. Surface-layer protein extracts from *Lactobacillus helveticus* inhibit enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 adhesion to epithelial cells[J]. Cellular Microbiology, 2007, 9(2): 356–367.
- [10] Bergonzelli GE, Granato D, Pridmore RD, et al. GroEL of *Lactobacillus johnsonii* La1 (NCC 533) is cell surface associated: potential role in interactions with the host and the gastric pathogen *Helicobacter pylori*[J]. Infection and Immunity, 2006, 74(1): 4252–4434.
- [11] Golowcyc MA, Mobil IP, Garrote GL, et al. Protective action of *Lactobacillus kefir* carrying S-layer protein against *Salmonella enterica* serovar Enteritidis[J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 118(3): 264–273.
- [12] Hynönen U, Westerlund-Wikström B, Palva A, et al. Identification by flagellum display of an epithelial cell- and fibronectin-binding function in the SlpA surface protein of *Lactobacillus brevis*[J]. Journal of Bacteriology, 2002, 184(12): 3360–3367.
- [13] Zhang YC, Zhang LW, Tuo YF, et al. Inhibition of *Shigella sonnei* adherence to HT-29 cells by lactobacilli from Chinese fermented food and preliminary characterization of S-layer protein involvement[J]. Research in Microbiology, 2010, 161(8): 667–672.
- [14] Pretzer G, Snel J, Molenaar D, et al. Biodiversity-based identification and functional characterization of the mannose-specific adhesin of *Lactobacillus plantarum*[J]. Journal of Bacteriology, 2005, 187(17): 6128–6136.
- [15] Smit E, Oling F, Demel R, et al. The S-layer protein of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356: identification and characterisation of domains responsible for S-protein assembly and cell wall binding[J]. Journal of Molecular Biology, 2001, 305(2): 245–257.
- [16] Seeger JFML. *Lactobacilli* as live vaccine delivery vectors: progress and prospects[J]. Trends in Biotechnology, 2002, 20(12): 508–515.
- [17] Åvall-Jääskeläinen S, Kylä-Nikkilä K, Kahala M, et al. Surface display of foreign epitopes on the *Lactobacillus brevis* S-layer[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(12): 5943–5951.
- [18] Åvall-Jääskeläinen M, Palva A. Isolation of surface (S) layer protein carrying *Lactobacillus* Species from porcine intestine and faeces and characterization of their adhesion properties to different host tissues[J]. Veterinary Microbiology, 2007, 124(3/4): 264–273.
- [19] Boot HJ, Kolen CP, van Noort JM, et al. S-Layer protein of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356: purification, expression in *Escherichia coli*, and nucleotide sequence of the corresponding gene[J]. Bacteriology, 1993, 175(19): 6089–6096.
- [20] Kos B, Šušković J, Vuković S, et al. Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(6): 981–987.
- [21] Schär-Zammaretti P, Dillmann ML, D'Amico N, et al. Influence of fermentation medium composition on physicochemical surface properties of *Lactobacillus acidophilus*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(12): 8165–8173.
- [22] Lortal S, Van Heijenoort J, Gruber K, et al. S-layer of *Lactobacillus helveticus* ATCC 12046: isolation, chemical characterization and re-formation after extraction with lithium chloride[J]. Journal of General Microbiology, 1992, 138(3): 611–618.
- [23] Beveridge TJ, Pouwels PH, Sára M, et al. V. Functions of S-layers[J]. FEMS Microbiology Reviews, 1997, 20(1/2): 99–149.
- [24] Åvall-Jääskeläinen S, Kylä-Nikkilä K, Kahala M, et al. Surface display of foreign epitopes on the *Lactobacillus brevis* S-Layer[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(12): 5943–5951.
- [25] Jakava-Vijanen M, Åvall-Jääskeläinen S, Messner P, et al. Isolation of three new surface layer protein

- genes (*slp*) from *Lactobacillus brevis* ATCC 14869 and characterization of the change in their expression under aerated and anaerobic conditions[J]. *Journal of Bacteriology*, 2002, 184(24): 6786–6795.
