

任行,白净,张浚琪,等.自体粪菌移植对结肠肿瘤生长抑制及其紧密连接蛋白调控作用的实验研究[J].中国比较医学杂志,2026,36(6):31-40.

Ren H, Bai J, Zhang JQ, et al. Experimental study on the inhibitory effect of autologous fecal microbiota transplantation on colon tumor growth and its regulatory effect on tight junction proteins [J]. Chin J Comp Med, 2026, 36(6): 31-40.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2026.06.004

自体粪菌移植对结肠肿瘤生长抑制及其紧密连接蛋白调控作用的实验研究

任 行¹,白 净²,张浚琪¹,叶学帅¹,檀梦天¹,孙宇航³,李 磊⁴,付泽娴^{5*}

(1.河北工程大学临床医学院,河北 邯郸 056038;2.河北工程大学附属医院老年病科,河北 邯郸 056002;3.河北工程大学附属医院医学整形美容科,河北 邯郸 056002;
4.河北工程大学附属医院普外中心,河北 邯郸 056002;5.河北工程大学医学院,河北 邯郸 056038)

【摘要】 目的 通过自体粪菌移植(AFMT)干预,观察氧化偶氮甲烷(AOM)/葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的结肠炎相关结直肠癌(CAC)小鼠结肠肿瘤情况,探究 AFMT 通过影响紧密连接蛋白发挥的抑瘤作用及其机制。**方法** SPF 级雌性 BALB/c 小鼠随机分为空白对照组、CAC 模型组和 AFMT 干预组,每组 8 只。CAC 模型组按照 10 mg/kg 腹腔注射 AOM 1 次,连续饮用 3.5% DSS 7 d,连续饮用 0% DSS 14 d,为 1 个循环,共计 3 个循环,构建 CAC 模型;AFMT 干预组在构建 CAC 模型时同步给予 0.1 mL 自体菌液隔天灌胃至循环结束;空白对照组无特殊处理。观察小鼠基本情况并记录体重。实验结束后测量结肠长度和记录肿瘤数目,进行结肠病理学检查,使用 Western blot 和 RT-qPCR 检测结肠组织 Occludin (OCLN)、Claudin-1 (CLDN1) 的 mRNA 和蛋白表达水平,同时采用 16S rRNA 测序技术对各组小鼠粪便样本菌群进行鉴定分析。**结果** 与空白对照组相比,CAC 模型组结肠长度显著缩短($P<0.0001$),肿瘤数目明显增多。经 AFMT 干预后,小鼠结肠长度缩短减轻($P<0.01$),肿瘤数目减少($P<0.05$)。小鼠结肠组织学检查可见 CAC 模型组结肠隐窝结构扭曲,杯状细胞减少,炎性细胞数量增加($P<0.01$),经 AFMT 干预后,隐窝结构和杯状细胞有所改善,炎性细胞减少($P<0.05$)。与空白对照组相比,CAC 模型组小鼠结直肠肿瘤组织中 Occludin 和 Claudin-1 的蛋白表达水平显著降低($P<0.05$, $P<0.01$),经 AFMT 干预后结直肠肿瘤组织中 Occludin、Claudin-1 的蛋白表达水平显著上升($P<0.05$)。与空白对照组相比,CAC 模型组中 OCLN 和 CLDN1 的 mRNA 表达水平显著下调($P<0.05$);经 AFMT 干预后,其 mRNA 表达水平显著回升($P<0.05$)。与空白对照组相比,AFMT 干预组厚壁菌门(*Firmicutes*)和拟杆菌门(*Bacteroidota*)相对丰度差异无统计学意义($P>0.05$),CAC 模型组 *Firmicutes* 相对丰度降低($P<0.05$),*Bacteroidota* 相对丰度增高($P<0.05$)。**结论** AFMT 干预可恢复肠道 *Firmicutes* 相对丰度,降低 *Bacteroidota* 相对丰度,有效改善肿瘤环境中紧密连接蛋白的异常表达,修复肠道屏障,从而调节肠道屏障功能,改善肠道炎症,有效缓解 CAC 病理进程。

【关键词】 自体粪菌移植;结肠炎相关结直肠癌;肠道菌群;Occludin;Claudin-1

【中图分类号】 R735.3⁺5;R-33;R392 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2026) 06-0031-10

Experimental study on the inhibitory effect of autologous fecal microbiota transplantation on colon tumor growth and its regulatory effect on tight junction proteins

[基金项目] 河北省教育厅科学研究项目(ZD2022039);河北省三三三人才工程项目(C20231057)。

[作者简介] 任行(1998—),男,在读硕士研究生,研究方向:肠道菌群及胃肠肿瘤治疗。E-mail:1443678414@qq.com

[通信作者] 付泽娴(1980—),男,博士,副教授,硕士生导师,研究方向:胃肠道肿瘤免疫治疗,肠道菌群和肿瘤。

E-mail:fuzexian@hebeu.edu.cn

REN Hang¹, BAI Jing², ZHANG Junqi¹, YE Xueshuai¹, TAN Mengtian¹, SUN Yuhang³, LI Lei⁴, FU Zexian^{5*}

(1. School of Clinical Medicine, Hebei University of Engineering, Handan 056038, China.

