DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260226002
引用格式: 王秋水, 朱麒龙, 高丽娟, 等. 格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 的比较基因组分析及其抗溃疡性结肠炎的功能验证[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(16): 285–295.
Wang Qiushui, Zhu Qilong, Gao Lijuan, et al. Comparative genomic analysis of *Lactobacillus gasseri* GMLCA-Lac 1 and functional validation of its anti-ulcerative colitis activity [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(16): 285–295. (in Chinese with English abstract).

格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 的比较基因组分析及其抗溃疡性结肠炎的功能验证

王秋水[1#], 朱麒龙[2#], 高丽娟[1], 肖纪腾[1], 田彦捷[1], 冯 烁[1], 张小莉[1], 安云鹤[1*]
[1. 北京市科学技术研究院分析测试研究所(北京市理化分析测试中心), 北京 100089; 2. 北京城市学院生物医药学部, 北京 101309]

摘 要: 目的 评估格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 对葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)诱导的小鼠溃疡性结肠炎的改善效果及其潜在作用机制。**方法** 通过全基因组测序分析菌株特性, 并结合动物实验评估疾病表型、肠道屏障功能及免疫指标的变化。**结果** 格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 的基因组包含一个环状染色体和两个质粒, 共预测编码 1980 个基因。其特有基因在糖酵解/糖异生、丙酮酸代谢及抗氧化相关通路中显著富集, 这赋予了该菌株高效产生乳酸、合成短链脂肪酸以及耐受肠道环境应激的能力。在动物实验中, 该菌株以剂量依赖的方式缓解了 DSS 诱导的小鼠体重下降、腹泻和便血症状, 降低了疾病活动指数, 增加了结肠长度, 改善了结肠组织的病理损伤, 并通过增加杯状细胞数量促进了肠道黏液屏障的修复。同时, 格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 明显降低了血清中促炎细胞因子白细胞介素-1β (interleukin-1β, IL-1β)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子-α (tumor necrosis factor-α, TNF-α)的水平, 降低了脾脏指数, 有助于恢复免疫功能的平衡。**结论** 格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 通过修复肠道黏膜屏障、炎症免疫调节协同作用缓解小鼠结肠炎, 为其作为炎症性肠病微生态治疗的潜在候选菌株提供了实验依据。

关键词: 溃疡性结肠炎; 格氏乳杆菌; 肠道屏障; 免疫调节
中图分类号: Q939.1 **文献识别码:** A **文章编号:** 2095–0381(2026)16–0285–11

Comparative genomic analysis of *Lactobacillus gasseri* GMLCA-Lac 1 and functional validation of its anti-ulcerative colitis activity

WANG Qiu-Shui[1#], ZHU Qi-Long[2#], GAO Li-Juan[1], XIAO Ji-Teng[1], TIAN Yan-Jie[1], FENG Shuo[1], ZHANG Xiao-Li[1], AN Yun-He[1*]

收稿日期: 2026-02-22
基金项目: 北京市科学技术研究院“北科学者”项目(25CE-BS-01)

#王秋水和朱麒龙为共同第一作者
第一作者: 王秋水(1991—), 女, 博士, 副研究员, 主要研究方向为微生物多样性表征与益生菌资源挖掘。E-mail: wangqius9182901@hotmail.com
朱麒龙(2002—), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为中药活性成分药理作用研究。E-mail: 2092417241@qq.com
***通信作者:** 安云鹤(1982—), 女, 博士, 研究员, 主要研究方向为肠道微环境与肿瘤的互作研究。E-mail: anyunhe_bio@163.com

[1. *Institute of Analysis and Testing*, *Beijing Academy of Science and Technology* (*Beijing Center for Physical and Chemical Analysis*), *Beijing* 100089, *China*; 2. *School of Biomedical Sciences*, *Beijing City University*, *Beijing* 101309, *China*]

ABSTRACT: Objective To evaluate the improvement effect of *Lactobacillus gasseri* GMLCA-Lac 1 on dextran sulfate sodium (DSS)-induced ulcerative colitis in mice and its potential mechanism of action. **Methods** The strain characteristics were analyzed through whole-genome sequencing, and the changes in disease phenotype, intestinal barrier function and immune indicators were evaluated in combination with animal experiments. **Results** The genome of *Lactobacillus gasseri* GMLCA-Lac 1 comprised a circular chromosome and 2 plasmids, encoding 1980 predicted open reading frames. Strain-specific genes were significantly enriched in glycolysis/gluconeogenesis, pyruvate metabolism and antioxidation pathways, which conferred robust capacities for lactic acid production, short-chain fatty acid synthesis and intestinal stress tolerance. In animal experiments, *Lactobacillus gasseri* GMLCA-Lac 1 exerted a dose-dependent attenuation of DSS-induced body weight loss, diarrhea and hematochezia, reducing the disease activity index, restoring colon length and ameliorating colonic pathological damage. It also promoted intestinal mucus barrier repair by increasing goblet cell density. At the same time, *Lactobacillus gasseri* GMLCA-Lac 1 significantly reduced the levels of pro-inflammatory cytokines in serum, included interleukin-1β (IL-1β), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor-α (TNF-α), lowered the spleen index and helped restore the balance of immune function. **Conclusion** *Lactobacillus gasseri* GMLCA-Lac 1 alleviates colitis in mice through the synergistic effects of repairing the intestinal mucosal barrier and modulating inflammation and immunity, providing experimental evidence for its potential as a candidate strain for microecological therapy of inflammatory bowel disease.

KEY WORDS: ulcerative colitis; *Lactobacillus gasseri*; intestinal barrier; immune modulation

0 引 言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一类以肠道慢性、复发性炎症为根本特征的异质性消化系统疾病, 主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(crohn's disease, CD)。其发病机制涉及遗传易感性、环境因素、肠道菌群紊乱以及异常免疫应答之间的复杂相互作用[1]。近年来, 全球 IBD 发病率呈持续攀升趋势, 尤其在东亚地区尤为显著, 患者常表现为腹痛、腹泻、黏液脓血便及体重减轻等症状, 病程迁延反复, 难以彻底治愈, 严重时可并发肠道穿孔、营养不良乃至结肠癌, 对患者生活质量及公共卫生体系带来沉重负担[2−3]。

目前, IBD 的临床治疗核心在于控制炎症、缓解临床症状及预防复发, 常用药物包括氨基水杨酸制剂、糖皮质激素、免疫抑制剂和生物制剂等[4]。然而, 长期用药常伴随耐药性、肝肾毒性及感染风险增加等不良反应, 且部分患者对现有疗法反应不佳, 因此探索安全有效的新型干预策略成为 IBD 研究领域的迫切需求[5−6]。

肠道微生态环境是维持肠道稳态的关键, 其结构完整性与功能稳态在 IBD 的发生发展中起着核心作用[7]。健康个体肠道内定植着以厚壁菌门和拟杆菌门为优势菌门的复杂微生物群落, 其中乳杆菌属、阿克曼菌属、双歧杆菌属等有益菌通过产生短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs)、增强肠道屏障功能、调节免疫细胞分化等种机制维持肠道内环境稳定[8]。相比之下, IBD 患者肠道微生态环境呈现典型失调状态: 致病菌(如变形菌门下的埃希氏菌-志贺氏菌属、弯曲杆菌属)异常增殖, 有益菌丰度显著下降, 导致肠道黏液层受损、紧密连接蛋白表达降低, 肠通透性增加, 从而引发持续性的炎症反应[9−10]。因此, 肠道微生态环境的失衡, 被认为与多种疾病的发展进程相关, 包括溃疡性结肠炎[11−12]。并且, 以重塑肠道微生态环境为靶点的干预策略也已成为 IBD 防治的重要研究方向。

