

芬氏另枝菌促进炎症性肠病发展及其机制

郝自创^{1,2}, 李东^{2,3}, 童江辉², 覃小铭^{1,2}, 张欢², 王雅婧², 杨瑞馥²,
谭亚芳², 毕玉晶^{2*}, 智发朝^{1*}

1 南方医科大学 南方医院, 广东 广州

2 军事医学研究院, 病原微生物与生物安全全国重点实验室, 北京

3 安徽医科大学 基础医学院, 安徽 合肥

郝自创, 李东, 童江辉, 覃小铭, 张欢, 王雅婧, 杨瑞馥, 谭亚芳, 毕玉晶, 智发朝. 芬氏另枝菌促进炎症性肠病发展及其机制[J]. 微生物学报, 2025, 65(3): 1108-1118.

HAO Zichuang, LI Dong, TONG Jianghui, QIN Xiaoming, ZHANG Huan, WANG Yajing, YANG Ruifu, TAN Yafang, BI Yujing, ZHI Fachao. *Alistipes finegoldii* promotes the development of inflammatory bowel disease: effect and mechanism[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(3): 1108-1118.

摘要: 【目的】探究芬氏另枝菌(*Alistipes finegoldii*)对炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的影响, 并进一步阐明其潜在的相关致病机制。【方法】6周龄的雄性 C57BL/6J 小鼠在饮用链霉素 3 d 后, 被随机分为 3 组: 对照组(Control 组)、PBS 组和给菌组(AF 组)。通过灌胃给予芬氏另枝菌(每只 1×10^9 CFU/200 μ L)或 PBS, 持续 2 周。之后, 小鼠饮用含有 2.5% 葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)的水溶液 1 周以诱导结肠炎模型。评估小鼠的体重下降分数、粪便性状、血便情况、结肠长度, 对结肠组织进行 HE 染色并进行组织病理评分; 于实验开始及结束时收集小鼠粪便, 进行 16S rRNA 基因扩增子测序; 用实时定量聚合酶链式反应(qPCR)检测结肠组织相关肠屏障蛋白和炎症因子的 mRNA 表达。【结果】AF 组小鼠的体重下降分数、疾病活动度指数评分、结肠缩短程度及组织病理评分均高于 PBS 组。肠屏障的紧密连接蛋白 Occludin、Claudin 5 的 mRNA 表达相较于 PBS 组下降, 而炎症因子 IL-17A 的 mRNA 表达则升高。AF 组相较于 PBS 组的肠道菌群 α 多样性降低; β 多样性分析显示两组间肠道菌群多样性存在显著性差异。线性判别分析效应大小(linear discriminant analysis effect size, LEfSe)分析发现, 给菌组与 PBS 组之间存在显著差异的细菌类群: 在纲水平上, 芽孢杆菌纲(*Bacilli*); 在目水平上, 丹毒丝菌目(*Erysipelotrichales*); 在科水平上, 丹毒丝菌科(*Erysipelotrichaceae*)、海生线状菌科(*Marinifilaceae*); 在属水平上, 气杆菌属(*Odoribacter*)、杜博斯氏菌属(*Dubosiella*); 在种水平上, 纽约杜博斯氏菌(*Dubosiella newyorkensis*), 在给菌组中显著高于 PBS 组。【结论】芬氏另枝菌能够促进炎症因子的

资助项目: 国家自然科学基金(82172729); 广东省胃肠疾病重点实验室项目(2017B030314037)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (82172729) and the Guangdong Provincial Key Laboratory of Gastroenterology Project (2017B030314037).

*Corresponding authors. E-mail: BI Yujing, byj7801@sina.com; ZHI Fachao, zhifc41532@163.com

Received: 2024-11-12; Accepted: 2024-12-09; Published online: 2025-01-23

分泌, 损害肠黏膜通透性, 改变肠道菌群的结构和多样性, 从而加剧肠炎的发展。

关键词: 炎症性肠病; 肠道菌群; 芬氏另枝菌; 肠道屏障

Alistipes fingoldii promotes the development of inflammatory bowel disease: effect and mechanism

HAO Zichuang^{1,2}, LI Dong^{2,3}, TONG Jianghui², QIN Xiaoming^{1,2}, ZHANG Huan², WANG Yajing², YANG Ruifu², TAN Yafang², BI Yujing^{2*}, ZHI Fachao^{1*}

1 Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong, China

2 State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity, Academy of Military Medical Sciences, Beijing, China

3 School of Basic Medical Sciences, Anhui Medical University, Hefei, Anhui, China

Abstract: **[Objective]** To study the effect of *Alistipes fingoldii* (AF) on inflammatory bowel disease (IBD) and the underlying mechanism. **[Methods]** Six-week-old male C57BL/6J mice were administrated with streptomycin for three days and then randomly assigned into the control, phosphate buffered saline (PBS), and AF groups. Mice were administrated with AF suspension (1×10^9 CFU, 200 μ L per mouse) or PBS by gavage for two weeks, followed by drinking of the water containing 2.5% dextran sulfate sodium (DSS) for one week for the modeling of colitis. The weight loss fraction percentage, fecal characteristics, blood fecesstools, and colon length were determined. The colon tissue was stained with hematoxylin-eosin for the scoring of histopathological changes, and feces samples were collected at the beginning and end of the experiment for sequencing of 16S rRNA gene amplicons at the beginning and end of the experiment. The mRNA levels of colon tissue-associated intestinal barrier proteins and inflammatory mediators were determined by qPCR. **[Results]** The mice in the AF group had severer disease conditions than those in the PBS group regarding the weight loss percentage, disease activity index, colon shortening, and histopathological score. Compared with the PBS group, the AF group showed down-regulated mRNA levels of occludin and claudin 5 and up-regulated mRNA level of interleukin (IL) -17A. The AF group had lower alpha diversity of intestinal flora than the PBS group, and the beta diversity showed significant differences between AF and PBS groups. The linear discriminant analysis effect size (LEfSe) results revealed that the significantly differential bacteria between AF and PBS groups were *Bacilli*, *Erysipelotrichales*, *Erysipelotrichaceae*, *Odoribacter*, *Marinifilaceae*, *Dubosiella*, and *Dubosiella newyorkensis*. **[Conclusion]** AF promotes the secretion of inflammatory mediators, impairs the permeability of the intestinal mucosa, and alters the structure and diversity of the intestinal flora, thereby promoting the development of IBD.