2. Department of Geriatrics, Affiliated Hospital of Hebei University of Engineering, Handan 056002.

3. Medical Plastic Surgery and Cosmetic Center, Affiliated Hospital of Hebei University of Engineering,

Handan 056002. 4. General Surgery Center, Affiliated Hospital of Hebei University of Engineering,

Handan 056002. 5. School of Medicine, Hebei University of Engineering, Handan 056038)

【Abstract】 Objective To observe colon tumor status in mice with azoxymethane/dextran sodium sulfate (AOM/DSS)-induced colitis-associated colorectal cancer (CAC) following autologous fecal microbiota transplantation (AFMT), and to investigate the anti-tumor effects and underlying mechanism of AFMT through its influence on tight junction proteins. **Methods** Female specific-pathogen-free BALB/c mice were divided randomly into blank control, CAC model, and AFMT intervention groups ($n = 8$ per group). CAC model mice received a single intraperitoneal injection of AOM (10 mg/kg), followed by drinking water containing 3.5% DSS for 7 days, followed by 0% DSS for 14 days, constituting one cycle; three cycles were performed to establish the CAC model. Mice in the AFMT group received daily AFMT (0.1 mL autologous fecal suspension) via gavage every other day concurrent with the CAC modeling protocol until cycle completion. Control mice received no special treatment. The general condition and body weight of the mice were monitored. Upon completion of the experiment, colon length was measured, tumor numbers were recorded, and colon pathology was examined. mRNA and protein expression levels of the tight junction proteins Occludin (OCLN) and Claudin-1 (CLDN1) in colorectal tumor tissue were detected by reverse transcription-polymerase chain reaction and Western blot, respectively. The fecal microbiota composition in each group was analyzed using 16S rRNA gene sequencing. **Results** Compared with the blank control group, the CAC model group showed significantly shortened colon length ($P < 0.0001$) and a marked increase in tumor number. After AFMT intervention, the shortening of colon length was alleviated ($P < 0.01$), and the number of tumors was reduced ($P < 0.05$). Histological examination of mouse colon tissues revealed distorted crypt structures, reduced goblet cells, and increased inflammatory cell infiltration in the CAC model group ($P < 0.01$). After AFMT intervention, the crypt structure and goblet cells improved, and inflammatory cells decreased ($P < 0.05$). Compared with the blank control group, the protein expression levels of Occludin and Claudin-1 in colorectal tumor tissues of the CAC model group were significantly decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). After AFMT intervention, the protein expression levels of Occludin and Claudin-1 in colorectal tumor tissues significantly increased ($P < 0.05$). As compared to the blank control group, the mRNA expression levels of OCLN and CLDN1 in the CAC model group were significantly downregulated ($P < 0.05$); after AFMT intervention, their mRNA expression levels significantly recovered ($P < 0.05$). Compared with the blank control group, there was no statistically significant difference in the relative abundance of *Firmicutes* and *Bacteroidota* in the AFMT intervention group ($P < 0.05$). In the CAC model group, the relative abundance of *Firmicutes* decreased ($P < 0.05$), while the relative abundance of *Bacteroidota* increased ($P < 0.05$). **Conclusions** AFMT intervention can restore the relative abundance of *Firmicutes* and reduce the relative abundance of *Bacteroidota* in the gut, effectively improve the aberrant expression of tight junction proteins within the tumor microenvironment, repair the intestinal barrier, regulate intestinal barrier function, alleviate intestinal inflammation, and consequently mitigate the pathological progression of CAC.

