

## 母乳低聚糖对婴儿肠道菌群及认知功能的影响

马美红<sup>1</sup>, 乌日娜<sup>1,2,3</sup>, 刘语萌<sup>1</sup>, 丁瑞雪<sup>1</sup>, 武俊瑞<sup>1,2,3\*</sup>

(<sup>1</sup> 沈阳农业大学食品学院 沈阳 110866

<sup>2</sup> 辽宁省食品发酵技术工程研究中心 沈阳 110866

<sup>3</sup> 沈阳市微生物发酵技术创新重点实验室 沈阳 110866)

**摘要** 母乳低聚糖(HMOs)是母乳中具有独特结构的复杂糖类物质,其多样性远高于其它哺乳动物乳。HMOs 的功能作用可从婴儿肠道菌群的初步建立一直持续到成年阶段,包括支持有益细菌生长和抗病原菌黏附等,其也具有在认知方面产生有益效果的潜力。关于 HMOs 是否能够通过调节肠道菌群并借助肠-脑轴来促进婴儿大脑的健康发育,值得进一步研究。本文综述 HMOs 的组成、结构,重点阐述 HMOs 在塑造婴儿肠道菌群中的作用,并探讨两者及其产生的代谢物通过肠-脑轴对婴儿认知的促进作用,旨在为推进 HMOs 在婴儿配方食品中的应用提供理论参考。

**关键词** 母乳低聚糖; 肠道菌群; 大脑发育

**文章编号** 1009-7848(2024)08-0502-09 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.08.044

母乳是婴儿生长发育的最佳食物,其不可替代性得到美国儿科学会(AAP)、美国卫生与公众服务部(HHS)和美国疾病与预防控制中心(CDC)等卫生机构的一致认可<sup>[1]</sup>。在母乳喂养婴儿的粪便样本中双歧杆菌和乳酸杆菌的含量较高,且与配方奶粉喂养婴儿相比,其潜在病原体的含量较低<sup>[2]</sup>。此外,母乳喂养的婴儿的肠道微生物组的稳定性优于配方奶粉喂养的婴儿,在配方奶粉喂养婴儿的肠道微生物群中,葡萄球菌、拟杆菌、梭状芽孢杆菌、肠球菌、肠杆菌是主要成员<sup>[3]</sup>。由于肠道菌群的差异,2种喂养方式婴儿的粪便中特定代谢物(如脂质、激素和氨基酸)的水平也存在差异,后一组婴儿粪便中丙酸盐和丁酸盐的含量较高<sup>[4]</sup>,这些差异是母乳低聚糖(Human milk oligosaccharides, HMOs)被发酵的结果。HMOs 是母乳中一组难以模仿的生物活性成分,约占母乳总碳水化合物含量的 20%,是继乳糖和脂质之后的第 3 大固体成分<sup>[5]</sup>。HMOs 被视为“益生元”,可以塑造平衡和多样的婴儿肠道菌群<sup>[6]</sup>。HMOs 是提供碳水化合物的主要来源,这些碳水化合物被双歧杆菌等益生菌

利用,对肠道菌群的微生物组成具有深远的影响。

母乳的许多益处都源于 HMOs,这些益处是与肠道菌群相互作用而产生的<sup>[7]</sup>。HMOs 的益处还可能扩展到促进认知功能。Berger 等<sup>[8]</sup>的一项研究指出,出生 1 个月后,母乳中 2'-岩藻糖基乳糖(2'-FL)含量可能对婴儿认知发展产生积极影响。关于 HMOs 促进大脑发育功能的影响已成为当前科学研究的热点。本文综述 HMOs 的主要结构特征,总结 HMOs 在塑造婴儿肠道菌群中的作用以及其通过肠-脑轴在婴儿大脑发育和认知中的潜在作用。

### 1 HMOs 的组成和结构

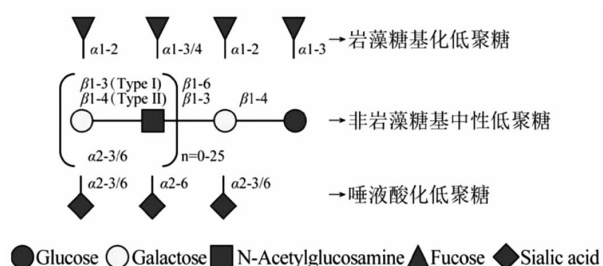
HMOs 的活性很大程度上归因于其特定的糖基序列<sup>[9]</sup>。HMOs 基本化学结构如图 1 所示。HMOs 由 5 种单体组成: D-葡萄糖(Glc)、D-半乳糖(Gal)、N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc)、L-岩藻糖(Fuc)和唾液酸(NeuAc)<sup>[10]</sup>。尽管这 5 个结构单元在不同方向和序列上的组合是巨大的,但目前只有大约 200 种不同的 HMOs 被表征出来,其中 50 种 HMOs 的组成被认为代表了人类母乳中 99% 的 HMOs 丰度<sup>[11]</sup>。所有的这些单糖通过不同的糖苷键与乳糖连接,从而形成 HMOs 的不同结构。这些连接方式主要分为 3 种:通过添加  $\beta$ -1,3 或  $\beta$ -1,6 连接的乳-N-二糖或 N-乙酰基乳糖胺进行延伸。在末端位置通过  $\alpha$ -2,3 或  $\alpha$ -2,6 键被唾液酸修

收稿日期: 2023-08-11

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(32172279); 沈阳市科技创新平台项目(21-103-0-14,21-104-0-28)