Keywords: inflammatory bowel disease; intestinal flora; *Alistipes fingoldii*; intestinal barrier

炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 是一种病因尚不明确的肠道慢性炎症性疾病, 临床上最常见的 2 种亚型为克罗恩病 (Crohn's disease, CD) 和溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC)。尽管 IBD 的确切病因在很大程度上仍不清楚, 但近年来的研究表明, 个体遗传易感性、外部环境因素、肠道微生物菌群以及免疫反应均参与了 IBD 的发病机制^[1-3]。IBD 的发生常伴有肠道黏膜屏障的损害, 特别是上皮细胞的紧密连接结构受损^[4]。当肠道屏障被破坏后, 致病微生物进入黏膜, 进而引发炎症细胞的募集和大量炎症因子的分泌, 从而进一步加剧黏膜损伤^[5-6]。

肠道微生物菌群是一个与宿主共同进化的复杂群落, 具有多种功能, 包括协助代谢营养物质、调节免疫反应和抵御病原体入侵^[7]。然而, 当肠道细菌与宿主免疫反应之间的正常平衡关系失调时会导致肠道炎症的发生。事实上, 越来越多的证据表明, 肠道菌群在肠道疾病的发病过程中扮演着至关重要的角色, 甚至可能是核心因素^[4,8-9]。

肠道菌群失调与 IBD 之间的关系是动态的、复杂的, 并且相互作用、互为因果^[10]。一方面, IBD 发生时肠道的屏障功能受损, 形成肠漏, 导致有害微生物过多地进入黏膜固有层, 这些有害微生物的大量定殖会抑制其他共生菌的生长, 从而导致肠道菌群的失调^[11]。另一方面, 肠道菌群失调又会进一步加剧肠道的免疫耐受紊乱, 使机体的免疫反应过度激活^[12]。同时, 肠道菌群失调还会引起肠道代谢物的改变, 而这些代谢物的变化也影响着 IBD 的进程, 例如通过抑制胆汁酸的代谢和某些短链脂肪酸的合成来加重 IBD 的发生^[13-14]。

芬氏另枝菌 (*Alistipes finegoldii*) 是另枝菌属的一种细菌, 常定殖于人的消化道中。此外,

Shkoporov 等^[15]指出在阑尾炎、腹腔脓肿和直肠脓肿等样本中也可分离出该菌株。关于 *A. finegoldii* 在 IBD 中的作用存在相互矛盾的研究结论。Dziarski 等^[16]的研究显示, 芬氏另枝菌在结肠炎中具有抗炎作用; 而另一些研究则发现, *A. finegoldii* 在 IBD 和结直肠癌中促进了炎症和肿瘤的发展^[17-18]。前期, 我们在结直肠癌患者的粪便样本中发现并分离了多株 *A. finegoldii*, 并在体外实验中检测了其促进免疫细胞分泌炎症因子的情况, 本研究中将进一步探讨 *A. finegoldii* 对 IBD 的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选择 6 周龄、雄性野生型无特定病原体 (specific-pathogen-free, SPF) 级 C57BL/6J 小鼠 (北京维通利华实验动物技术有限公司), 饲养于军事医学研究院实验动物中心。动物实验通过伦理委员会审核, 伦理编号: IACUC-DWZX-2024-012。

1.2 主要试剂

RNA 提取试剂盒 FastPure Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit V2、逆转录试剂盒 *Taq* Pro Universal SYBR qPCR Master Mix 和 HiScript III RT SuperMix for qPCR 试剂盒均购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司; 链霉素和粪便隐血定性检测试剂盒均购自北京索莱宝科技有限公司; 葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium salt, DSS) 购自 MP 公司; 哥伦比亚血平板购自 Thermo Fisher Scientific 公司。

1.3 实验分组

小鼠混养 1 周后, 随机分为 3 组: Control 组、PBS 组和 AF 组, 每组 12 只。先饲喂含有链霉素的饮用水 3 d 便于灌胃细菌定殖, 之后 AF 组给予芬氏另枝菌灌胃 (每只小鼠每天 1×10^9 CFU/200 μ L), Control 组和 PBS 组给予相

同体积的 PBS 溶液, 灌胃 2 周。灌胃结束后, AF 组和 PBS 组饲喂 2.5% DSS 的饮用水, Control 组正常饮水, 每天测量小鼠的体重、记录小鼠粪便性状, 方法参考文献[8]。疾病活动指数(disease activity index, DAI)评分细则见表 1, 小鼠处死后结肠组织送至武汉赛维尔生物科技有限公司进行 HE 染色及病理评分, 病理评分细则见表 2。

1.4 细菌培养

本研究所用芬氏另枝菌来自课题组前期从

结肠癌患者粪便中分离, 使用哥伦比亚血平板培养, 放置在厌氧箱(80% N₂+10% H₂+10% CO₂)中, 37 °C 培养 48 h。在血平板上加入适量 PBS 溶液, 用涂布棒把菌落刮去, 收集菌液, 于 4 °C、5 000 r/min 离心 8 min 后重悬, 调整浓度为 5×10⁹ CFU/mL 的细菌悬液用于灌胃。

1.5 小鼠粪便收集

在实验起点和终点分别收集小鼠粪便于 1.5 mL 的无菌 EP 管中, 之后迅速转移到-80 °C 冰箱中保存。实验中涉及的引物序列如表 3 所示。

表1 疾病活动指数评分

Table 1 Disease activity index

Score	Percentage of weight loss (%)	Faecal viscosity	Blood feces
0	<1	Dry, hard	Negative occult blood test
1	1-5	Wet, hard	
2	5-10	Soft, sticky	Positive occult blood test
3	10-20	Soft, loose	
4	>20	Loose stool	Blood feces

表2 病理评分

Table 2 Histopathologic scores

Score	Mucosal damage	Inflammatory cell infiltration
0	Normal	No infiltration
1	Mild loss of crypts	Sporadic infiltration
2	Moderate loss of crypts	Submucosal infiltration increased
3	Severe loss of crypts	Submucosal nest-like infiltration
4	Full-layer erosion and ulceration	Transmural infiltration

表3 小鼠肠道紧密连接蛋白和炎症因子引物的序列

Table 3 Sequences of mouse intestinal tight junction proteins and inflammatory factor primers