益生菌是一类对宿主健康有益的活性微生物, 因其能通过抑制致病菌生长、促进有益菌增殖、修复肠道屏障及调节免疫功能等多种途径改善肠道微生态环境平衡, 被广泛应用于 IBD 的辅助治疗研究[13]。格氏乳杆菌(*Lactobacillus gasseri*)作为乳杆菌属的重要成员, 具备良好的肠道黏膜黏附能力、胃酸耐受性及胆汁耐受性, 其益生特性已在多项研究中得到验证[14−15]。然而, 益生菌的功能具有显著的菌株特异性, 不同格氏乳杆菌菌株在基因组特征、代谢能力及益生效应方面存在明显差异[16]。本研究前期通过全基因组测序分析发现, 格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 携带糖酵解/糖异生、丙酮酸代谢及抗氧化相关特有基因, 提示该菌株可能具备独特的代谢优势及肠道适应潜能。

UC 作为 IBD 的主要亚型之一, 其发病与肠道菌群紊乱的关联尤为明确。葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)诱导的 UC 小鼠模型是目前 IBD 研究中应用最广泛的动物模型, 可较好模拟人类 UC 的临床症状、肠道炎症及病理改变, 被广泛用于 IBD 发病机制及干预策略的评价研

究[17]。基于以上研究背景, 本研究以 DSS 诱导的小鼠溃疡性结肠炎模型为研究对象, 系统评估格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 对结肠炎小鼠疾病表型、肠道屏障功能及免疫状态组成的影响, 旨在阐明其保护作用机制, 为该菌株的进一步开发应用以及 IBD 的微生态治疗提供实验依据和理论支持。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

通过对 300 例 0~3 岁健康婴幼儿的肠道微生物进行多样性测序, 筛选到丰度较高且与婴幼儿身体质量指数(body mass index, BMI)相关的一株益生菌。

8 周龄 C57BL/6J 雌性小鼠(北京维通利华实验动物技术有限公司); 1.5 mL 微量离心管[爱思进生物技术(杭州)有限公司]; MRS 琼脂(北京陆桥技术有限责任公司); DSS(相对分子质量: 36000~50000, 翌圣生物科技有限公司); 粪便隐血定性检测试剂盒(邻联甲苯胺法)(北京索莱宝科技有限公司); 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin staining, HE)染液套装(武汉赛维尔生物科技有限公司); 白细胞介素-1β (interleukin 1β, IL-1β)、白细胞介素-6 (interleukin 6, IL-6)、肿瘤坏死因子-α (tumor necrosis factor-alpha, TNF-α)酶联免疫分析(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测试剂盒(杭州联科生物技术有限公司)。

1.2　仪器与设备

VARIOSKAN FLASH 微弱发光测量仪(美国赛默飞世尔科技公司); FD-1A-50 冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司); KD-3000 冰冻切片机(金华市科迪仪器设备有限公司); Centrifuge 5427R 冷冻离心机(德国艾本德股份公司)。

1.3　实验方法

1.3.1　菌悬液制备

将格氏乳杆菌菌种分别在 MRS 琼脂上在厌氧条件下进行划线分离, 挑取纯化后的单菌落接种于 MRS 肉汤中厌氧培养 72 h。以 5%的比例将一次增菌的 MRS 肉汤加入新的装有 40 mL MRS 肉汤的 50 mL 离心管中厌氧培养 72 h。将培养后的 MRS 肉汤以 7000 r/min 离心 10 min 弃掉上清, 按比例加入乳粉等保护剂并加水重悬。将菌液倒入几个平板中铺开放入–20 ℃冰箱中预冷 1 h, 再将平板取出置于–80 ℃冰箱冻存 2 h 以上, 最后放入冷冻真空干燥器中冻干过夜。将冻干后的菌剂用无菌工具捣碎置于无菌离心管中进行保存备用, 采用梯度稀释平板计数法测得干粉活菌含量为 1×10^8 CFU/g (1×10^5 CFU/mg)。

在后续实验中, 菌剂干粉使用无菌纯水溶解, 分别配置为格氏乳杆菌低剂量组 0.325 mg/mL 以及格氏乳杆菌高剂量组 0.650 mg/mL 的菌悬液。结合干粉活菌计数结果换算, 二者活菌数分别为 3.25×10^4 CFU/mL、6.50×10^4 CFU/mL。小鼠灌胃剂量为 0.1 mL/10 g 体重, 实验小鼠平均体重约为 20 g, 单只每日灌胃体积 0.2 mL, 最终低、高剂量组小鼠每日活菌摄入量分别为 6.5×10^3 CFU、1.3×10^4 CFU。

1.3.2　模型建立与分组给药

本研究中所有动物实验均符合《赫尔辛基宣言》的原则。实验动物为 8 周龄 C57BL/6J 雌性小鼠, 20 只, 实验所用动物体重为 18~22 g, 小鼠安置在标准环境中(12 h 光暗周期, 温度 23 ℃±1 ℃, 相对湿度 45%±5%), 进行为期一周的适应期, 在此期间小鼠可以不受限制地使用纯水和商用啮齿动物饲料。

将小鼠随机分配为 4 组(每组 5 只), 正常对照组、DSS 模型组、格氏乳杆菌低剂量组和格氏乳杆菌高剂量组(图 1)。除正常对照组给予纯水外, 其余各组均采用自由饮用 3%的 DSS 溶液以诱导建立小鼠 UC 模型, 连续饮用 7 d, 第 8 d 开始全部换成纯水。格氏乳杆菌低、高剂量组在造模第 2 d 开始灌胃给药, 按照 0.1 mL/10 g 的剂量进行灌胃, 对照组及模型组以相同的方式给予纯水, 每天 1 次, 持续 7 d。

1.3.3　数据与样本收集

给药期间, 每日观察小鼠一般情况、体质量变化、粪便黏稠程度、粪便隐血程度, 并对其进行记录和评分, 后续采用 Cooper 等[18]评分标准使用这些数据于计算疾病活

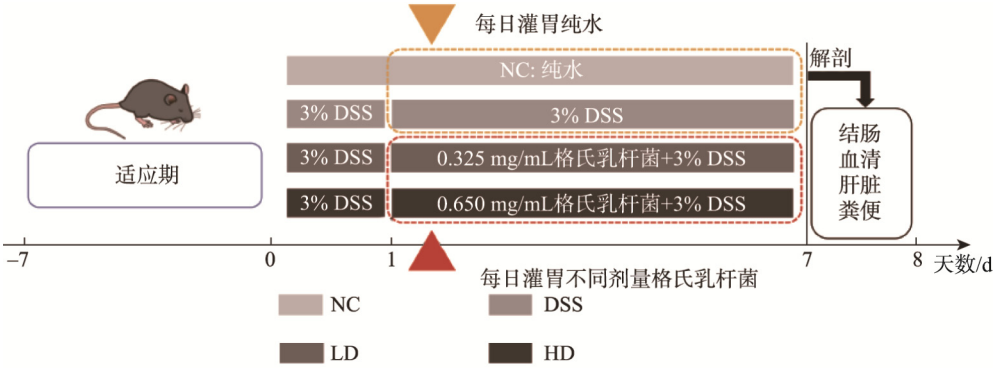


图 1　动物实验工作流程图

Fig.1　Workflow diagram of animal experiments

动指数(disease activity index, DAI)。总 DAI 评分范围为 0~12, 得分越高表明症状越显著。表 1 为 DAI 评分标准。第 7 d 给药结束后, 通过眼球取血收集血液样本, 通过离心法, 4 ℃、4000 r/min 离心 15 min 获得血清, 并在–80 ℃下保存直到用于 ELISA, 断颈处死小鼠收集全结肠组织, 测量结肠长度; 分离脾脏组织, 称取重量计算脾脏指数(脾脏指数/%=脾脏重量/小鼠体重×100%)。