第一作者: 马美红,女,硕士生

通信作者: 武俊瑞 E-mail: junruiwu@126.com

图 1 HMOs 的基本化学结构组成<sup>[12]</sup>Fig.1 The basic chemical structure of HMOs<sup>[12]</sup>

饰。也可以通过  $\alpha$ -1,2、 $\alpha$ -1,3 或  $\alpha$ -1,4 键被 Fuc 修饰。因此,对应结构也分为 3 类:岩藻糖基化低聚糖(FucOS)、唾液酸化低聚糖(SiaOS)和非岩藻糖基中性低聚糖<sup>[12]</sup>。

HMOs 在乳腺中合成,其分子结构和比例因个体而异,取决于  $\alpha$ -1,2-岩藻糖基转移酶(Fucosyltransferase 2, FUT 2)和  $\alpha$ -1,3/4-岩藻糖基转移酶(Fucosyltransferase 3, FUT 3)在乳细胞中的表达<sup>[13]</sup>。HMOs 谱由分泌型基因(*Se*)和 Lewis(*Le*)血型基因确定<sup>[14]</sup>,酶 FUT2 和 FUT3 分别由 *Se* 基因和 *Le* 基因编码。具有活性 *Se* 位点的个体被称为分泌型,具有活性 *Le* 位点的个体被分类为 Lewis 阳性。基于 FUT2 和 FUT3 的表达,*Se*+ 和 *Le*+ 可以分泌所有的 HMOs;*Se*+ 和 *Le*- 能分泌 2'-FL、3-岩藻糖基乳糖(3'-FL)、乳糖-N-岩藻五糖 I (LNFP I) 和乳糖-N-岩藻五糖 III (LNFP III); *Se*- 和 *Le*+ 可分泌 3'-FL、乳糖-N-岩藻五糖 II (LNFP II) 和 LNFP III; *Se*- 和 *Se*- 可分泌 3'-FL、LNFP III 和 LNFP-V<sup>[15]</sup>。因此,这 4 组 HMOs 母乳成分存在显著差异。除遗传学外,其他母体因素,如产次和分娩方式、年龄、饮食和营养状况,甚至地理位置和季节性也会影响 HMOs 的母乳状况<sup>[16]</sup>。

## 2 HMOs 在婴儿肠道菌群建立中的作用

肠道微生物构成了一个多样且独特的生态系统,受到众多因素的影响。在影响肠道菌群定植的因素中,早期营养起着主导作用。母乳对婴儿肠道菌群塑造发挥着主体作用<sup>[17]</sup>。母乳和配方乳粉喂养的差异性影响了新生儿肠道菌群的组成和胃肠功能。婴儿出生后前 6 个月完全母乳喂养可以保护其肠道微生物群,增强其对外界影响的抵抗力<sup>[18]</sup>,

HMOs 在这方面发挥关键作用。由于缺乏糖苷水解酶和肠膜转运蛋白,大部分 HMOs 难以被婴儿的胃酸破坏和消化酶分解,而是以完整的形式到达远端小肠和大肠,成为常驻微生物的底物,有利于肠道有益微生物群生长繁殖,并形成肠道酸性环境,抑制可能破坏肠道健康共生关系的有害病原体,对婴儿肠道菌群的定植与平衡产生至关重要的影响。

### 2.1 HMOs 促进有益菌定植

HMOs 对婴儿健康所必需的肠道菌群定植有重要影响。在生命早期,有  $10^{14}$  个细菌定植于肠道<sup>[19]</sup>。大量研究发现,母乳中的 HMOs 是塑造人体肠道菌群的主要驱动力<sup>[11]</sup>。HMOs 可抵抗胃酸消化,并以高浓度进入婴儿肠道,从而影响婴儿肠道菌群的组成和维持肠道稳态<sup>[20]</sup>。HMOs 可支持有益菌的生长,例如双歧杆菌,其通常占母乳喂养婴儿粪便中检测到的总细菌群的 50%~90%<sup>[21]</sup>。肠道细菌对 HMOs 的利用方式高度依赖于结构,因此 HMOs 的利用方式因物种和菌株而异。双歧杆菌利用 HMOs 的方式包括胞外降解和细胞内消化 2 种。两歧双歧杆菌利用胞外多种糖苷酶(GHs)水解细胞外的 HMOs,分解成单糖和二糖并在周围环境中释放<sup>[22]</sup>。长双歧杆菌婴儿亚种、短双歧杆菌和长双歧杆菌通过 ATP 结合盒转运蛋白将 HMOs 转运到细胞内,然后被胞浆中的 GHs 水解成单糖或更小的寡糖。双歧杆菌将代谢的糖留在细胞外,还可以被其它细菌利用。Gotoh 等<sup>[22]</sup>的研究表明两歧双歧杆菌代谢 HMOs 导致糖的产生,从而刺激其它双歧杆菌的生长。HMOs 除了能够调节肠道中双歧杆菌的组成外,还可以直接与其它细菌相互作用,影响肠道微生物的分布。脆弱拟杆菌、普通拟杆菌、多行拟杆菌和粪拟杆菌能够在混合的 HMOs 上生长<sup>[23]</sup>。此外,乳-N-二糖(LNB)、藻糖基- $\alpha$ -1,3 乙酰葡萄糖胺(3'-FN)可以被乳杆菌属代谢<sup>[23]</sup>,乳-N-新四糖(LNT)、半乳糖-N-二糖(GNB)和乳-N-二糖(LNB)以及 GNB 也可以被罗斯氏菌利用<sup>[24]</sup>,它们在母乳喂养婴儿的肠道内稳态中同样发挥着作用<sup>[25]</sup>。