Primers name	Primer sequences (5'→3')
Gapdh-F	ATCACTGCCACCCAGAAGACTG
Gapdh-R	ATGCCAGTGAGCTTCCCCTTCAG
Occludin-F	CTGCTGCTGATGAATATAATAG
Occludin-R	CCTCTTGATGTGCGATAA
Claudin 5-F	GCTCTCAGAGTCCGTTGACC
Claudin 5-R	CTGCCCTTTCAGGTTAGCAG
IL-17A-F	TTTAACTCCCTTGGCGCAAAA
IL-17A-R	CTTCCCTCCGCATTGACAC
TNF-α-F	CCCTCACACTCAGATCATCTTCT
TNF-α-R	GCTACGACGTGGGCTACAG

1.6 统计学分析

连续变量的组间比较在满足正态性条件时, 采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 使用独立样本 t 检验; 否则使用秩转换的非参数检验(Mann-Whitney U 检验)。本研究的统计分析均采用双侧检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。作图时, $*P < 0.05$; $**P < 0.01$; $***P < 0.001$; $****P < 0.0001$ 。

2 结果与分析

2.1 芬氏另枝菌加重了 DSS 诱导的急性结肠炎

DSS 诱发的结肠炎是模拟 IBD 的常用动物模型。使用 DSS 诱导的急性结肠炎小鼠模型, 研究了 *Alistipes finegoldii* 对结肠炎的影响及其

作用机制。用链霉素处理无特异性病原体的 C57BL/6J 小鼠, 以促进 *A. finegoldii* 在肠道的定殖, 然后用 *A. finegoldii* 灌胃(图 1A)。通过连续监测并记录每组的体重、粪便稠度和粪血情况, 发现与对照组和 PBS 组相比, *A. finegoldii* 灌胃组的小鼠体重下降程度和疾病活动度指数显著升高($P < 0.05$, $P < 0.001$, 图 1B、1C)。处死小鼠后发现, *A. finegoldii* 灌胃组的小鼠结肠长度较 PBS 组明显缩短($P < 0.05$, 图 1D、1E)。这些结果表明 *A. finegoldii* 加重了 DSS 诱导的急性结肠炎。

2.2 芬氏另枝菌损害了肠道黏膜屏障

肠黏膜的炎症和结构破坏是炎症性肠病的病理特征, 对小鼠结肠进行 HE 染色后观察发

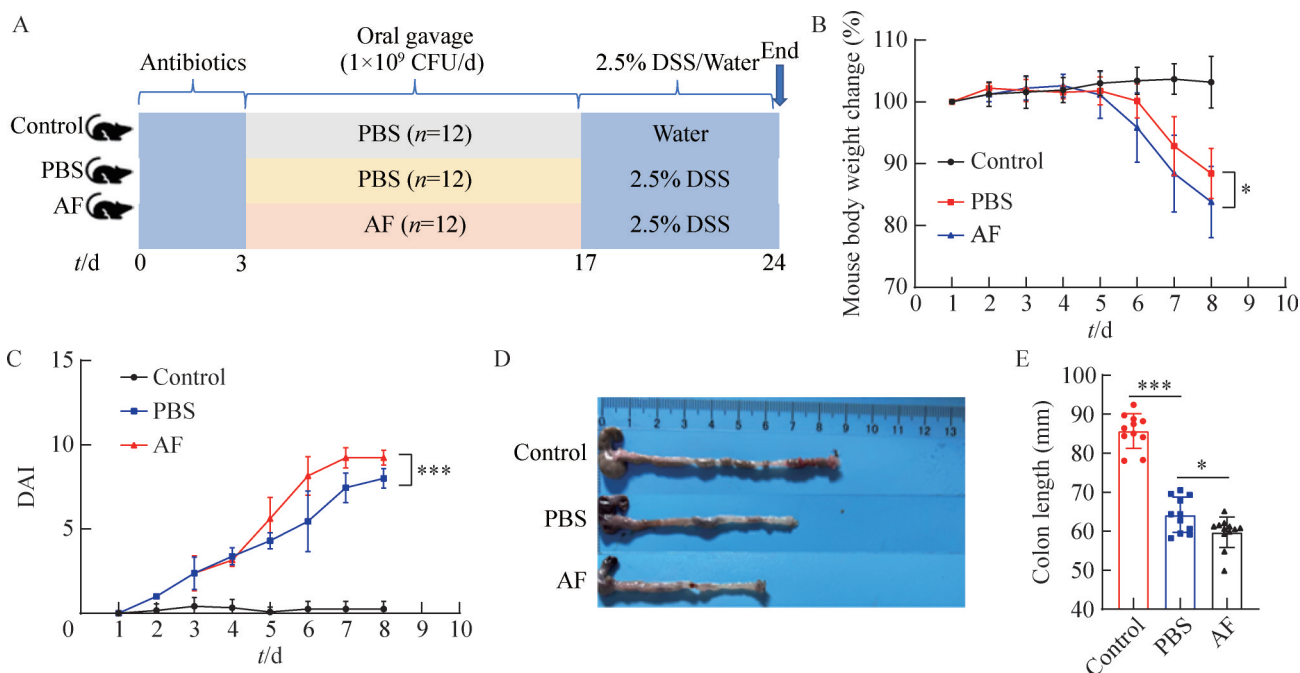


图1 芬氏另枝菌加重了DSS诱导的急性结肠炎。A: 给小鼠饲喂含有2 mg/mL链霉素的饮用水3 d, 然后灌胃0.2 mL PBS或0.2 mL 1×10^9 CFU的芬氏另枝菌2周, 再喂食水或2.5% DSS 7 d; B: 小鼠体重变化; C: DAI评分; D: 代表性结肠图像; E: 小鼠结肠长度。

Figure 1 *Alistipes finegoldii* exacerbates DSS-induced acute colitis. A: Mice were given 3 days of water containing 2 mg/mL streptomycin, followed by 2 weeks of gavage of 0.2 mL of PBS or 0.2 mL of 1×10^9 CFU of *Alistipes finegoldii*, followed by 7 days of water or 2.5% DSS; B: Mouse body weight change; C: DAI score; D: Representative colon image; E: Length of mouse colon.