表 1 疾病活动指数评分标准

Table 1 Disease activity index scoring criteria

评分	体重变化率/%	粪便性状	便血情况
0	没有变化	成型	正常
1	5~10	偏稀	隐血阳性
2	11~15	渐稀	少量粪便带血
3	16~20	拉稀	可见明显血便
4	>20	拉稀带血	全血便

1.3.4 炎症因子的测定

根据试剂盒说明, 测定小鼠血清中 IL-6、TNF-α、IL-1β 的炎症因子含量。

1.3.5 组织学分析

选取一段病变明显的结肠, 置于 4%多聚甲醛固定液中固定 24 h, 常规制作 4 μm 石蜡切片, 经苏木精-伊红(hematoxylin-eosin staining, HE)染色后在光学显微镜下观察结肠组织形态学变化。

结肠炎的程度通过 HE 染色进行评估。组织损伤的程度采用 Qin 等[19]病理评分系统(表 2)进行评估, 包括溃疡个数、上皮细胞的变化、隐窝的破坏以及炎症的浸润。

表 2 组织学变化评分标准

Table 2 Histological change scoring criteria

评分	溃疡/个	上皮细胞变化	炎症浸润
0	0	正常	无
1	1	杯状细胞缺失	隐窝周围浸润
2	2	杯状细胞 大面积缺失	黏膜肌层 出现浸润
3	3	隐窝缺失	黏膜肌层浸润并 增厚
4	>3	隐窝大面积缺失	黏膜下层浸润

1.3.6 比较基因组分析

通过 Prokka v1.14.6 对 7 株格氏乳杆菌的蛋白序列进行功能注释, 以 BLASTP (E-value<1e-5)在京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)数据库中搜索同源蛋白以获取 KO 号。使用 DIAMOND v2.0.15 以格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 为参考株进行同源比对, 以相似度大于等于 95%的基因为核心基因, 以总基因数与核心基因数的差值为特有基因。基于 KO 号, 在乳酸菌核心代谢通路中对目标菌株的特有基因进行 KEGG 富集分析, 并结合 matplotlib 绘制富集柱状图, 从而揭示目标菌株特有基因的代谢功能特征及其潜在的益生优势。

1.4 数据处理

所有数据均使用 GraphPad Prism 10.4.2 软件进行统计分析并绘制图表, 使用 t 检验比较组间数据, 使用单因素方差分析比较多组数据, 数据以均值±标准误表示, 结果以平均值±标准偏差表示, 以 P<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 全基因组测序数据分析

2.1.1 格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 基因组基本特征

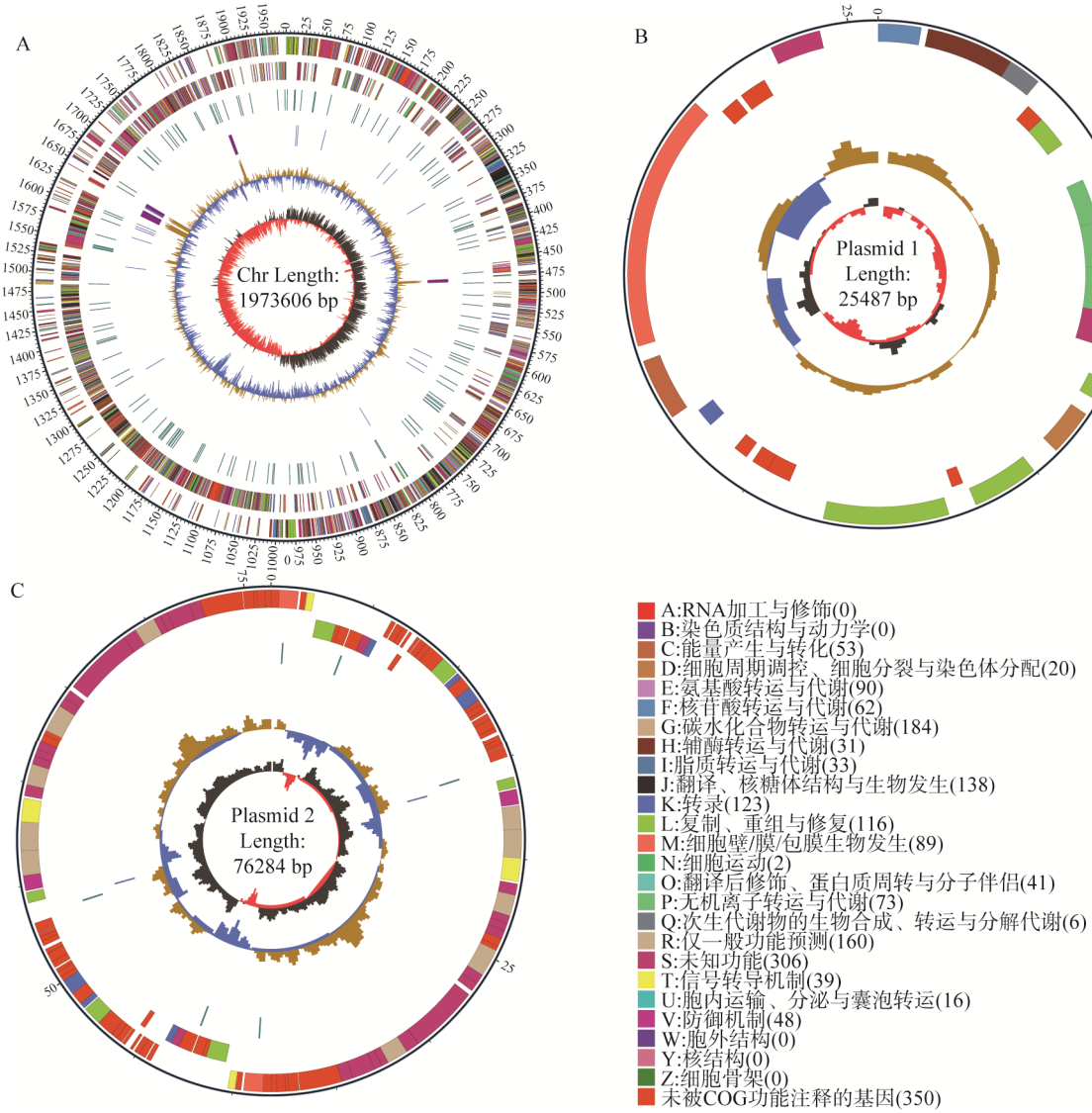
在通过高通量测序对菌株基因组进行测序后, 共获得 read 条数 134986, 总碱基数 1061035787, 平均序列读长 7860 bp, 组装后序列大小为 2075377 bp, 测序序列 N50 和 N90 的长度均为 1973606 bp, GC 含量为 35.01%。基因组拼接后, 获得一条长度为 1973606 bp 的环状染色体序列和两条长度分别为 25487 bp 和 76284 bp 的环状质粒序列(命名为 Plasmid 1 和 Plasmid 2)。

基因组中预测的编码基因数量为 1980, 总长度为 1865952 bp, 平均长度为 942 bp, 重复序列为 6577 bp, 占总长的 0.32%。基因组中有 15 个 rRNA(5S、16S、23S rRNA 各 5 个), 共 3 种类型, 均分布在染色体上; 75 个 tRNA, 共 38 种类型, 其中有 2 个位于 plasmid 2 上, 其余 36 个 tRNA 均位于染色体上。格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 的蛋白质编码基因和 ncRNA 信息显示在 circos 图中(图 2)。此外, 在染色体上预测出 4 个 CRISPR 序列、3 个基因岛、1 个前噬菌体、2 个基因簇, 在 plasmid 1 中预测出 1 个 CRISPR 序列。