### 2.2 HMOs 防止病原菌黏附

HMOs 可以直接对病原菌的生长抑制作用,或抑制病原菌对肠黏膜的黏附能力。许多细菌、病

毒或毒素需要黏附于黏膜表面以定殖,然后侵入宿主并引起疾病<sup>[26]</sup>。当感染发生时,这些病原体通过其表面凝集素与宿主的上皮聚糖结合。一些HMOs类似于肠细胞表面聚糖受体,并作为可溶性诱饵受体,以阻断病原体和抑制黏附<sup>[27]</sup>。例如,引起慢性胃炎的幽门螺杆菌可以与含有唾液酸的低聚糖结合,阻止病原菌黏附在肠道细胞上<sup>[28]</sup>。已有多项研究证明了HMOs在体外和体内的抗黏连作用。体外研究证明2'-FL作为可溶性配体阻止空肠弯曲菌黏附于肠上皮细胞。Yu等<sup>[29]</sup>研究表明,给予5 g/L 2'-FL的小鼠可减少80%的空肠弯曲菌定植,抑制肠道炎症。此外,研究表明HMOs对B组链球菌(GBS)也表现出抗菌和抗菌膜效应,这是新生儿抵御侵袭性感染的主要原因<sup>[30-31]</sup>。从母乳中分离的HMOs可显著抑制高达89%的GBS生长和高达90%的生物膜形成。Ackerman等<sup>[30]</sup>发现,从人乳中分离的HMOs可抑制鲍曼不动杆菌(*A. Baumannii*)的黏附,抑制率为11%。此外,它还能抑制金黄色葡萄球菌达60%。

### 2.3 HMOs 维持婴儿肠道健康

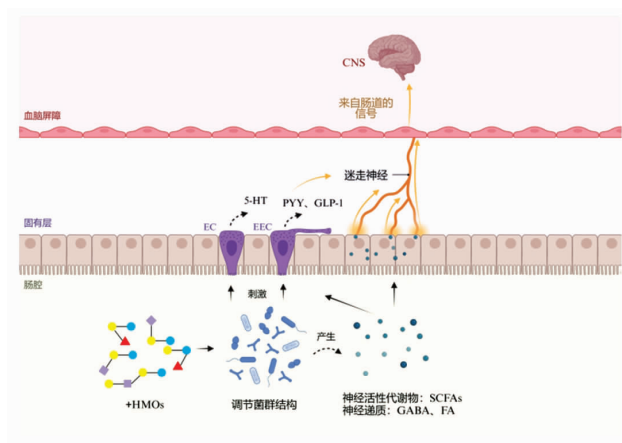
出生后,新生儿会接触到母体周围环境中的微生物,但并非所有微生物都能在婴儿的肠道内定植<sup>[32]</sup>,只有适应新生儿肠道环境的微生物才能存活。HMOs通过对婴儿肠道细菌的影响,在新生儿免疫功能的形成中发挥着关键作用。HMOs对好氧和厌氧菌的定殖可以促进婴儿微生物组生态学的进化(如双歧杆菌、梭菌)。由于这些肠道微生物对肠道上皮细胞(IECs)的持续相互作用、定植和刺激,新生的肠道免疫逐渐成熟<sup>[33-34]</sup>。益生菌或共生菌还可以附着在新形成的黏膜上皮细胞的外部,通过占位效应、营养竞争或分泌代谢物来阻断病原体<sup>[18]</sup>。短链脂肪酸(SCFAs)是肠上皮细胞的重要能量来源,可改善肠道屏障完整性、降低结肠pH值、减轻肠道细胞损伤<sup>[35-36]</sup>,是维持肠道健康的关键信号分子。HMOs可以间接增加SCFAs的产生,并调节肠道菌群,进而对新生儿健康产生积极影响<sup>[37]</sup>。Perdijk等<sup>[38]</sup>研究发现唾液酸乳糖和低聚半乳糖在体外促进上皮屏障功能,显著调节微生物组成和SCFAs的产生。Kim等<sup>[39]</sup>的研究发现SCFAs可以增加抗炎免疫细胞和细胞因子的活化,例如调节性T细胞。最新研究表明,在HMOs的干

预下,小鼠肠道中链球菌属、大肠杆菌、志贺氏菌属和乳球菌属的优势度降低,而乳杆菌属和毛螺菌属的丰度增加,且数量与SCFAs数量呈正相关关系<sup>[40]</sup>。它们能够黏附于IECs,阻断肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素6(IL-6)和白细胞介素23(IL-23)的产生,减轻炎症反应,加强肠道菌群结构,修复受损的肠黏膜<sup>[41]</sup>。

### 3 HMOs 对婴儿大脑认知的促进作用

母乳中的低聚糖、脂类等营养物质可以满足婴儿大脑发育的营养需求,促进婴儿大脑及神经系统发育。早在几十年前,人们就发现母乳喂养的婴儿比配方奶粉喂养的婴儿表现出更好的认知结果。Lucas等<sup>[42]</sup>比较了用不含HMOs的配方奶粉喂养的婴儿与母乳喂养的婴儿的认知发育,发现在18月龄之前,母乳喂养的早产儿认知能力得到改善,这种影响的部分原因可能是HMOs。越来越多研究发现,唾液化的HMOs能够通过上调多唾液酸化神经细胞黏附分子来影响神经发生,进而促进认知能力的改善。HMOs还能够多调节新生儿外周血周细胞因子反应,改善机体免疫系统,有助于后天认知功能的发育。HMOs不仅在神经认知发育中发挥直接作用,鉴于HMOs是独特有效的益生元,一些研究人员提出,母乳中的HMOs通过影响肠道微生物群的组成和功能,对大脑发育具有额外的益处。支持这一有趣假设的证据开始出现。啮齿动物的放射性标记实验表明,静脉注射<sup>13</sup>C标记的2'-FL和3'-唾液酸乳糖(3'-SL)不会直接导致大脑或其它器官中<sup>13</sup>C的显著富集,而是以微生物代谢物的形式进入体循环,并转运至大脑等各个器官,这可能是2'-FL<sup>[43]</sup>和3'-SL<sup>[44]</sup>的部分有益认知作用的原因,提示HMOs可能通过胃肠道内的作用对肠-脑轴产生影响,而不是直接进入大脑。HMOs通过肠-脑轴对认知促进作用如图2所示。