现, PBS 组和 AF 组肠组织黏膜均可见大范围溃疡, 黏膜上皮及隐窝结构消失, 并伴有大量淋巴细胞、粒细胞浸润。根据黏膜损伤和炎性细胞浸润情况的组织病理评分显示, AF 组小鼠结肠炎症程度更高($P<0.05$, 图 2A、2B)。肠上皮屏障是抵御管腔病原体 and 抗原的第一道防线, 肠道屏障受损是 IBD 的重要发病机制。Occludin 和 Claudin 是 2 种重要的紧密连接膜蛋白, 它们的正常表达和功能对于维持细胞间的紧密连接

结构和生理功能至关重要。通过测定小鼠肠组织中 Occludin 和 Claudin 的表达水平可以评估肠道的黏膜屏障功能。研究发现, AF 组小鼠较 PBS 组 Occludin 和 Claudin 5 的表达均出现下调($P<0.05$, $P<0.01$, 图 2C、2D)。同时, 检测了组织内炎症因子的表达情况, 发现两组 TNF- α 的表达差异不明显(图 2E), 而 AF 组 IL-17A 的表达较 PBS 组出现明显的上调($P<0.05$, 图 2F)。以上结果表明, *A. fingoldii* 能够损伤肠道黏膜

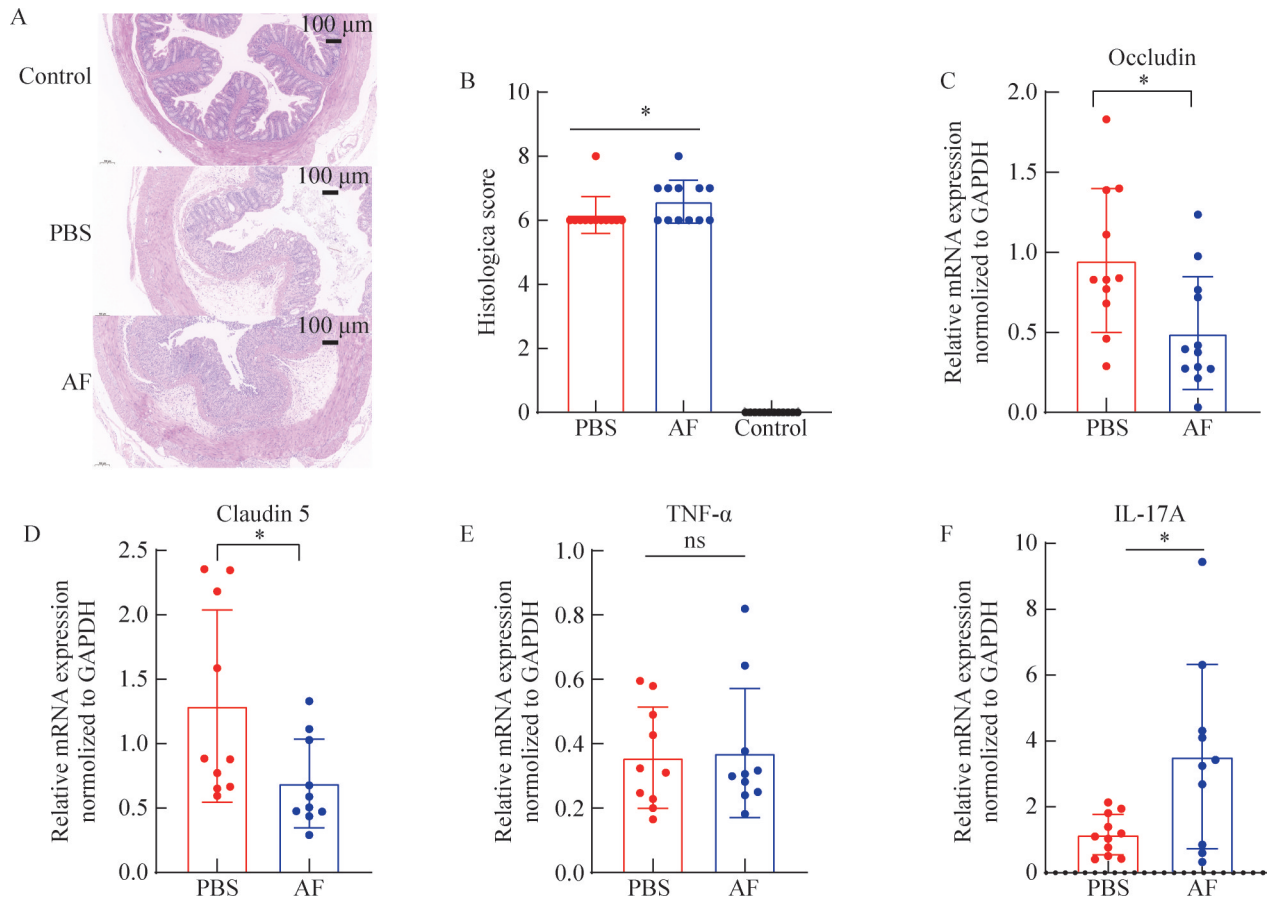


图2 芬氏另枝菌损害肠道黏膜屏障、促进炎症因子的分泌。A: 代表性的HE染色图像, 比例尺: 100 μm ; B: HE染色的组织学评分; C、D: 小鼠肠道组织中紧密连接蛋白(Occludin、Claudin 5)的表达; E、F: 炎症因子TNF- α 和IL-17A在小鼠肠道组织中的表达。

Figure 2 *Alistipes fingoldii* impairs the intestinal mucosal barrier and promotes the secretion of inflammatory factors. A: Representative image of HE staining, scale bar: 100 μm ; B: Histological scoring of HE staining; C, D: Expression of tight junction proteins (Occludin, Claudin 5) in mouse intestinal tissue; E, F: Expression of inflammatory factors TNF- α and IL-17A in mouse intestinal tissues.

屏障，促进炎症因子的分泌，从而加重肠道炎症的进展。

2.3 芬氏另枝菌改变了肠道菌群的结构

2.3.1 肠道菌群门和属水平丰度以及菌群多样性变化

肠道菌群在炎症性肠病的发病机制中发挥着重要作用。16S rRNA 基因测序技术的进步使得对肠道菌群的研究更加便利。收集小鼠实验终点时的粪便进行 16S rRNA 基因测序，以探究 *A. fingoldii* 灌胃后小鼠肠道菌群的变化。在门水平上，相较于对照组，PBS 组和 AF 组的拟杆