2.1.2 格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 基因组功能注释

通过 KEGG、进化基因谱系非监督直系同源群数据库(evolutionary genealogy of genes: non-supervised orthologous groups, eggNOG)和基因本体论(gene ontology, GO)数据库对格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 进行全面的基因组注释, 发现其具有广泛的代谢能力, 包括碳水化合物利用、氨基酸生物合成、抗氧化和应激反应通路(图 3)。

KEGG 分类(图 3A)显示, GMLCA-Lac 1 基因主要富集在代谢相关类别中(约 55%), 特别是碳水化合物代谢、氨基酸代谢以及抗氧化防御(谷胱甘肽、硫氧还蛋白和过氧化物酶系统)。这些通路与益生菌在肠道环境中的黏附和抗氧化潜力密切相关。eggNOG 功能分类(图 3B)进一步表明, 参与能量产生和转换、翻译后修饰、蛋白质周转和分子伴侣以及细胞壁/膜生物合成的基因存在显著富集, 这暗示了较强的胁迫耐受性和定植能力。GO 分析(图 3C)证实了这些发现, 大多数基因与细胞代谢过程、结合和催化活性以及膜成分相关, 反映了活跃的细胞代谢和多能的功能潜力。



注：最外面 1 圈为基因组大小的标示，每个刻度为 5 kb；第 2 圈和第 3 圈分别为基因组正链和负链上的 gene，不同颜色代表不同的 COG 功能分类；第 4 圈为重复序列；第 5 圈为 tRNA 和 rRNA，蓝色为 tRNA，紫色为 rRNA；第 6 圈为 GC 含量，浅黄色部分表示该区域 GC 含量高于基因组的平均 GC 含量，峰值越高则与平均 GC 含量差异越大，蓝色部分则表示该区域 GC 含量低于基因组的平均 GC 含量；最内圈是 GC-skew，深灰色代表 G 含量大于 C 的区域，红色代表 C 含量大于 G 的区域。A. 菌株核心染色体(全长 1973606 bp)；B. 环状质粒 1(全长 25487 bp)；C. 环状质粒 2(全长 76284 bp)。

图 2　格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 的基因组 circos 图

Fig.2　Circos plot of the genome of *Lactobacillus gasseri* GMLCA-Lac 1

2.1.3　格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 系统发育与比较基因组分析

基于格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 和其他公开可用的格氏乳杆菌基因组中 92 个单拷贝核心基因的串联序列，使用最新细菌核心基因(UBCG)分析流程构建了系统发育基因组树，如图 4 所示。GMLCA-Lac 1 与 CM2267_MRS2、HL75、Lg1199、SYP-B4209、LGZ1029 和 CYLB2815 菌株聚类紧密，表明它们具有密切的系统发育关系和共同的基因组背景。

基于全基因组系统发育分析，GMLCA-Lac 1 与 CM2267_MRS2、HL75、Lg1199、SYP-B4209、LGZ1029 和 CYLB2815 等 7 株格氏乳杆菌被确定为亲缘关系较近的菌株。尽管它们的进化关系密切且基因组相似度较高，但通过 KEGG 通路比较分析发现，目标菌株中存在一组特有基因，这些基因在其余 6 株对照菌株中未被检测到(图 5)。

在这些特有基因中，包含了糖酵解/糖异生通路的关键酶(K01689、K00844)、丙酮酸代谢通路的核心基因(K00627、K01785)，以及磷酸戊糖途径的抗氧化相关基因(K00382)和酒精代谢通路的醛类代谢基因(K00134)。从功能上看，这些特有基因参与了核心碳代谢、氧化还原平衡和肠道应激响应，表明目标菌株比其余 6 株对照菌株表现

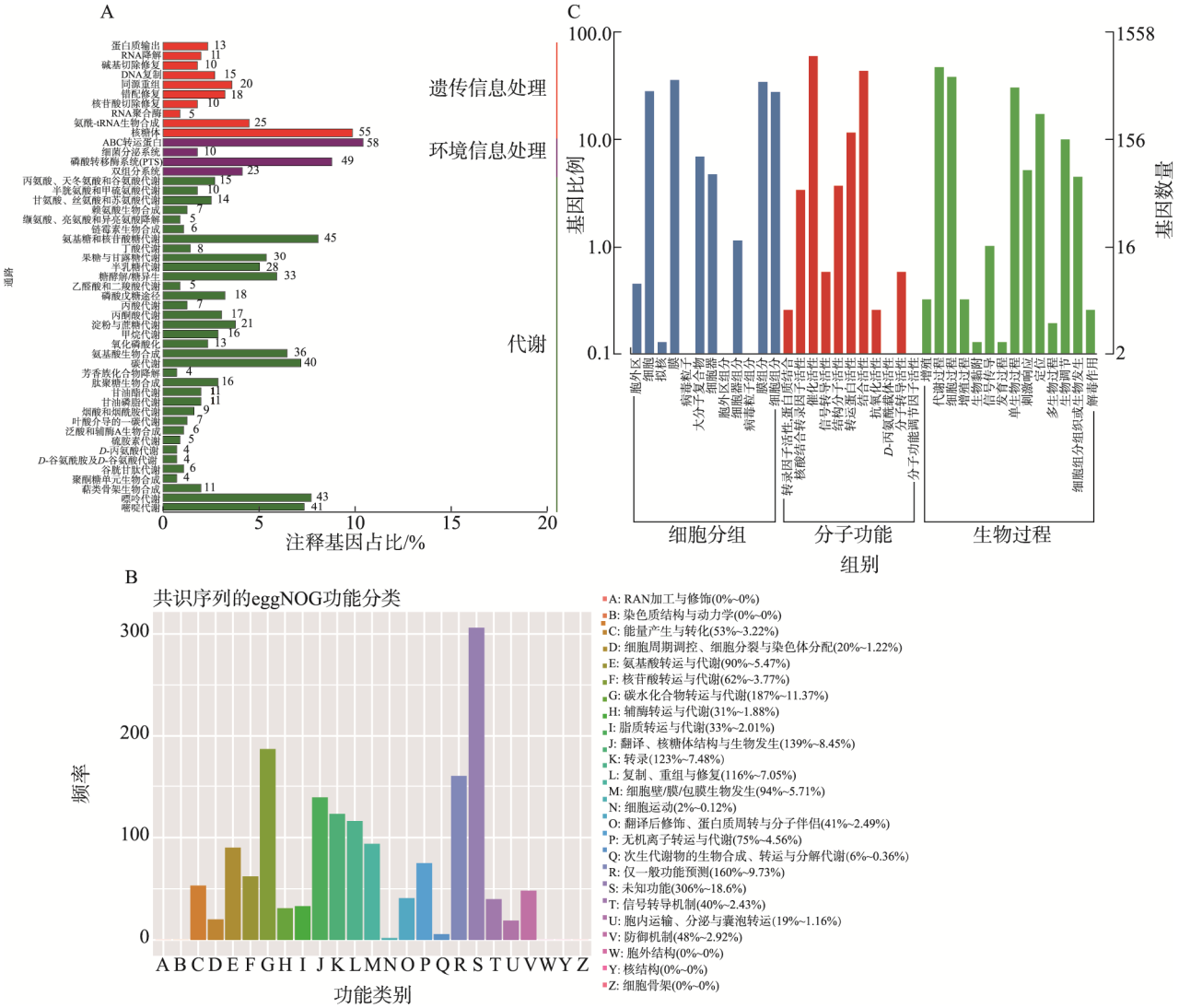
出更强的代谢多样性和环境适应能力。特别是，糖酵解/糖异生通路相关基因在基因组中富集，为菌株定向合成乳酸提供了遗传基础，潜在能力有助于降低肠道 pH 并抑制有害菌增殖；丙酮酸代谢通路基因则可促进短链脂肪酸合成，增强肠道黏膜屏障功能；而磷酸戊糖途径的抗氧化基因则能提升菌株在肠道氧化应激环境下的定植能力。这些特有基因的存在揭示了格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 在肠道益生功能上的独特优势，为其作为益生菌候选菌株的开发提供了重要的基因组学依据。