【Keywords】 autologous fecal microbiota transplantation; colitis-associated colorectal cancer; intestinal microbiota; Occludin; Claudin-1

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)源于大肠上皮细胞的恶性转化,其发生涉及多种复杂因素,包括个体自身特征(如年龄、性别、遗传易感

性)和环境暴露(如特定饮食习惯、肥胖、吸烟)^[1],以及慢性炎症、幽门螺杆菌感染、基因突变、表观遗传改变、免疫功能紊乱等^[2]内在病理

生理变化。在 CRC 的诸多亚型中,结肠炎相关结直肠癌 (colitis-associated colorectal cancer, CAC) 是一种具有明确炎症驱动特征的重要亚型,其主要发生在炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 等慢性肠道炎症背景下^[3]。近年来,肠道菌群失调破坏肠道黏膜屏障功能并诱发慢性炎症反应^[4]。肠道菌群失调作为 CRC 发生发展的危险因素受到广泛关注^[5]。完整的肠道上皮物理屏障结构以及肠道微生物群与宿主免疫系统间的稳态平衡^[6]为机体营养吸收和免疫防御提供了保障。由 Occludin、Claudin-1 等构成的紧密连接结构 (tight junctions, TJ) 是维持肠上皮细胞间密封性和通透性的核心结构,该屏障的破坏为病原体 and 炎症因子侵袭提供了途径^[7,8]。粪菌移植 (fecal microbiota transplantation, FMT) 是一种通过移植健康供体粪便中的功能菌群给患者,以重建其肠道微生态平衡的治疗手段^[9]。该疗法在治疗复发性艰难梭菌感染方面已展现出显著疗效^[10]。FMT 能够调节宿主免疫反应,促进 IL-10 的产生,减弱抗原呈递细胞的功能,从而改善肠道损伤^[11]。益生菌的干预可影响肠道菌群的组成和功能,从而间接影响肠道紧密连接蛋白,改善肠道屏障功能,发挥抑瘤作用,其研究鲜有报道^[12]。本研究在氧化偶氮甲烷 (azoxymethane, AOM) 联合葡聚糖硫酸钠 (dextran sodium sulfate, DSS) 处理的化学诱导方案下,构建 CAC 模型,通过 AFMT 干预,观察小鼠肠道菌群差异对小鼠荷瘤状态的影响,从而明确 AFMT 对结肠癌的抑制作用,为临床结直肠癌个性化治疗提供理论基础和实验支撑。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 BALB/c 雌性小鼠 24 只,6 周龄,体重 (20±2) g,购自斯贝福 (北京) 生物技术有限公司 [SCXK (京) 2024-0001]。动物实验经河北工程大学医学院生物医学伦理委员会审批通过 (BER-YXY-2024021),在河北工程大学附属医院动物实验中心进行 [SYXK (冀) 2023-001]。温度条件为 (20±5) °C,湿度条件为 (55±5) %,实验动物可自由饮水和进食,同时维持 12 h/12 h 光照/黑暗循环制度。该实验设计严格遵循了实验动

物 3R 原则,给予人道关怀。

1.2 主要试剂与仪器

AOM (上海阿拉丁生化科技有限公司,批号 H2202036); DSS (北京酷来搏科技有限公司,批号 CD33173050); Occludin 蛋白抗体 (上海埃必威生物技术有限公司,批号 F139609); Claudin-1 蛋白抗体 (上海埃必威生物技术有限公司,批号: F145511); 飞敏™ 型 ECL 发光液 (上海圣尔生物科技有限公司,批号: SA25); BCA 蛋白定量试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司,批号 2500030003); 总 RNA 提取试剂盒、逆转录试剂盒、GoTaq PCR Master Mix 试剂盒 (Promega 公司,批号: 0000610379、0000604660、0000614550)。Mini-PROTEAN Tetra 型蛋白垂直电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司); CFX96 Touch 型荧光定量 PCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司); Noofuge1600 台式高速离心机 (河北恒一联华检测科技有限公司); JB-P5 包埋机 (武汉俊杰电子有限公司); RM2016 病理切片机 (上海徕卡仪器有限公司); KD-P 组织摊片机 (浙江金华科迪仪器设备有限公司); GFL-230 病理切片烤箱 (天津市莱玻瑞仪器设备有限公司); DS-2S100 脱色摇床 (武汉赛维尔生物科技有限公司); MV-100 涡旋混匀仪 (武汉赛维尔生物科技有限公司); D1008E 掌上离心机 (武汉赛维尔生物科技有限公司); E100 显微镜 (尼康仪器有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 实验分组及模型构建

24 只小鼠经过为期 1 周的适应期性饲养后,依据小鼠体质量,按照随机数分配、余数归组法被随机分为空白对照组、CAC 模型组和 AFMT 干预组,每组各 8 只。CAC 模型组构建按照 10 mg/kg 腹腔注射 AOM 1 次,饮用 3.5% DSS 7 d,饮用 0% DSS 14 d 为 1 个循环,共计 3 个循环。AFMT 干预组在 CAC 模型组构建基础上给予 0.1 mL 自体菌液隔天灌胃;空白对照组无特殊处理。观察各组小鼠每天基本情况并记录。