菌门(*Bacteroidota*)、放线菌门(*Actinobacteriota*)丰度均有所下降，其中 AF 组下降的程度更大，而疣微菌门(*Verrucomicrobia*)、变形菌门(*Proteobacteria*)的丰度则有所上升，AF 组上升的程度更大(图 3A)。在属水平上，乳杆菌属(*Lactobacillus*)、宿主关联乳杆菌属(*Ligilactobacillus*)、肠杆状菌属(*Enterorhabdus*)的丰度均有所下降，AF 组下降的程度更为显著；罗姆布茨菌属(*Romboutsia*)、苏黎世杆菌属(*Turicibacter*)、拟杆菌属(*Bacteroides*)、杜博西氏菌属(*Dubosiella*)的丰度有所上升，AF 组上升的程度更大

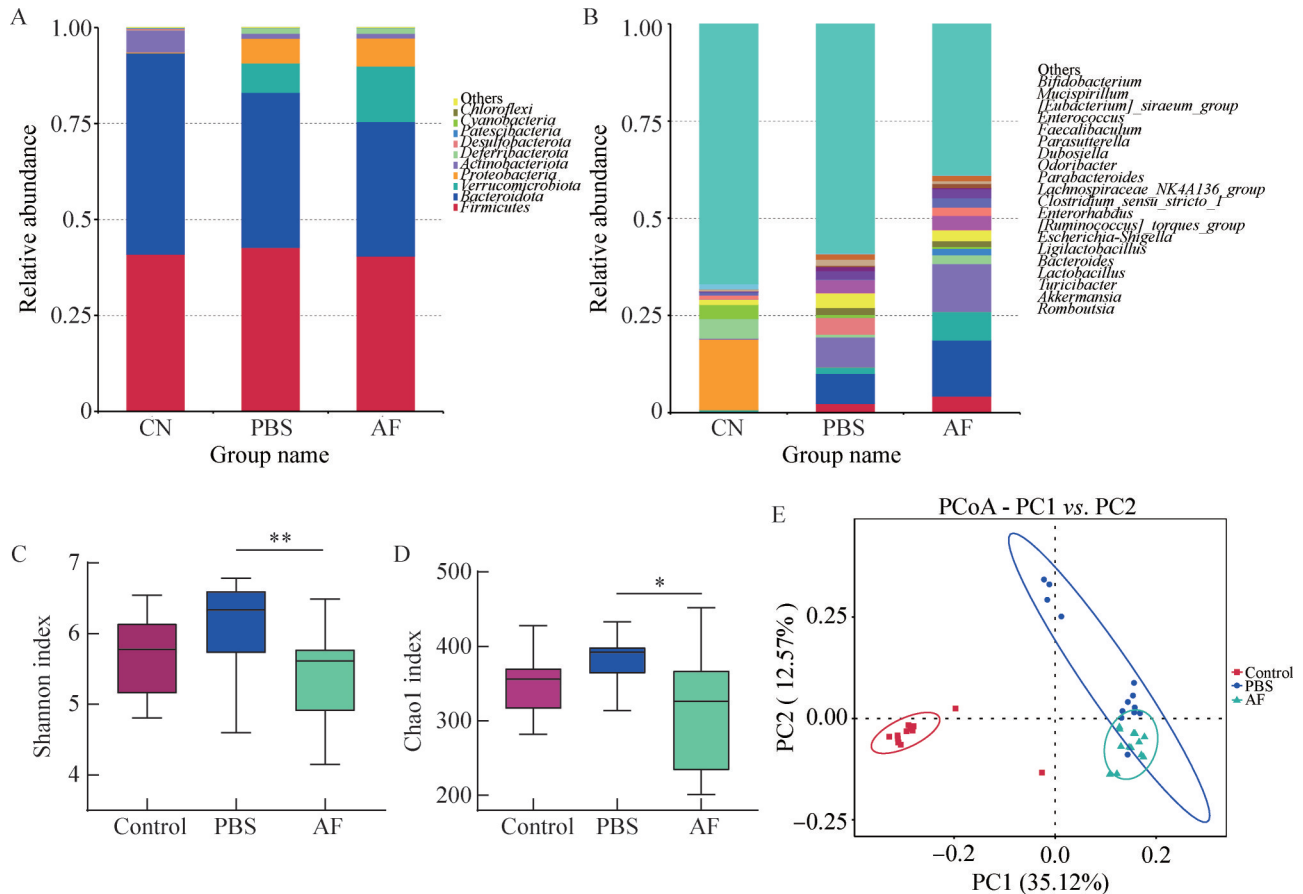


图3 芬氏另枝菌灌胃后改变了肠道菌群的组成。A: 门水平相对丰度的前10个物种；B: 属水平相对丰度最高的20个物种；C: Shannon指数；D: Chao1指数；E: PCoA分析。

Figure 3 *Alistipes fingoldii* altered the composition of the intestinal flora after gavage. A: Top 10 species in relative abundance at the phylum level; B: Top 20 species in relative abundance at the genus level; C: Shannon index; D: Chao1 index; E: PCoA analysis.

(图 3B)。α 多样性用于分析样本组内的微生物群落多样性, 通过组内样本的多样性分析(α 多样性)可以反映微生物群落的丰富度和多样性, 常用的判断指标包括 Chao1 指数、观测物种指数(observed OTUs)、Shannon 指数和 Pielou 均匀度指数。通过分析发现 AF 灌胃组的 Chao1 指数($P=0.014$), Shannon 指数($P=0.0016$)均显著低于 PBS 组(图 3C、3D)。β 多样性则用于对不同组间的微生物群落构成进行比较分析, 通过 β 多样性指数组间差异分析、主成分分析(principal component analysis, PCA)和主坐标分析(principal co-ordinates analysis, PCoA), 结果显示对照组、PBS 组和 AF 组的肠道菌群组成结构差异明显(图 3E)。

2.3.2 差异细菌分析

为进一步识别肠道菌群中的差异物种, 进行了线性判别分析效应大小(linear discriminant analysis effect size, LEfSe)分析。LEfSe 分析能够基于 LDA 效应大小发现组间在不同菌群、不同种属水平上存在统计学差异的生物标志物, 即确定组间具有显著差异的物种。结果显示(图 4A、4B), 在纲水平上, 芽孢杆菌纲(*Bacilli*);

在目水平上, 丹毒丝菌目(*Erysipelotrichales*); 在科水平上, 丹毒丝菌科(*Erysipelotrichaceae*)和海生线状菌科(*Marinifilaceae*); 在属水平上, 气杆菌属(*Odoribacter*)和杜博斯氏菌(*Dubosiella*); 在种水平上, 纽约杜博斯氏菌(*Dubosiella newyorkensis*)等, AF 组中显著高于 PBS 组。