2.2 格氏乳杆菌对 DSS 诱导溃疡性结肠炎小鼠的保护作用研究

正常对照组小鼠表现出良好的生理状态，包括活动自如、反应灵敏、精神状态正常，毛发柔顺且富有光泽，进食及饮水量维持在正常水平，体重持续平稳增长，粪便形态正常且成型，未见血便现象。相比之下，DSS 模型组小鼠体重持续下降，出现蜷缩堆聚、行动迟缓、皮毛枯槁无光泽、精神萎靡不振、饮食量减少等症状，并伴有黏液稀便和肉眼血便，表明造模成功。格氏乳杆菌低剂量组和高剂量组在干预后，上述症状较模型组有所改善，其中低剂量组改善不明显，而高剂量组改善较为显著。

2.2.1 格氏乳杆菌对结肠炎小鼠体质量、DAI 的影响

小鼠体质量变化情况如图 6A 所示，对照组小鼠体质量变化较小。与对照组相比，模型组小鼠在 DSS 诱导的第 5 d 体质量明显下降，第 7 d 与对照组呈现显著性差异(P<0.01)。与模型组相比，格氏乳杆菌高剂量组体质量虽也呈现下降趋势，但变化趋势较为缓慢(P<0.05)。



注：A. KEGG 通路柱状图；B. EggNOG 功能分类柱状图；C. GO 分析柱状图。

图 3 格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 菌株特有基因组功能分析柱状图

Fig.3 Bar chart of the unique genomic functional analysis of *Lactobacillus gasseri* GMLCA-Lac 1 strain

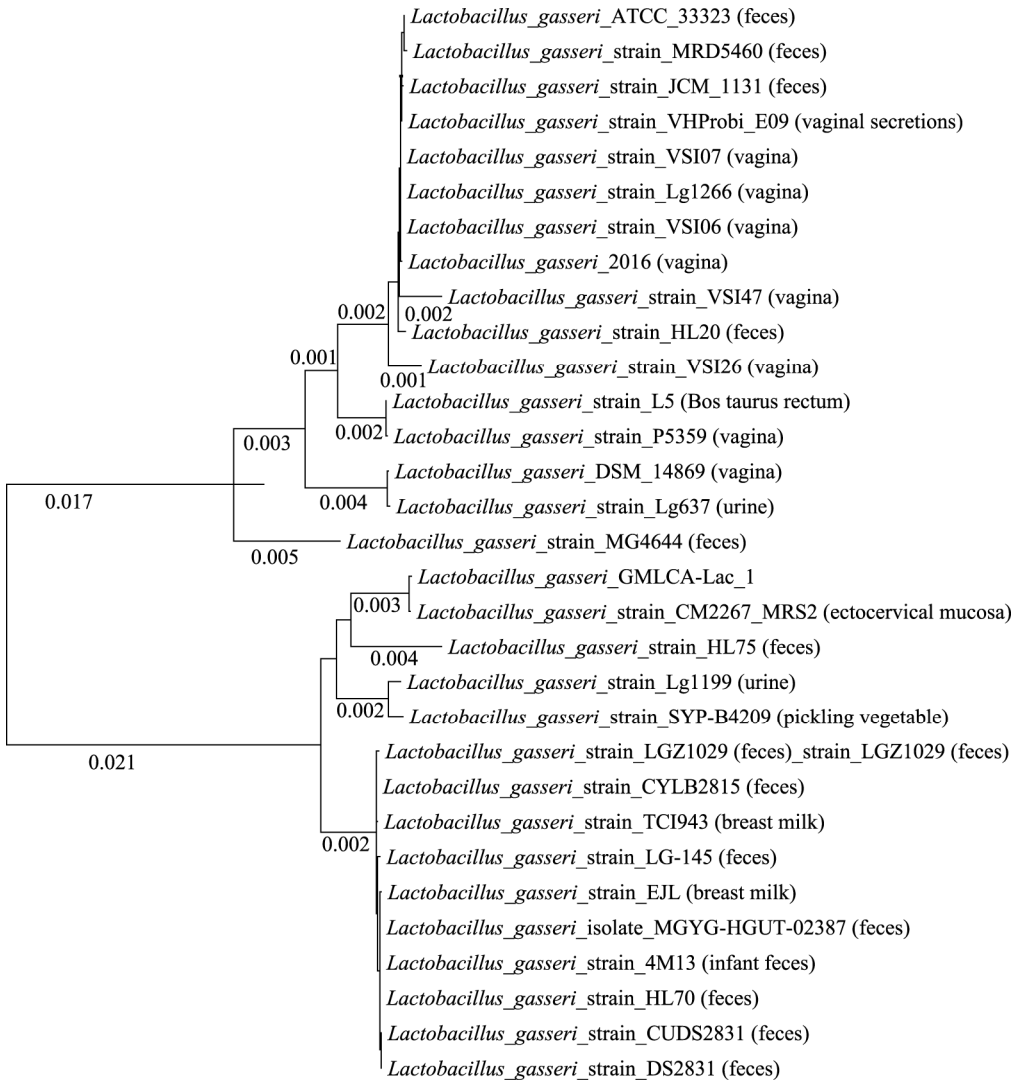


图 4　格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 菌株系统发育基因组树

Fig.4　Phylogenomic tree of *Lactobacillus gasseri* GMLCA-Lac 1 strain

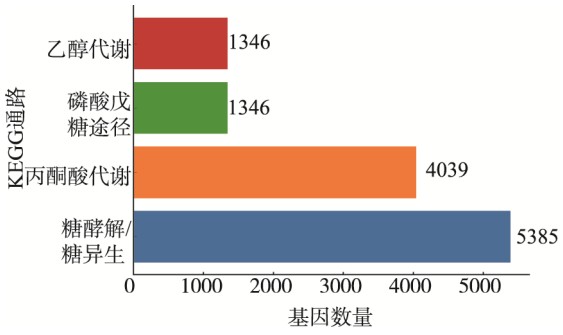


图 5　格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 菌株特有基因的 KEGG 通路富集分析柱状图

Fig.5　KEGG pathway enrichment analysis bar chart of strain specific genes in *Lactobacillus gasseri* GMLCA-Lac 1

小鼠 DAI 评分如图 6B 所示，对照组小鼠各项指标正常 DAI 评分波动较小。DSS 诱导 7 d 后，模型组与对照组相比 DAI 评分极高显著增加(P<0.0001)；经格氏乳杆菌干预后，高剂量组及低剂量组与模型组相比极显著降低了 DAI 评分(P<0.01)。结果初步表明，格氏乳杆菌可以缓解结肠炎导致的小鼠体重下降并改善 DAI 评分。