肠-脑轴是指胃肠道和中枢神经系统(CNS)之间重要的双向联系。它涉及大脑中认知和情感中心与外周肠道功能之间的直接和间接通路<sup>[45]</sup>。肠道微生物组已被确定为调节认知发育和健康的肠-脑轴中的一个环节<sup>[46]</sup>。一项前瞻性研究表明,与其它肠型相比,拟杆菌为主肠型的婴儿在以后



注:由 Biorender.com 创建。

图 2 HMOs 介导肠道微生物对大脑的影响

Fig.2 HMOs mediate the effects of gut microbiota on the brain

的生活中有更好的认知表现<sup>[47]</sup>。如上所述,HMOs可影响肠道微生物群的组成,特别是诱导双歧杆菌的生长。HMOs可以作为益生元促进有益菌生长,调节后的菌群通过肠-脑轴间接影响大脑发育<sup>[46]</sup>,并减少可导致脑损伤的炎症。在生命早期食用HMOs,特别是2'-FL,可改变肠-脑轴的各种调节因子,增加肠道中双歧杆菌的丰度,改善迷走传入信号<sup>[48]</sup>。体外研究表明,添加2'-FL、乳糖-N-新四糖(LNnT)及其组合可促进长双歧杆菌的增加<sup>[37]</sup>。长双歧杆菌对肠-脑轴有较强的影响<sup>[49]</sup>。一项大鼠实验表明<sup>[50]</sup>,包含长双歧杆菌R0175的益生菌制剂可通过肠-脑轴减轻脂多糖诱导的大鼠海马细胞凋亡,提示益生菌在某些神经退行性疾病中可能起有益作用。在人体试验中,阿尔茨海默病(AD)患者接受了为期12周的益生菌补充剂,其中包括长双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌。结果表明,益生菌的摄入对AD患者的认知状态具有有益影响<sup>[51]</sup>。Sutkus等<sup>[52]</sup>研究了给予日粮2'-FL和长双歧杆菌对幼猪大脑结构和功能发育的影响,补充引起了研究对象探索行为和大脑宏观/微观结构的一些有益改变。在体外,2'-FL增加了肠道微生物拟杆菌属(*Bacteroides*)和乳杆菌属(*Lactobacillus*)的丰度,相同肠道微生物的丰度增加与婴儿更好的认知能力有关<sup>[47]</sup>。

$\gamma$ -氨基丁酸(GABA)是CNS中神经递质之一,某些双歧杆菌和乳杆菌属物种含有负责GA-

BA生物合成和转运的基因<sup>[53]</sup>。这些物种在肠道中通过谷氨酸脱羧酶将谷氨酸单钠转化为GABA。肠道微生物来源的GABA可能局部作用于肠神经系统或迷走神经<sup>[54]</sup>。Bravo等<sup>[55]</sup>在小鼠模型中证明,GABA能系统功能的失调与应激相关的条件、记忆和认知障碍的发展都有关。在AD患者中也观察到额叶、颞叶和顶叶皮层的GABA水平降低。因此,肠道中GABA产生菌减少的菌群失调会导致GABA水平的降低,并与中枢神经系统中GABA水平降低相关<sup>[56]</sup>。HMOs可能通过刺激肠道中的双歧杆菌等GABA产生菌,增加中枢神经系统可利用的GABA水平,从而增加GABA的产生,进而促进认知。

另外,阿魏酸(FA)也是在肠-脑轴通信中发挥作用的神经递质之一。它的生物合成由肠道微生物群调节,一些肠道细菌能够产生参与合成FA的酶——阿魏酸酯酶(FAE)。Al-Khafaji等<sup>[56]</sup>证明HMOs可能通过有益细菌刺激FAE的产生间接促进FA的产生。在大鼠中,Oliveros等<sup>[57]</sup>也发现6'-唾液酸乳糖(6'-SL)增强FA。Yabe等<sup>[58]</sup>的研究表明,FA诱导成人神经干细胞增殖并刺激皮质酮处理的小鼠海马中脑源性神经营养因子(BDNF)的表达。BDNF已显示在鼠模型中神经元的发育和分化中起重要作用,也被认为对人类的学习和记忆发展是重要的<sup>[59]</sup>。BDNF诱导基底前脑中胆碱能神经元的分化和存活,以及乙酰胆碱的分泌。当BDNF被抑制时,可导致认知下降<sup>[60]</sup>。这表明,HMOs促进有益细菌的增殖可能会增加FA的生产,从而改善大脑健康。

肠道菌群和CNS之间的通讯也可以由微生物代谢物介导,包括SCFAs等。盲肠和结肠中的细菌利用未被上消化系统消化的HMOs,产生SCFAs作为主要代谢物,借助产生的细菌代谢物通过肠-脑轴与脑部建立联系。SCFAs中95%以上由乙酸、丙酸和丁酸盐组成。研究表明,醋酸盐给药可改善田鼠的认知缺陷,防止其发生食粪行为<sup>[61]</sup>。2'-FL已被证明可以改变小鼠盲肠微生物群和代谢物的组成,并且在这项研究中,有迹象表明迷走神经可能参与其中<sup>[62]</sup>。Vazquez等<sup>[63]</sup>的开创性工作表明,虽然摄入2'-FL改善了海马长时程增强(LTP),并提高了相关功能学习评估的分数,但迷