3 讨论与结论

IBD 的病因涉及多方面因素, 包括宿主的遗传易感性、肠道微生物群、其他环境因素和宿主免疫系统。目前, 越来越多的研究证明肠道微生物在 IBD 中发挥重要作用^[19]。肠道微生物群复杂而庞大, 它们提供了丰富的潜在病原微生物、代谢产物和抗原, 可激活宿主的先天性和适应性免疫反应, 对宿主免疫系统的建立以及宿主对微生物群落的免疫耐受性起着重要作用。在正常状态下, 宿主的免疫系统和肠道菌群处于一种动态平衡状态, 这种平衡的失调会导致多种疾病的发病, 如肠道疾病、系统性自身免疫疾病和癌症^[20]。许多研究表明, 肠道微生物群紊乱会诱发和促进 IBD 的发生和发展。与健康人相比, IBD 患者通常表现出微生物群

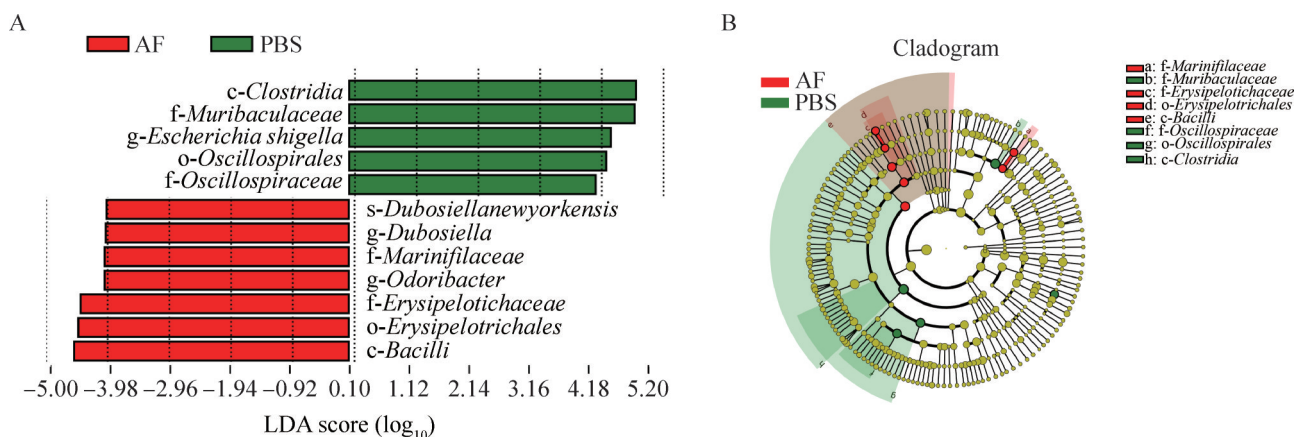


图4 差异细菌分析。A: 对组间存在显著差异的物种进行LEfSe分析; B: 系统发育树图。

Figure 4 Differences in bacterial analysis. A: LEfSe analysis of species with significant differences among groups; B: Phylogenetic tree.

失衡, 肠道微生物群多样性降低, 其特征是厚壁菌门丰度降低, 拟杆菌门和放线菌门丰度升高^[7]。此外, Th17 细胞和 Treg 细胞分别介导宿主体内促炎和抗炎细胞因子的释放, Th17 细胞和 Treg 细胞之间的平衡对维持正常的肠道免疫功能至关重要。研究表明, 肠道微生物群失调导致肠杆菌科等致病菌的丰度上调, 产生更多的脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)并激活炎症信号转导通路, 使得 Th17 细胞和 Treg 细胞比例失调, Th17 细胞占优势, 导致促炎因子 IL-17 释放增加, 从而诱发肠黏膜炎症反应^[21-22]。肠道屏障包括生物屏障、物理屏障、化学屏障和免疫屏障^[23]。肠道共生菌定殖于黏膜上皮层表面, 形成微生物屏障, 可抵抗病原微生物的入侵, 并通过定殖抵抗或调节肠道先天性免疫反应来保护宿主的健康^[24]。肠道微生物群失调可导致机会性病原体相对增加和肠道微生物屏障功能受损, 增加肠道通透性, 促进机会性病原体入侵, 从而诱发结肠炎症反应^[25]。紧密连接蛋白是肠道物理屏障的重要组成部分, 通过加强细胞间的连接(包括黏附连接蛋白和紧密连接蛋白)在维持屏障完整性方面发挥着至关重要的作用。当肠道菌群失调时, 会损害肠道上皮细胞的形态、结构和更新, 从而造成紧密连接蛋白的功能异常, 导致肠道黏膜通透性增加, 加重肠道炎症^[26]。

芬氏另枝菌是另枝菌属的一种, 其在肠炎中的作用既往研究结果差异巨大。本研究通过 DSS 诱导的急性肠炎小鼠模型, 研究芬氏另枝菌对肠炎的影响。结果表明, 给予芬氏另枝菌灌胃后小鼠的体重下降程度和疾病活动度较 PBS 组明显升高, 结肠长度较 PBS 组明显缩短 ($P=0.019$), 结肠组织病理评分也显示炎症程度更高, 提示芬氏另枝菌加重了肠道炎症; 检测肠道黏膜紧密连接蛋白的基因表达发现, 芬氏