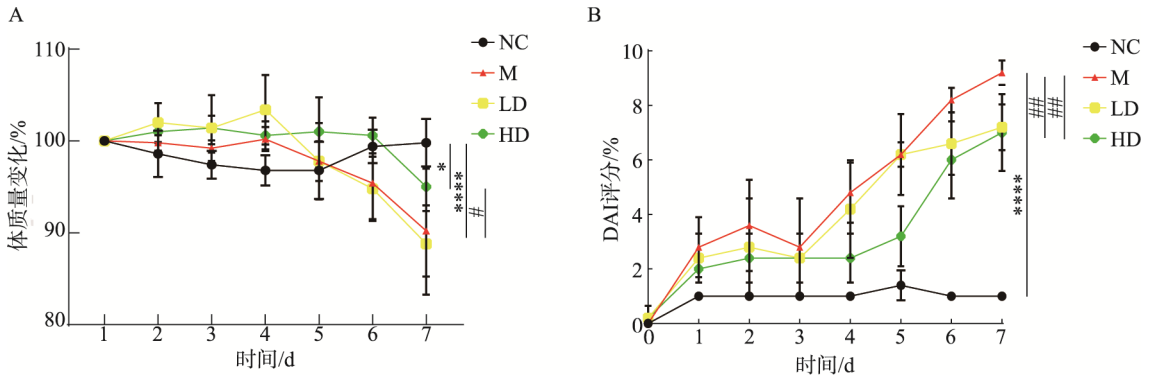
2.2.2　格氏乳杆菌对小鼠结肠长度、脾脏指数的影响

结肠长度是衡量肠道炎症损伤程度的重要指标。在炎症性肠病(如结肠炎)的动物模型中，肠道炎症常伴随结肠黏膜水肿、纤维化及长度缩短。脾脏作为机体最大的外周免疫器官，其指数变化可反映免疫细胞的增殖与活化状态。当机体面临炎症或感染等应激时，免疫细胞在脾脏内大量增殖或浸润，导致脾脏肿大、指数升高，这是免疫反应过度激活的直观表现。

如图 7A 和 7B 所示，对照组小鼠的结肠长度正常，未见明显病理改变。与对照组相比，模型组小鼠的结肠长度显著缩短(P<0.01)。与模型组相比，使用格氏乳杆菌干预后，低剂量组小鼠的结肠长度变化不显著，但高剂量组小鼠的

结肠长度则极显著增加(P<0.01)。

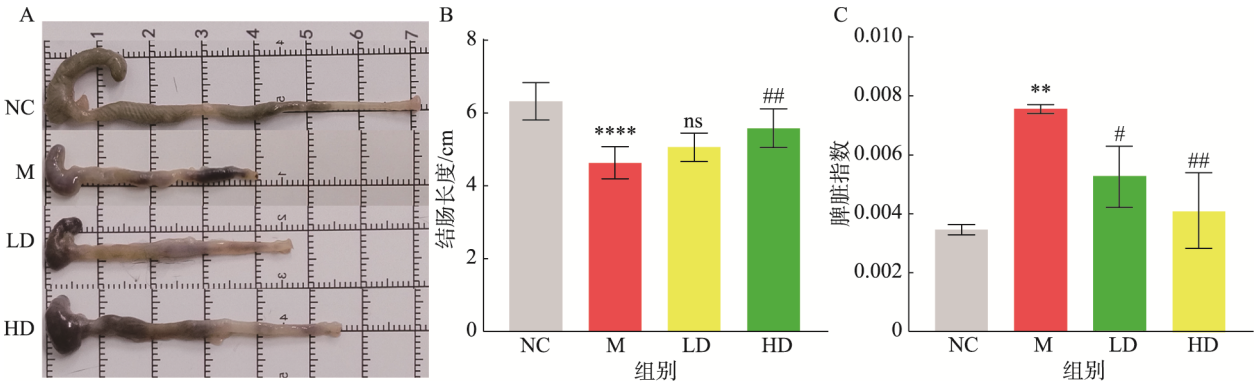
关于脾脏指数变化，与对照组相比，模型组小鼠出现脾脏肿大，脾脏指数极显著升高(P<0.01)。与模型组相比，格氏乳杆菌低剂量组和高剂量组小鼠的脾脏肿大均有所减轻，脾脏指数均下降(P<0.05)，其中高剂量组的下降幅度更为显著(P<0.01，图 7C)。这些结果提示，格氏乳杆菌能够减轻溃疡性结肠炎小鼠的肠道炎症损伤，并增强机体的免疫功能。



注：与对照组相比，*表示差异显著(P<0.05)；****表示差异极高显著(P<0.0001)；与模型组相比，#表示差异显著(P<0.05)；##表示差异极显著(P<0.01)。NC：对照组；M：模型组；LD：低剂量格氏乳杆菌组；HD：高剂量格氏乳杆菌组。下同。

图 6 格氏乳杆菌对 DSS 诱导的结肠炎小鼠体质量和 DAI 评分的影响(n=5)

Fig.6 Effects of *Lactobacillus gasseri* on body weight and DAI scores in DSS-induced colitis mice (n=5)



注：与对照组相比，**表示差异极显著(P<0.01)；与模型组相比，ns 表示无显著性差异；下同。

图 7 格氏乳杆菌对 DSS 诱导的结肠炎小鼠结肠长度和脾脏指数的影响(n=5)

Fig.7 Effects of *Lactobacillus gasser* on colon length and spleen index in mice with DSS-induced colitis (n=5)

2.2.3 格氏乳杆菌对小鼠结肠组织形态的影响

HE 染色结果如图 8A 所示。对照组小鼠的结肠组织结构完整，形态正常，隐窝排列整齐，未见炎症细胞浸润。模型组小鼠的结肠组织则表现出明显的隐窝变形、杯状细胞丢失以及炎症细胞浸润，导致严重的黏膜损伤。在格氏乳杆菌低剂量组中，仅观察到少量隐窝变形和炎症细胞浸润，与模型组相比，组织炎症状态有所减轻。格氏乳杆菌高剂量组的结肠黏膜组织结构基本完整，大部分区域的杯状细胞排列相对整齐，炎性细胞的数量和浸润范围显著减少，仅局部区域出现腺体缺失和排列紊乱。

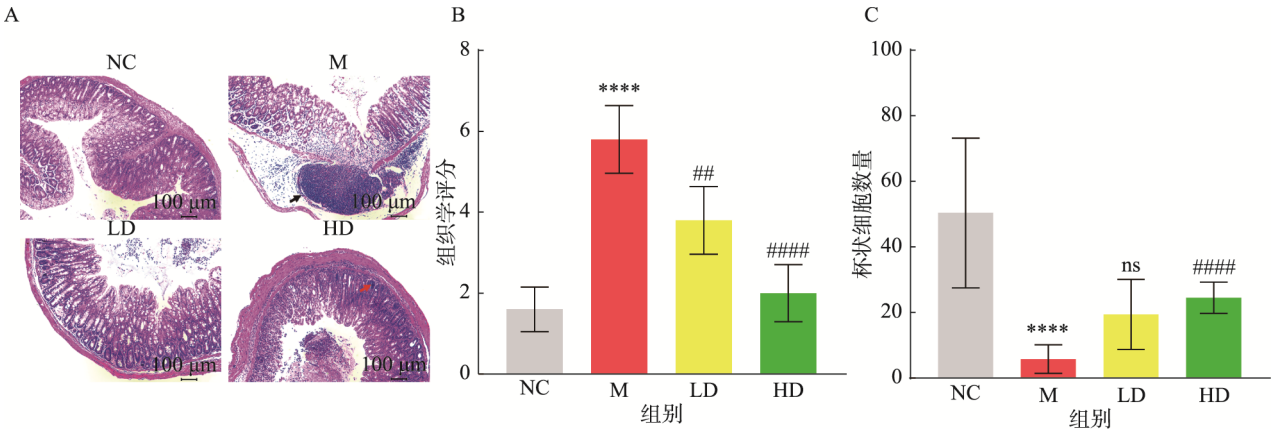
参照 Shi 等[20]的评分标准，根据炎症程度、损伤深度及隐窝损伤程度对小鼠结肠组织切片进行组织病理学评分。每个组织切片随机选取至少 3 个视野，由两名观察者采用盲法独立评分，取平均值作为最终结果。与正常对照组相比，模型组小鼠的结肠组织病理学评分强极显著升高(P<0.0001)。与模型组相比，格氏乳杆菌低剂量组和高剂量组小鼠的结肠黏膜损伤均得到改善，组织病理学评分显著降低(P<0.01, P<0.0001，图 8B)。