走神经远端部分的切断取消了这些益处。这项研究也证实了 2-FL 和/或其微生物代谢产物通过迷走神经发挥作用,以增强认知功能。5-羟色胺(5-HT)是认知的信号传递介质<sup>[64]</sup>。健康的肠道菌群组成可能在多种与 5-HT 代谢相关的中枢神经系统疾病中发挥作用,而 HMOs 可通过调节肠道微生物群,促使 SCFAs 的产生,在其中发挥重要作用。Kasarello 等<sup>[65]</sup>的研究表明肠嗜铬细胞(ECs)可以释放 5-HT,其可以激活迷走神经传入纤维上的 5-HT<sub>3</sub> 受体。研究对成年无菌的瑞士小鼠经口灌胃给予双歧杆菌活菌后发现,细菌产生的乙酸增加了 ECs 中 5-HT 的释放<sup>[66]</sup>。SCFAs 可能作为内分泌信号分子,从肠道进入体循环,通过单羧酸转运蛋白穿过血脑屏障(BBB)并到达大脑,在那里这些化合物可以直接影响大脑功能。猪模型中显示循环丁酸盐的增加可能对 CNS 有直接作用,影响脑代谢和海马神经发生<sup>[67]</sup>。SCFAs 还能够刺激小胶质细胞的活性,改变 BBB 通透性<sup>[68]</sup>。H<sup>+</sup>依赖的单羧酸转运子(MCT)在内皮细胞中的大量暴露可能促进了 SCFAs 的 BBB 渗透。此外,SCFAs 在维持 BBB 的完整性方面也起着重要作用。对无菌小鼠的研究显示,内皮细胞中紧密连接蛋白的表达降低,导致 BBB 通透性增加。反过来,复杂的微生物区系或产生 SCFAs 的单株细菌定植于成年无菌小鼠恢复了 BBB 的完整性<sup>[69]</sup>。BBB 通透性的增加可能导致认知障碍的发生<sup>[70]</sup>。SCFAs 也可以调节对学习记忆重要的信号分子的表达,例如 BDNF。已显示丁酸钠能够刺激啮齿动物中 BDNF 表达、神经发生和神经元增殖,并促进长期巩固<sup>[71]</sup>。已经发现胰高血糖素样肽-1(GLP-1)具有改善认知的能力<sup>[72]</sup>。肠内分泌细胞(EEC)对迷走神经的作用也可能是通过 GLP-1、肽 YY(PYY)等肠肽间接发挥作用,当 SCFAs 与 EECs 上的受体结合可以,刺激肠肽分泌,并通过迷走神经间接作用于 CNS<sup>[73-75]</sup>。

#### 4 结语

现有大量研究发现了人类母乳中各种 HMOs 的功能。如本文所述,HMOs 在婴儿肠道微生物组发育方面发挥重要作用,并支持发育中大脑的认知功能。HMOs 是益生元,有助于建立婴儿的微生物生态系统,这种益生元效应已经在某些特定的细菌物种中得到证实,如双歧杆菌和拟杆菌等。同时,HMOs 作为病原菌的诱饵,抑制病原体与上皮细胞的结合,维持婴儿肠道健康。肠道菌群介导 HMOs 与大脑发育有密切关系。HMOs 可以选择性增殖有益菌,调节后的菌群通过肠-脑轴与脑部建立联系,促进婴儿大脑发育。此外,HMOs 发酵形成细菌代谢产物(例如 SCFAs),然后借助产生的细菌代谢物,也可以通过肠-脑轴达到促进婴儿认知的作用。目前,关于 HMOs 通过肠-脑轴在认知中起作用的大量信息来自对动物模型的研究,这些研究虽然提供了相关信息,但目前还没有直接证据证明可应用于人类群体。因此,需要更多的研究来阐明 HMOs 介导肠道菌群及其在大脑发育中的重要性,以支持它们作为共生物引入婴儿配方食品,促进新生儿的肠道平衡和大脑健康。

#### 参 考 文 献

- [1] MEEK J Y, NOBLE L, BREASTFEEDING S O. Policy statement: Breastfeeding and the use of human milk[J]. *Pediatrics*, 2022, 150(1): e2022057988.
- [2] LIANG G X, ZHAO C Y, ZHANG H J, et al. The stepwise assembly of the neonatal virome is modulated by breastfeeding[J]. *Nature*, 2020, 581: 470-474.
- [3] MILANI C, DURANTI S, BOTTACINI F, et al. The first microbial colonizers of the human gut: Composition, activities, and health implications of the infant gut microbiota[J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2017, 81: e00036-17.
- [4] PHAN M, MOMIN S R, SENN M K, et al. Metabolomic insights into the effects of breast milk versus formula milk feeding in infants[J]. *Curr Nutr Rep*, 2019, 8(3): 295-306.
- [5] OKBURAN G, KIZILER S. Human milk oligosaccharides as prebiotics[J]. *Pediatr Neonatol*, 2023, 64(3): 231-238.
- [6] BOREWICZ K, GU F, SACCENTI E, et al. The association between breastmilk oligosaccharides and faecal microbiota in healthy breastfed infants at two, six, and twelve weeks of age[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 4270.
- [7] AUSTIN S, DE CASTRO C A, SPRENGER N, et