1.3.2 AFMT 自体菌液制备及干预操作

在适应性饲养期间,每天收集小鼠新鲜粪便,并逐一做好对应标记,将每只小鼠的粪便按质量: 体积=1:5 加入 0.9% 氯化钠溶液进行溶解,组织研磨器混匀后经细胞筛反复过滤,去除

大颗粒物物质后获得粪菌悬液^[13],进行标记后备用。使用灌胃针按照每只 0.1 mL,隔天灌胃 1 次,灌胃结束后观察小鼠一般情况后继续实验。

1.3.3 样本取材

实验结束后处死小鼠,测量自肛门至盲肠的结肠长度,以及结肠表面瘤体数量、生长位置和大小等相关情况。

1.3.4 病理组织学检查及评分

截取肛门近端约 3 cm 结肠段,4%多聚甲醛固定 24 h。依次梯度乙醇脱水、石蜡包埋,切取 0.4 μm 连续切片。经苏木精-伊红(hematoxylin-eosin,HE)染色,评估结肠黏膜病理形态学变化。根据盲法原则,由两位不知晓实验分组情况的病理学专家对样本中相关病变的程度进行评估,并从炎症浸润和组织损伤进行评分。按严重程度分为 0~3 分,最终将两项得分相加,得到组织病理学总评分^[14],评分细则见表 1。

表 1 AOM/DSS 模型组织病理评分细则
Table 1 Histopathological scoring criteria for the AOM/DSS model

评分项目 Scoring items	组织学表现描述 Histological presentation description	得分 Score
炎症浸润 Inflammatory infiltration	固有层中偶见炎症细胞 Occasional inflammatory cells are seen in the lamina propria	0
	固有层中炎症细胞数量增加 Increased number of inflammatory cells in the lamina propria	1
	炎症细胞融合并延伸至粘膜下层 Inflammatory cells fuse and extend into the submucosa	2
	炎症浸润透壁延伸 Inflammatory infiltration extending through the wall	3
组织损伤 Tissue injury	无粘膜损伤 No mucosal injury	0
	出现淋巴上皮病变 Presence of lymphoepithelial lesions	1
	表面粘膜糜烂或局灶性溃疡 Superficial mucosal erosion or focal ulcer	2
	广泛粘膜损伤并延伸至肠壁更深层结构 Extensive mucosal injury extending into deeper layers of the intestinal wall	3

表 2 引物序列信息
Table 2 Information for gene sequences

基因 Gene	引物(5'-3') Primer(5'-3')	长度/bp Length/bp
OCN	F:TTGAAAGTCCACCTCCTTACAGA R:CCGGATAAAAAGAGTACGCTGG	129
CLDN1	F:GGGGACAACATCGTGACCG R:AGGAGTCGAAGACTTTGCACT	100
GAPDH	F:AGGTCGGTGTGAACGGATTTG R:TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA	123

1.3.5 结肠组织 RT-qPCR 基因检测

使用总 RNA 提取试剂盒提取结肠组织 RNA。利用逆转录试剂盒获得 cDNA。采用 Primer 软件设计 GAPDH、OCN、CLDN1 引物序列,并由生工生物(上海)合成(表 2)。使用 GoTaq PCR Master Mix 试剂盒以 GAPDH 为内参,以 OCN、CLDN1 为目的基因进行 RT-qPCR 扩增并检测其转录水平。采用 2^{-ΔΔCt} 法计算目的基因相对表达量并进行差异比较分析。

1.3.6 结肠组织 Western blot 实验

将适量结肠组织剪碎后充分研磨裂解;BCA 法定量蛋白浓度。取等量总蛋白进行电泳,湿转法移至 PVDF 膜。5%脱脂奶粉室温封闭 2 h,4 ℃ 下分别孵育 Claudin-1(1 : 1000)和 Occludin(1 : 1000)一抗过夜。次日以 TBST 洗膜 3 次,每次 10 min,再于室温孵育 HRP 标记的二抗 1 h。TBST 重复洗涤 3 次后,ECL 显色成像。实验独立

重复 3 次,以 GAPDH 作为内参进行半定量分析。进行条带灰度值分析。

1.3.7 肠道菌群检测

采用 QIIME2 (2022.2) 执行 ASVs 聚类与丰度分析;使用 QIIME2 的 SILVA138 数据库进行群落物种注释。

1.4 统计学方法

采用 GraphPad Prism 10 统计分析软件进行分析。实验结果用平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,计数资料用 t 检验,等级资料用秩和检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结肠长度结果