杯状细胞是肠道上皮细胞的一种，其主要功能是分泌黏液，在肠道表面形成保护性屏障，防止病原体和毒素直接接触肠上皮细胞[21]。杯状细胞的数量可直接反映肠道黏膜屏障的健康状况。采用经典的杯状细胞计数方法对 4 个处理组进行统计(图 8C)。与模型组相比，格氏乳杆菌低剂量组和高剂量组的杯状细胞数量均有所增加，其中高剂量组的增加趋势更为显著(P<0.05)。上述结果表明，格氏乳杆菌对结肠炎小鼠具有一定的改善作用，能够减轻由 DSS 诱导

的结肠黏膜损伤，从而发挥保护肠道黏膜的功能。

2.3　格氏乳杆菌改善结肠组织中相关炎症因子缓解小鼠结肠炎

各组小鼠血清中炎症因子 IL-1β、IL-6 及 TNF-α 的表达水平如图 9 所示。与对照组相比，模型组小鼠血清中上述炎症因子的表达水平均显著升高(P<0.05, P<0.0001)。相较于模型组，格氏乳杆菌低剂量组和高剂量组小鼠血清中 IL-1β 及 TNF-α 的表达均呈现不同程度的下降趋势，但无统计学差异；而高、低剂量干预组中的 IL-6 水平则显著降低(P<0.0001)。实验结果显示，模型组小鼠血清中 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 的炎症水平显著升高，而格氏乳杆菌干预可在一定程度上降低这些炎症因子的表达，提示格氏乳杆菌能够减轻由 DSS 诱导的炎症反应，从而对结肠炎发挥改善作用。



注: A. 各组小鼠结肠组织 HE 染色情况。黑色箭头：中性粒细胞浸润，红色箭头：炎症细胞浸润; B. 各组小鼠结肠组织病理学评分; C. 各组小鼠结肠组织杯状细胞数量统计。与对照组相比，####表示差异强极显著(P<0.0001)。下同。

图 8　各组小鼠结肠组织的病理学变化(HE 染色，×10，n=5)

Fig.8　Histopathological changes in the colon tissues of mice from each group (HE staining, ×10, n=5)

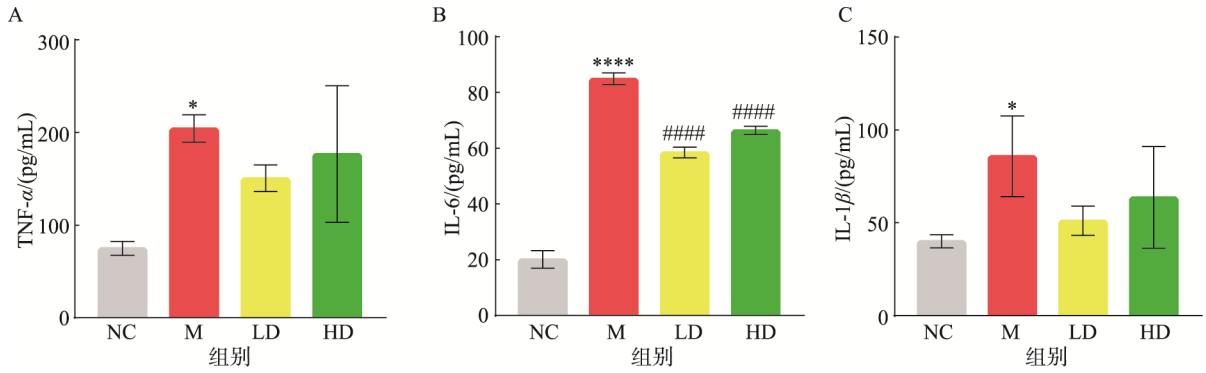


图 9　格氏乳杆菌对 DSS 结肠炎小鼠的炎症细胞因子的影响(n=3)

Fig.9　Effects of *Lactobacillus gasseri* on inflammatory cytokines in DSS-induced colitis mice (n=3)

3　讨论与结论

本研究系统探讨了格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 对 DSS 诱导的结肠炎小鼠模型的治疗效应及其潜在机制。通过整合基因组学、体内表型、肠道屏障功能及免疫调节等多维度分析，本研究证实该菌株能够通过多通路协同作用有效减轻肠道炎症，为其作为潜在益生菌候选株的开发与应用提供了坚实的实验依据。

格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 的基因组特征构成了其益生功能的核心分子基础。比较基因组学分析发现，该菌株特异性富集了与糖酵解/糖异生、丙酮酸代谢、磷酸戊糖途径以及酒精代谢相关的基因，这些基因簇为其益生特征提供了关键的分子支持[22]。具体而言，糖酵解/糖异生途径中的关键酶编码基因(K01689、K00844)的富集增强了菌株的乳酸生成能力，有助于降低肠道 pH，从而抑制潜在病原菌的生长[23]；丙酮酸代谢通路的核心基因(K00627、K01785)可促进 SCFAs 的生物合成，为肠黏膜屏障的修复提供能量底物[24]。磷酸戊糖途径中的抗氧化相关基因(K00382)则提升了菌株在肠道氧化应激环境中的存活与定植能力[25]。此外，酒精代谢途径中的醛类代谢基因(K00134)有助于减少肠道内毒性醛类物质的积累，减轻其对黏膜的损伤[26]。

动物实验结果表明，格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 能够显著改善结肠炎小鼠的疾病表型及肠道组织病理损伤。在本研究中，DSS 模型组小鼠表现出持续的体重下降、DAI 评分升高以及结肠长度缩短等典型炎症症状。经 GMLCA-Lac 1 干预后，这些指标均得到明显逆转。组织病理学评估进一步揭示，该菌株可有效恢复结肠黏膜上皮的完整性，减少隐窝结构的破坏和炎症细胞浸润，从而降低组织病理学评分，且高剂量干预组的改善效果更为显著。肠道黏液屏障是抵御病原体入侵的首道防线，其功能主要依赖于杯状细胞的数目与活性[27]。本研究发现，GMLCA-Lac 1 处理能显著增加结肠炎小鼠结肠组织中杯状细胞的数量，其中低剂量组的提升作用尤为明显，提示该菌株可能通过促进黏液分泌来增强肠道屏障的防御功能，减少有害物质对上皮层的侵袭。这一发现与基因组分析中丙酮酸代谢通路基因富集的结果相互印证[7]。

免疫调节与肠道菌群的重塑是 GMLCA-Lac 1 缓解结肠炎的关键机制。脾脏作为机体最大的外周免疫器官，其指数的异常升高常反映免疫系统的过度激活[4]。本研究显示，模型组小鼠的脾脏指数显著增高，而 GMLCA-Lac 1 干预后，尤其是低剂量组，能有效降低脾脏指数，表明该菌株有助于恢复免疫稳态，避免过度的炎症反应造成组织二次损伤。炎症因子检测结果进一步证实，GMLCA-Lac 1 可下调小鼠血清中 IL-1β、IL-6、TNF-α 等促炎因子的表达水平，减少炎症细胞浸润，从而减轻肠道炎症损伤。已有研究指出，IL-1β 和 TNF-α 可通过激活 NF-κB 信号通路加剧肠黏膜损伤，而某些益生菌能够通过抑制该通路来降低促炎因子的表达[28–29]。此外，血清中 IL-6 表达水平极显著下调，有相关临床与基础研究表明，IL-6 可通过激活 JAK/STAT3 炎症信号通路，介导肠道黏膜固有层巨噬细胞、中性粒细胞等固有免疫细胞异常活化，进一步促进 IL-1β、TNF-α 等促炎因子的释放，从而加剧肠道局部炎症反应[30–31]。因此，推测 GMLCA-Lac 1 可能通过类似的分子机制发挥其抗炎作用。

综上所述，格氏乳杆菌 GMLCA-Lac 1 凭借其独特的基因组背景，通过多重协同机制，以剂量依赖性的方式有效缓解了 DSS 诱导的小鼠结肠炎。本研究不仅为 GMLCA-Lac 1 的后续开发与应用提供了重要的实验支持，也为炎症性肠病的微生态干预策略提供了新的思路和理论依据。

参考文献

[1] Ananthakrishnan A N. Epidemiology and risk factors for IBD [J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2015, 12(4): 205–217.