- al. Human milk oligosaccharides in the milk of mothers delivering term versus preterm infants[J]. *Nutrients*, 2019, 11(6): 1282.
- [8] BERGER P K, PLOWS J F, JONES R B, et al. Human milk oligosaccharide 2'-fucosyllactose links feedings at 1 month to cognitive development at 24 months in infants of normal and overweight mothers[J]. *PLoS One*, 2020, 15(2): e0228323.
- [9] BIDDULPH C, HOLMES M, KUBALLA A, et al. Human milk oligosaccharide profiles and associations with maternal nutritional factors: A scoping review[J]. *Nutrients*, 2021, 13(3): 965.
- [10] CHENG L, AKKERMAN R, KONG C, et al. More than sugar in the milk: Human milk oligosaccharides as essential bioactive molecules in breast milk and current insight in beneficial effects[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2021, 61(7): 1184-1200.
- [11] ZHANG S H, LI T L, XIE J, et al. Gold standard for nutrition: A review of human milk oligosaccharide and its effects on infant gut microbiota[J]. *Microb Cell Fact*, 2021, 20(1): 108.
- [12] 封肖颖, 荀一萍, 薛玉玲, 等. 母乳低聚糖对婴幼儿的健康影响及在配方奶粉中的应用[J]. *中国乳品工业*, 2022, 50(9): 40-46.
- FENG X Y, XUN Y P, XUE Y L, et al. Health effects of breast milk oligosaccharides on infants and their application in formula milk powder[J]. *China Dairy Industry*, 2022, 50(9): 40-46.
- [13] LI W S, WANG J X, LIN Y Y, et al. How far is it from infant formula to human milk? A look at the human milk oligosaccharides[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 118: 374-387.
- [14] EWALD D R, SUMNER S C J. Human microbiota, blood group antigens, and disease[J]. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*, 2018, 10(3): e1413.
- [15] VANDENPLAS Y, BERGER B, CARNIELLI V P, et al. Human milk oligosaccharides: 2'-fucosyllactose (2'-FL) and lacto-N-neotetraose (LNnT) in infant formula[J]. *Nutrients*, 2018, 10(9): 1161.
- [16] AZAD M B, ROBERTSON B, ATAKORA F, et al. Human milk oligosaccharide concentrations are associated with multiple fixed and modifiable maternal characteristics, environmental factors, and feeding practices[J]. *J Nutr*, 2018, 148(11): 1733-1742.
- [17] MOUBARECK C A. Human milk microbiota and oligosaccharides: A glimpse into benefits, diversity, and correlations[J]. *Nutrients*, 2021, 13(4): 1123.
- [18] CARVALHO R, II, DUARTE R T D, BRANDT K G, et al. Breastfeeding increases microbial community resilience[J]. *J Pediatr (Rio J)*, 2018, 94(3): 258-267.
- [19] HILLMAN E T, LU H, YAO T, et al. Microbial ecology along the gastrointestinal tract[J]. *Microbes Environ*, 2017, 32(4): 300-313.
- [20] ROUSSEAU A, BROSSEAU C, LE GALL S, et al. Human milk oligosaccharides: Their effects on the host and their potential as therapeutic agents[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 680911.
- [21] HAO H, ZHU L, FADEN H S. The milk-based diet of infancy and the gut microbiome[J]. *Gastroenterol Rep (Oxf)*, 2019, 7(4): 246-249.
- [22] GOTOH A, KATOH T, SAKANAKA M, et al. Sharing of human milk oligosaccharides degradants within *Bifidobacterial* communities in faecal cultures supplemented with *Bifidobacterium bifidum*[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 13958.
- [23] MARCOBAL A, BARBOZA M, FROEHLICH J W, et al. Consumption of human milk oligosaccharides by gut-related microbes[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(9): 5334-5340.
- [24] PICHLER M J, YAMADA C, SHUOKER B, et al. Butyrate producing colonic *Clostridiales* metabolise human milk oligosaccharides and cross feed on mucin via conserved pathways[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 3285.
- [25] WALSH C, LANE J A, VAN SINDEREN D, et al. Human milk oligosaccharides: Shaping the infant gut microbiota and supporting health[J]. *J Funct Foods*, 2020, 72: 104074.
- [26] WICINSKI M, SAWICKA E, GEBALSKI J, et al. Human milk oligosaccharides: Health benefits, potential applications in infant formulas, and pharmacology[J]. *Nutrients*, 2020, 12(1): 266.
- [27] TOWNSEND S D. Human milk oligosaccharides: Defense against pathogens[J]. *Breastfeed Med*, 2019, 14(S1): S5-S6.
- [28] MA J, GONG S, HE Y, et al. Effects of oral sialic acid on gut development, liver function and gut microbiota in mice[J]. *Lett Appl Microbiol*, 2021, 73(1): 20-25.
- [29] YU Z T, NANTHAKUMAR N N, NEWBURG D S. The human milk oligosaccharide 2'-fucosyllactose