另枝菌灌胃后, 紧密连接蛋白 Occludin 和 Claudin 5 的表达较 PBS 组下降, 表明肠道屏障功能受损; 检测相关炎症因子的表达发现, 芬氏另枝菌灌胃后 IL-17A 的表达升高, 说明芬氏另枝菌促进了炎症因子的分泌。粪便 16S rRNA 基因测序结果显示, 芬氏另枝菌灌胃后, 菌群的组成发生改变, 小鼠肠道菌群的丰富度和多样性较 PBS 组均出现下降, 菌落结构存在明显差异。具体而言, 芬氏另枝菌灌胃后乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、宿主关联乳杆菌属 (*Ligilactobacillus*)、肠杆状菌属 (*Enterorhabdus*) 等益生菌的丰度下降, 而罗姆布茨菌属 (*Romboutsia*)、苏黎世杆菌属 (*Turicibacter*)、拟杆菌属 (*Bacteroides*)、杜博西氏菌属 (*Dubosiella*) 的丰度升高。比较芬氏另枝菌组和 PBS 组发现, 主要的差异细菌包括芽孢杆菌纲 (*Bacilli*)、丹毒丝菌目 (*Erysipelotrichales*)、丹毒丝菌科 (*Erysipelotrichaceae*)、臭气杆菌属 (*Odoribacter*)、海生线状菌科 (*Marinifilaceae*)、杜波斯氏菌属 (*Dubosiella*)、纽约杜波斯氏菌 (*Dubosiella newyorkensis*); PBS 组的主要差异细菌为梭菌纲 (*Clostridia*)、鼠杆状菌科 (*Muribaculaceae*)、大肠杆菌-志贺氏菌 (*Escherichia-Shigella*)、颤螺菌科 (*Oscillospiraceae*)。这些差异细菌的作用并不完全相同。例如, Schaubek 等^[27]发现, 在发生 TNF 驱动的类型克罗恩病(CD)的跨壁炎症的小鼠中, 丹毒丝菌的丰度显著增加。Shi 等^[28]发现海生线状菌会影响细胞周期的信号从而加重 DSS 诱导的 TLR2-KO 小鼠的肠道炎症。Lima 等^[29]发现用免疫球蛋白 A 包被的内脏臭气杆菌 (*Odoribacter splanchnicus*) 移植给肠炎患者后可改善结肠炎症。Zhang 等^[30]发现纽约杜波斯氏菌 (*Dubosiella newyorkensis*) 能够通过产生短链脂肪酸(如丙酸和 L-赖氨酸)调节 Treg/Th17 平衡, 改善黏膜屏障损伤。由此可见, 芬氏另枝菌对小

鼠肠炎的影响并非通过单一的菌属(如致病菌或益生菌)的改变,而是通过多种细菌之间的协同作用影响肠道炎症。本研究与 Dziarski 等^[16]的研究方法最大的不同在于灌胃细菌的剂量。本研究中芬氏另枝菌的灌胃剂量为每只小鼠每天 1×10^9 CFU/200 μ L, 而 Dziarski 等的剂量为 2×10^8 CFU/200 μ L, 隔天灌胃。因此,本研究中芬氏另枝菌的灌胃剂量远高于 Dziarski 等的研究,而实验结果的差异很可能是由于灌胃剂量不同所致。

综上所述,芬氏另枝菌能够损害肠道屏障,促进肠道炎症因子的分泌,降低肠道菌群的多样性,从而加重小鼠的肠道炎症。然而,本研究尚未深入探讨芬氏另枝菌与宿主免疫系统之间的相互作用,相关问题仍需进一步研究。

作者贡献声明

郝自创:完成实验并编写论文;李东:参与协助实验操作;童江辉:参与协助实验操作;覃小铭:参与协助实验操作;张欢:参与协助实验操作、数据分析和论文讨论;王雅婧:参与协助实验操作;杨瑞馥:参与实验方案的设计并对论文撰写和修改提出相关意见;谭亚芳:参与实验方案的设计并对论文撰写和修改提出相关意见;毕玉晶:参与实验的研究构思和设计,并参与文章的修改;智发朝:参与实验的研究构思和设计,并参与文章的修改。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] CADER MZ, KASER A. Recent advances in inflammatory bowel disease: mucosal immune cells in intestinal inflammation[J]. Gut, 2013, 62(11): 1653-1664.
- [2] DANESE S, FIOCCHI C. Etiopathogenesis of inflammatory bowel diseases[J]. World Journal of Gastroenterology, 2006, 12(30): 4807-4812.
- [3] PODOLSKY DK. Inflammatory bowel disease[J]. New England Journal of Medicine, 2002, 347(6): 417-429.
- [4] KHOR B, GARDET A, XAVIER RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease[J]. Nature, 2011, 474(7351): 307-317.
- [5] SWIRSKI FK, NAHRENDORF M, ETZRODT M, WILDGRUBER M, CORTEZ-RETAMOZO V, PANIZZI P, FIGUEIREDO JL, KOHLER RH, CHUDNOVSKIY A, WATERMAN P, AIKAWA E, MEMPEL TR, LIBBY P, WEISSLEDER R, PITTET MJ. Identification of splenic reservoir monocytes and their deployment to inflammatory sites[J]. Science, 2009, 325(5940): 612-616.
- [6] GHORESCHI K, LAURENCE A, YANG XP, TATO CM, McGEACHY MJ, KONKEL JE, RAMOS HL, WEI L, DAVIDSON TS, BOULADOUX N, GRAINGER JR, CHEN Q, KANNO Y, WATFORD WT, SUN HW, EBERL G, SHEVACH EM, BELKAID Y, CUA DJ, CHEN WJ, et al. Generation of pathogenic T(H)₁₇ cells in the absence of TGF- β signalling[J]. Nature, 2010, 467(7318): 967-971.
- [7] PITTAYANON R, LAU JT, LEONTIADIS GI, TSE F, YUAN YH, SURETTE M, MOAYYEDI P. Differences in gut microbiota in patients with vs. without inflammatory bowel diseases: a systematic review[J]. Gastroenterology, 2020, 158(4): 930-946.e1.
- [8] ZHANG WD, ZHOU Q, LIU HB, XU JH, HUANG R, SHEN BH, GUO YD, AI XY, XU J, ZHAO XM, LIU YY, WANG Y, ZHI FC. *Bacteroides fragilis* strain ZY-312 facilitates colonic mucosa regeneration in colitis via motivating STAT3 signaling pathway induced by IL-22 from ILC3 secretion[J]. Frontiers in Immunology, 2023, 14: 1156762.
- [9] CHEN YY, CHEN Y, CAO P, SU WH, ZHAN N, DONG WG. *Fusobacterium nucleatum* facilitates ulcerative colitis through activating IL-17F signaling to NF- κ B via the upregulation of CARD3 expression[J]. The Journal of Pathology, 2020, 250(2): 170-182.
- [10] NI J, WU GD, ALBENBERG L, TOMOV VT. Gut microbiota and IBD: causation or correlation? [J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2017, 14(10): 573-584.
- [11] CHRISTOVICH A, LUO XM. Gut microbiota, leaky gut, and autoimmune diseases[J]. Frontiers in Immunology, 2022, 13: 946248.
- [12] FRANK DN, ST AMAND AL, FELDMAN RA, BOEDEKER EC, HARPAZ N, PACE NR. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(34): 13780-13785.
- [13] DUBOC H, RAJCA S, RAINTEAU D, BENAROUS D, MAUBERT MA, QUERVAIN E, THOMAS G, BARBU V, HUMBERT L, DESPRAS G, BRIDONNEAU C, DUMETZ F, GRILL JP, MASLIAH J, BEAUGERIE L, COSNES J, CHAZOUILLÈRES O, POUPON R, WOLF C, MALLETT JM, et al. Connecting dysbiosis, bile-acid dysmetabolism and gut inflammation in inflammatory