- [26] Sillanpää J, Martínez B, Antikainen J, et al. Characterization of the collagen-binding S-layer protein CbsA of *Lactobacillus crispatus*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182(22): 6440–6450.
- [27] Granato D, Bergonzelli GE, Pridmore RD, et al. Cell surface-associated elongation factor Tu mediates the attachment of *Lactobacillus johnsonii* NCC533 (La1) to human intestinal cells and mucins[J]. *Infection and Immunity*, 2004, 72(4): 2160–2169.
- [28] Ruas-Madiedo P, Gueimonde M, Margolles A, et al. Exopolysaccharides produced by probiotic strains modify the adhesion of probiotics and enteropathogens to human intestinal mucus[J]. *Journal of Food Protection*, 2006, 69(8): 2011–2015.
- [29] Neeser JR, Granato D, Rouvet M, et al. *Lactobacillus johnsonii* La1 shares carbohydrate-binding specificities with several enteropathogenic bacteria[J]. *Glycobiology*, 2000, 10(11): 1193–1199.
- [30] Mukai T, Asasaka T, Sato E, et al. Inhibition of binding of *Helicobacter pylori* to the glycolipid receptors by probiotic *Lactobacillus reuteri*[J]. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2002, 32(2): 105–110.
- [31] Delcour J, Ferain T, Deghorain M, et al. The biosynthesis and functionality of the cell-wall of lactic acid bacteria[J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1999, 76(1/4): 159–184.
- [32] Tao Y, Drabik KA, Waypa TS, et al. Soluble factors from *Lactobacillus* GG activate MAPKs and induce cytoprotective heat shock proteins in intestinal epithelial cells[J]. *American Journal of Physiology Cell Physiology*, 2005, 290(4): C1018–C1030.
- [33] Schlee M, Wehkamp J, Altenhoefer A, et al. Induction of human β -defensin 2 by the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is mediated through flagellin[J]. *Infection and Immunity*, 2007, 75(5): 2399–2407.
- [34] Katayama T, Fujita K, Yamamoto K. Novel *Bifidobacterial* glycosidases acting on sugar chains of mucin glycoproteins[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2005, 99(5): 457–465.
- [35] Schär-Zammaretti P, Dillmann ML, D'Amico N, et al. Influence of fermentation medium composition on physicochemical surface properties of *Lactobacillus acidophilus*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(12): 8165–8173.
- [36] Flynn S, van Sinderen D, Thornton GM, et al. Characterization of the genetic locus responsible for the production of ABP-118, a novel bacteriocin produced by the probiotic bacterium *Lactobacillus salivarius* subsp. *salivarius* UCC118[J]. *Microbiology*, 2002, 148(4): 973–984.
- [37] Rea MC, Clayton E, O'Connor PM, et al. Antimicrobial activity of lactacin 3147 against clinical *Clostridium difficile* Strains[J]. *Journal of Medical Microbiology*, 2007, 56(7): 940–946.
- [38] Yi HX, Zhang LW, Tuo YF, et al. A novel method for rapid detection of class IIa bacteriocin-producing lactic acid bacteria[J]. *Food Control*, 2010, 21(4): 426–430.
- [39] Cotter PD, Hill C, Ross RP. Bacteriocins: developing innate immunity for food[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2005, 3(10): 777–788.
- [40] 林勇. 水肿病、水肿病康复仔猪源乳酸菌的分离鉴定及其抑菌机理的研究[D]. 南京: 南京农业大学硕士学位论文, 2008.
- [41] De Keersmaecker SCJ, Verhoeven TLA, Desair J, et al. Strong antimicrobial activity of *Lactobacillus rhamnosus* GG against *Salmonella typhimurium* is due to accumulation of lactic acid[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2006, 259(1): 89–96.
- [42] Ogawa M, Shimizu K, Nomoto K, et al. Inhibition of *in vitro* growth of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 by probiotic *Lactobacillus* strains due to production of lactic acid[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2001, 68(1/2): 135–140.
- [43] Presser KA, Ratkowsky DA, Ross T. Modelling the growth rate of *Escherichia coli* as a function of pH and lactic acid concentration[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(6): 2355–2360.