- quenches campylobacter jejuni-induced inflammation in human epithelial cells HEp-2 and HT-29 and in mouse intestinal mucosa[J]. *J Nutr*, 2016, 146(10): 1980-1990.
- [30] ACKERMAN D L, DOSTER R S, WEITKAMP J H, et al. Human milk oligosaccharides exhibit antimicrobial and anti-biofilm properties against group B *Streptococcus*[J]. *ACS Infectious Diseases*, 2017, 3(8): 595-605.
- [31] LIN A E, AUTRAN C A, SZYSZKA A, et al. Human milk oligosaccharides inhibit growth of group B *Streptococcus*[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(27): 11243-11249.
- [32] SINGH R P, NIHARIKA J, KONDEPUDI K K, et al. Recent understanding of human milk oligosaccharides in establishing infant gut microbiome and roles in immune system[J]. *Food Research International*, 2022, 151: 110884.
- [33] EL-SALHY M, VALEUR J, HAUSKEN T, et al. Changes in fecal short-chain fatty acids following fecal microbiota transplantation in patients with irritable bowel syndrome[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2021, 33(2): e13983.
- [34] GONG L X, WANG H N, WANG T X, et al. Feruloylated oligosaccharides modulate the gut microbiota *in vitro* via the combined actions of oligosaccharides and ferulic acid[J]. *Journal of Functional Foods*, 2019, 60: 103453.
- [35] GEIRNAERT A, CALATAYUD M, GROOTAERT C, et al. Butyrate-producing bacteria supplemented *in vitro* to Crohn's disease patient microbiota increased butyrate production and enhanced intestinal epithelial barrier integrity[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 11450.
- [36] VALDES A M, WALTER J, SEGAL E, et al. Role of the gut microbiota in nutrition and health[J]. *BMJ*, 2018, 361: K2179.
- [37] SULIGOJ T, VIGSNAES L K, ABBEELE P V D, et al. Effects of human milk oligosaccharides on the adult gut microbiota and barrier function[J]. *Nutrients*, 2020, 12(9): 2808.
- [38] PERDIJK O, VAN BAARLEN P, FERNANDEZ-GUTIERREZ M M, et al. Sialyllactose and galactooligosaccharides promote epithelial barrier functioning and distinctly modulate microbiota composition and short chain fatty acid production *in vitro* [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 94.
- [39] KIM C H. Control of lymphocyte functions by gut microbiota-derived short-chain fatty acids[J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(5): 1161-1171.
- [40] PANG J, MA S P, XU X Y, et al. Effects of rhizome of *Atractylodes koreana* (nakai) kitam on intestinal flora and metabolites in rats with rheumatoid arthritis[J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 281: 114026.
- [41] QI C, LI Y, YU R Q, et al. Composition and immuno-stimulatory properties of extracellular DNA from mouse gut flora[J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(44): 7830-7839.
- [42] LUCAS A, MORLEY R, COLE T J, et al. Early diet in preterm babies and developmental status at 18 months[J]. *Lancet* 1990, 335: 1477-1481.
- [43] KUNTZ S, KUNZ C, BORSCH C, et al. Metabolic fate and distribution of 2'-fucosyllactose: Direct influence on gut microbial activity but not on brain[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2019, 63(13): e1900035.
- [44] GALUSKA C E, RUDLOFF S, KUNTZ S, et al. Metabolic fate and organ distribution of 13C-3'-sialyllactose and 13C-N-acetylneuraminic acid in wild-type mice - no evidence for direct incorporation into the brain[J]. *Journal of Functional Foods*, 2020, 75: 104268.
- [45] CRYAN J F, O'RIORDAN K J, COWAN C S M, et al. The microbiota-gut-brain axis[J]. *Physiol Rev*, 2019, 99(4): 1877-2013.
- [46] GAO W, BAUMGARTEL K L, ALEXANDER S A. The gut microbiome as a component of the gut-brain axis in cognitive health[J]. *Biol Res Nurs*, 2020, 22(4): 485-494.
- [47] CARLSON A L, XIA K, AZCARATE-PERIL M A, et al. Infant gut microbiome associated with cognitive development[J]. *Biol Psychiatry*, 2018, 83(2): 148-159.
- [48] LEE S, GOODSON M L, VANG W, et al. Human milk oligosaccharide 2'-fucosyllactose supplementation improves gut barrier function and signaling in the vagal afferent pathway in mice[J]. *Food Funct*, 2021, 12(18): 8507-8521.
- [49] ZHOU L, FOSTER J A. Psychobiotics and the gut-brain axis: In the pursuit of happiness[J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2015, 11: 715-723.
- [50] MOHAMMADI G, DARGAHI L, NASERPOUR T, et al. Probiotic mixture of *Lactobacillus helveticus*