[2] Alatab S, Sepanlou S G, Ikuta K, et al. The global, regional, and national burden of inflammatory bowel disease in 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 [J]. The Lancet Gastroenterology & Hepatology, 2020, 5(1): 17–30.

[3] Buie M J, Quan J, Windsor J W, et al. Global hospitalization trends for Crohn's disease and ulcerative colitis in the 21st century: a systematic review with temporal analyses [J]. Clinical Gastroenterology and Hepatology, 2023, 21(9): 2211–2221.

[4] Rubin D T, Ananthakrishnan A N, Siegel C A, et al. ACG clinical guideline: ulcerative colitis in adults [J]. The American Journal of Gastroenterology, 2019, 114(3): 384–413.

[5] Elhag D A, Kumar M, Saadaoui M, et al. Inflammatory bowel disease treatments and predictive biomarkers of therapeutic response [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(13): 6966.

[6] Schirmer M, Garner A, Vlamakis H, et al. Microbial genes and pathways in inflammatory bowel disease [J]. Nature Reviews Microbiology, 2019, 17(8): 497–511.

[7] D'Haens G, Rieder F, Feagan B G, et al. Challenges in the pathophysiology, diagnosis, and management of intestinal fibrosis in inflammatory bowel disease [J]. Gastroenterology, 2022, 162(1): 26–31.

[8] Temido M J, Honap S, Jairath V, et al. Overcoming the challenges of overtreating and undertreating inflammatory bowel disease [J]. The Lancet Gastroenterology & Hepatology, 2025, 10(5): 462–474.

[9] Lloyd-Price J, Arze C, Ananthakrishnan A N, et al. Multi-omics of the gut microbial ecosystem in inflammatory bowel diseases [J]. Nature, 2019, 569(7758): 655–662.

[10] Fan Yong, Pedersen O. Gut microbiota in human metabolic health and disease [J]. Nature Reviews Microbiology, 2021, 19(1): 55–71.

[11] Baltazar-Díaz T A, González-Hernández L A, Aldana-Ledesma J M, et al. *Escherichia*/*Shigella*, SCFAs, and metabolic pathways-the triad that orchestrates intestinal dysbiosis in patients with decompensated alcoholic cirrhosis from western Mexico [J]. Microorganisms, 2022, 10(6): 1231.

[12] Kochkarian T, Nagy H I, Li Qingjie. Gut-heart axis: cardiac remodeling and heart failure in the context of inflammatory bowel disease and dysbiosis [J]. American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology, 2025, 329(1): G122–G137.

[13] Estevinho M M, Yuan Yuhong, Rodríguez-Lago I, et al. Efficacy and safety of probiotics in IBD: an overview of systematic reviews and updated meta-analysis of randomized controlled trials [J]. United European Gastroenterology Journal, 2024, 12(7): 960–981.

[14] Qian Guanru, Zhang Hui, Tang Jingtong, et al. *Lactobacillus gasseri* ATCC33323 affects the intestinal mucosal barrier to ameliorate DSS-induced colitis through the $NR1I_3^-$ mediated regulation of E-cadherin [J]. PLoS Pathogens, 2024, 20(9): e1012541.

[15] Zhang Weiqin, Quan Keyu, Feng Cuijiao, et al. The *Lactobacillus gasseri* G098 strain mitigates symptoms of DSS-induced inflammatory bowel disease in mice [J]. Nutrients, 2022, 14(18): 3745.

[16] Salminen S, Collado M C, Endo A, et al. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics [J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2021, 18(9): 649–667.

[17] Katsandegwaza B, Horsnell W, Smith K. Inflammatory bowel disease: a review of pre-clinical murine models of human disease [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(16): 9344.

[18] Cooper H S, Murthy S N, Shah R S, et al. Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis [J]. Laboratory Investigation, 1993, 69(2): 238–249.

[19] Qin Yan, Zhang Ruiya, Zhang Yu, et al. Network pharmacology and *in vivo* study: unraveling the therapeutic mechanisms of *Panax ginseng* in potentially treating ulcerative colitis [J]. World Journal of Gastroenterology, 2025, 31(9): 100271.

[20] Shi Jialu, Du Peng, Xie Qinggang, et al. Protective effects of tryptophan-catabolizing *Lactobacillus* plantarum KLDS 1.0386 against dextran sodium sulfate-induced colitis in mice [J]. Food & Function, 2020, 11(12): 10736–10747.

[21] Johansson M E V, Hansson G C. Immunological aspects of intestinal mucus and mucins [J]. Nature Reviews Immunology, 2016, 16(10): 639–649.

[22] Fu Tianyu, Wang Yamin, Ma Mingfeng, et al. Isolation of alginate-degrading bacteria from the human gut microbiota and discovery of *Bacteroides xylanisolvens* AY11-1 as a novel anti-colitis probiotic bacterium [J]. Nutrients, 2023, 15(6): 1352.

[23] Jin Hao, Ma Teng, Chen Lin, et al. The iLABdb: a web-based integrated lactic acid bacteria database [J]. Science Bulletin, 2023, 68(21): 2527–2530.

[24] Cani P D, de Vos W M. Next-generation beneficial microbes: the case of *Akkermansia muciniphila* [J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1765.

[25] Roberts A, Barrangou R. Applications of CRISPR-Cas systems in lactic acid bacteria [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2020, 44(5): 523–537.

[26] Rizzatti G, Lopetuso L R, Gibiino G, et al. Proteobacteria: a common factor in human diseases [J]. BioMed Research International, 2017, 2017: 9351507.

[27] Swidsinski A, Ladhoff A, Pernthaler A, et al. Mucosal flora in inflammatory bowel disease [J]. Gastroenterology, 2002, 122(1): 44–54.

[28] Morgan X C, Tickle T L, Sokol H, et al. Dysfunction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel disease and treatment [J]. Genome Biology, 2012, 13(9): R79.

[29] Tong Lingjun, Zhang Xinyi, Hao Haining, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG derived extracellular vesicles modulate gut microbiota and attenuate inflammatory in DSS-induced colitis mice [J]. Nutrients, 2021, 13(10): 3319.

[30] Yao Danhua, Zhou Zhiyuan, Wang Pengfei, et al. miR-125-5p/IL-6R axis regulates macrophage inflammatory response and intestinal epithelial cell apoptosis in ulcerative colitis through JAK1/STAT3 and NF-*κ*B pathway [J]. Cell Cycle, 2021, 20(23): 2547–2564.

[31] Neurath M F. Targeting immune cell circuits and trafficking in inflammatory bowel disease [J]. Nature Immunology, 2019, 20(8): 970–979.

(责任编辑: 韩晓红　曹岱琳)