- bowel diseases[J]. *Gut*, 2013, 62(4): 531-539.
- [14] SMITH PM, HOWITT MR, PANIKOV N, MICHAUD M, GALLINI CA, BOHLOOLY-Y M, GLICKMAN JN, GARRETT WS. The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis[J]. *Science*, 2013, 341(6145): 569-573.
- [15] SHKOPOROV AN, CHAPLIN AV, KHOKHLOVA EV, SHCHERBAKOVA VA, MOTUZOVA OV, BOZHENKO VK, KAFARSKAIA LI, EFIMOV BA. *Alistipes inops* sp. nov. and *Coproacter secundus* sp. nov. isolated from human faeces[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2015, 65(Pt_12): 4580-4588.
- [16] DZIARSKI R, PARK SY, KASHYAP DR, DOWD SE, GUPTA D. Pglyrp-regulated gut microflora *Prevotella falsenii*, *Parabacteroides distasonis* and *Bacteroides eggerthii* enhance and *Alistipes finegoldii* attenuates colitis in mice[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0146162.
- [17] MALHAM M, VESTERGAARD MV, BATAILLON T, VILLESSEN P, DEMPFLER A, BANG C, ENGSBRO AL, JAKOBSEN C, FRANKE A, WEWER V, THINGHOLM LB, PETERSEN AM. The composition of the fecal and mucosa-adherent microbiota varies based on age and disease activity in ulcerative colitis[J]. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2025, 31(2): 501-513.
- [18] KANG X, NG SK, LIU CG, LIN YF, ZHOU YF, KWONG TNY, NI YB, LAM TYT, WU WKK, WEI H, SUNG JJY, YU J, WONG SH. Altered gut microbiota of obesity subjects promotes colorectal carcinogenesis in mice[J]. *eBioMedicine*, 2023, 93: 104670.
- [19] ANANTHAKRISHNAN AN. Epidemiology and risk factors for IBD[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2015, 12(4): 205-217.
- [20] ZHENG DP, LIWINSKI T, ELINAV E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease[J]. *Cell Research*, 2020, 30(6): 492-506.
- [21] BRITTON GJ, CONTIJOCH EJ, MOGNO I, VENNARO OH, LLEWELLYN SR, NG R, LI ZH, MORTHA A, MERAD M, DAS A, GEVERS D, McGOVERN DPB, SINGH N, BRAUN J, JACOBS JP, CLEMENTE JC, GRINSPAN A, SANDS BE, COLOMBEL JF, DUBINSKY MC, et al. Microbiotas from humans with inflammatory bowel disease alter the balance of gut Th17 and ROR γ t+regulatory T cells and exacerbate colitis in mice[J]. *Immunity*, 2019, 50(1): 212-224.e4.
- [22] GOTO Y, PANEA C, NAKATO G, CEBULA A, LEE C, DIEZ MG, LAUFER TM, IGNATOWICZ L, IVANOV II. Segmented filamentous bacteria antigens presented by intestinal dendritic cells drive mucosal Th17 cell differentiation[J]. *Immunity*, 2014, 40(4): 594-607.
- [23] CHELAKKOT C, GHIM J, RYU SH. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications[J]. *Experimental & Molecular Medicine*, 2018, 50(8): 1-9.
- [24] TLASKALOVÁ -HOGENOVÁ H, STĚPÁNKOVÁ R, KOZÁKOVÁ H, HUDCOVIC T, VANNUCCI L, TUČKOVÁ L, ROSSMANN P, HRNČÍŘ T, KVERKA M, ZÁKOSTELSKÁ Z, KLIMEŠOVÁ K, PŘIBYLOVÁ J, BÁRTOVÁ J, SANCHEZ D, FUNDOVÁ P, BOROVSÁ D, SRŮTKOVÁ D, ZÍDEK Z, SCHWARZER M, DRASTICH P, et al. The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases[J]. *Cellular & Molecular Immunology*, 2011, 8(2): 110-120.
- [25] NATIVIDAD JMM, VERDU EF. Modulation of intestinal barrier by intestinal microbiota: pathological and therapeutic implications[J]. *Pharmacological Research*, 2013, 69(1): 42-51.
- [26] TAN Y, GUAN YD, SUN Y, ZHENG CQ. Correlation of intestinal mucosal healing and tight junction protein expression in ulcerative colitis patients[J]. *The American Journal of the Medical Sciences*, 2019, 357(3): 195-204.
- [27] SCHAUBECK M, CLAVEL T, CALASAN J, LAGKOUVARDOS I, HAANGE SB, JEHLICH N, BASIC M, DUPONT A, HORNEF M, von BERGEN M, BLEICH A, HALLER D. Dysbiotic gut microbiota causes transmissible Crohn's disease-like ileitis independent of failure in antimicrobial defence[J]. *Gut*, 2016, 65(2): 225-237.
- [28] SHI YJ, SHENG KW, ZHAO HN, LIU C, WANG H. Toll-like receptor 2 deficiency exacerbates dextran sodium sulfate-induced intestinal injury through *Marinifilaceae*-dependent attenuation of cell cycle signaling[J]. *Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)*, 2024, 29(9): 338.
- [29] LIMA SF, GOGOKHIA L, VILADOMIU M, CHOU LC, PUTZEL G, JIN WB, PIRES S, GUO CJ, GERARDIN Y, CRAWFORD CV, JACOB V, SCHERL E, BROWN SE, HAMBOR J, LONGMAN RS. Transferable immunoglobulin A-coated *Odoribacter splanchnicus* in responders to fecal microbiota transplantation for ulcerative colitis limits colonic inflammation[J]. *Gastroenterology*, 2022, 162(1): 166-178.
- [30] ZHANG YN, TU SY, JI XW, WU JN, MENG JX, GAO JS, SHAO X, SHI S, WANG G, QIU JJ, ZHANG ZB, HUA CG, ZHANG ZY, CHEN SX, ZHANG L, ZHU SJ. *Dubosiella newyorkensis* modulates immune tolerance in colitis via the L-lysine-activated AhR-IDO1-Kyn pathway[J]. *Nature Communications*, 2024, 15(1): 1333.