- R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175 attenuates hippocampal apoptosis induced by lipopolysaccharide in rats[J]. *Int Microbiol*, 2019, 22(3): 317–323.
- [51] AKHGARJAND C, VAHABI Z, SHAB-BIDAR S, et al. Effects of probiotic supplements on cognition, anxiety, and physical activity in subjects with mild and moderate Alzheimer's disease: A randomized, double-blind, and placebo-controlled study[J]. *Front Aging Neurosci*, 2022, 14: 1032494.
- [52] SUTKUS L T, JOUNG S, HIRVONEN J, et al. Influence of 2'-fucosyllactose and *Bifidobacterium longum* subspecies infantis supplementation on cognitive and structural brain development in young pigs[J]. *Front Neurosci*, 2022, 16: 860368.
- [53] BARRETT E, ROSS R P, OTOOLE P W, et al. Gamma-aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine[J]. *J Appl Microbiol*, 2017, 113(2): 411–417.
- [54] CHEN Y J, XU J Y, CHEN Y. Regulation of neurotransmitters by the gut microbiota and effects on cognition in neurological disorders [J]. *Nutrients*, 2021, 13(6): 2099.
- [55] BRAVO J A, FORSYTHE P, CHEW M V, et al. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(38): 16050–16055.
- [56] AL-KHAFAJI A H, JEPSEN S D, CHRISTENSEN K R, et al. The potential of human milk oligosaccharides to impact the microbiota-gut-brain axis through modulation of the gut microbiota[J]. *Journal of Functional Foods*, 2020, 74: 104176.
- [57] OLIVEROS E, VAZQUEZ E, BARRANCO A, et al. Sialic acid and sialylated oligosaccharide supplementation during lactation improves learning and memory in rats[J]. *Nutrients*, 2018, 10(10): 1519.
- [58] YABE T, HIRAHARA H, HARADA N, et al. Ferulic acid induces neural progenitor cell proliferation *in vitro* and *in vivo*[J]. *Neuroscience*, 2010, 165(2): 515–524.
- [59] BUROKAS A, ARBOLEYA S, MOLONEY R D, et al. Targeting the microbiota-gut-brain axis: Prebiotics have anxiolytic and antidepressant-like effects and reverse the impact of chronic stress in mice[J]. *Biol Psychiatry*, 2017, 82(7): 472–487.
- [60] SAHIN T D, KARSON A, BALCI F, et al. TNF-alpha inhibition prevents cognitive decline and maintains hippocampal BDNF levels in the unpredictable chronic mild stress rat model of depression [J]. *Behav Brain Res*, 2015, 292: 233–240.
- [61] BO T B, ZHANG X Y, KOHL K D, et al. Coprophagy prevention alters microbiome, metabolism, neurochemistry, and cognitive behavior in a small mammal[J]. *ISME J*, 2020, 14(10): 2625–2645.
- [62] LEE S, GOODSON M, VANG W, et al. 2'-Fucosyllactose supplementation improves gut-brain signaling and diet-induced obese phenotype and changes the gut microbiota in high fat-fed mice[J]. *Nutrients*, 2020, 12(4): 1003.
- [63] VAZQUEZ E, BARRANCO A, RAMIREZ M, et al. Dietary 2'-fucosyllactose enhances operant conditioning and long-term potentiation via gut-brain communication through the vagus nerve in rodents [J]. *PLoS One*, 2016, 11(11): e0166070.
- [64] WAN M J, DING L L, WANG D, et al. Serotonin: A potent immune cell modulator in autoimmune diseases[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 186.
- [65] KASARELLO K, CUDNOCH-JEDRZEJEWSKA A, CZARZASTA K. Communication of gut microbiota and brain via immune and neuroendocrine signaling [J]. *Front Microbiol*, 2023, 14: 1118529.
- [66] ENGEVIK M A, LUCK B, VISUTHRANUKUL C, et al. Human-derived *Bifidobacterium dentium* modulates the mammalian serotonergic system and gut-brain axis[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2021, 11(1): 221–248.
- [67] VAL-LAILLET D, GUERIN S, COQUERY N, et al. Oral sodium butyrate impacts brain metabolism and hippocampal neurogenesis, with limited effects on gut anatomy and function in pigs[J]. *FASEB J*, 2018, 32(4): 2160–2171.
- [68] STRANDWITZ P. Neurotransmitter modulation by the gut microbiota[J]. *Brain Res*, 2018, 1693 (Pt B): 128–133.
- [69] BRANISTE V, AL-ASMAKH M, KOWAL C, et al. The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice[J]. *Science Translational Medicine*, 2014, 6(263): 158.
- [70] ESCOBAR Y H, O-PIELA D, WOLD L E, et al. Influence of the microbiota-gut-brain axis on cognition in Alzheimer's disease [J]. *J Alzheimers Dis*, 2022, 87(1): 17–31.



- [71] SILVA Y P, BERNARDI A, FROZZA R L. The role of short-chain fatty acids from gut microbiota in gut-brain communication[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2020, 11: 25.
- [72] YARIBEYGI H, RASHIDY-POUR A, ATKIN S L, et al. GLP-1 mimetics and cognition[J]. *Life Sci*, 2021, 264: 118645.
- [73] BLISS E S, WHITESIDE E. The gut-brain axis, the human gut microbiota and their integration in the development of obesity[J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 900.
- [74] MARTIN C R, OSADCHIY V, KALANI A, et al. The brain-gut-microbiome axis[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2018, 6(2): 133-148.
- [75] DALILE B, VAN OUDENHOVE L, VERVLiet B, et al. The role of short-chain fatty acids in microbiota-gut-brain communication[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16(8): 461-478.

### Effects of Human Milk Oligosaccharides on Intestinal Flora and Cognitive Function of Infants

Ma Meihong<sup>1</sup>, Wu Rina<sup>1,2,3</sup>, Liu Yumeng<sup>1</sup>, Ding Ruixue<sup>1</sup>, Wu Junrui<sup>1,2,3\*</sup>

*(<sup>1</sup>Food College of Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866*

*<sup>2</sup>Liaoning Province Food Fermentation Technology Engineering Research Center, Shenyang 110866*

*<sup>3</sup>Shenyang Key Laboratory of Microbial Fermentation Technology Innovation, Shenyang 110866)*

**Abstract** Human milk oligosaccharides (HMOs) are complex carbohydrates with unique structures in human milk, and their diversity is much higher than that of other mammalian milk. The functional role of HMOs can continue from the initial establishment of infant gut microbiota to adulthood, including supporting beneficial bacterial growth and anti-pathogen adhesion. It also has the potential to produce beneficial effects in cognition. It is worth further studying whether HMOs can promote the healthy development of the infant brain by regulating the intestinal flora and using the gut-brain axis. This paper reviewed the composition and structure of HMOs, focused on the role of HMOs in shaping the intestinal flora of infants, and discussed the promotion of HMOs and their metabolites on infant cognition through the gut-brain axis, aiming to provide a theoretical reference for promoting the application of HMOs in infant formula.

**Keywords** human milk oligosaccharides; intestinal flora; brain development