CAC 模型组小鼠的结肠长度(6.94 ± 0.52 cm)明显小于空白对照组(9.71 ± 1.10 cm),差异具有统计学意义($P<0.0001$)。经 AFMT 干预后小鼠的结肠长度(8.27 ± 0.77 cm)缩短,与 CAC 模型组相比显著改善($P<0.01$),如图 1 所示。

2.2 肿瘤数目检测

经过 AFMT 干预后 AFMT 干预组(2.75 ± 1.28 个)结肠可视肿瘤数目少于 CAC 模型组(4.00 ± 0.93 个),差异具有统计学意义($P<0.05$),如图 2 所示。

2.3 结肠组织病理观察及评分结果

空白对照组小鼠结肠隐窝结构规则,隐窝深度和形状相对一致,杯状细胞排列紧密,未见炎性浸润。CAC 模型组结肠隐窝结构扭曲,杯状细胞减少,大量炎性细胞浸润。AFMT 干预组隐窝结构和杯状细胞有所改善,炎性细胞减少,结果如图 3A 所示。CAC 模型小鼠的病理评分较空白对照组显著升高($P<0.0001$),经 AFMT 干预后相较于 CAC 模型组小鼠的病理评分显著降低($P<0.05$),结果如图 3B 所示。

2.4 结肠病理结果

CAC 模型组炎性细胞数量高于空白对照组($P<0.01$);经 AFMT 干预后炎性细胞数量较 CAC 模型组显著降低($P<0.05$),结果见表 3。

2.5 结肠组织 OCLN、CLDN1 基因表达结果

CAC 模型组结直肠肿瘤组织的 OCLN、CLDN1 mRNA 表达量显著低于空白对照组($P<0.05$)。经 AFMT 干预后,相较于 CAC 模型组, OCLN、CLDN1 表达水平显著升高($P<0.05$),结果见表 4。

2.6 结肠组织 Occludin、Claudin-1 蛋白表达结果

CAC 模型组小鼠的结直肠肿瘤组织中, Occludin、Claudin-1 蛋白表达较空白对照组显著下调($P<0.05$, $P<0.01$)。AFMT 干预后,相较于 CAC 模型组, Occludin、Claudin-1 蛋白表达水平均显著升高($P<0.05$),结果见图 4。



注:A:小鼠宏观结肠长度比较;B:小鼠结肠平均长度差异比较。与空白对照组相比,**** $P<0.0001$;与 CAC 模型组相比,## $P<0.01$ 。

图 1 3 组小鼠结肠对比

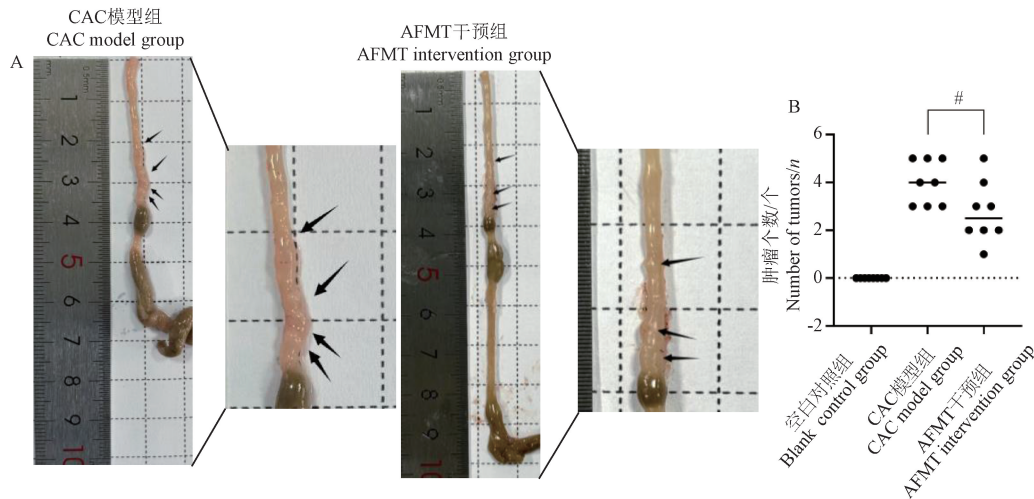
Note. A, Comparison of macroscopic colon length in mice. B, Comparison of the difference in the average length of the colon in mice. Compared with the blank control group, **** $P<0.0001$. Compared with the CAC model group, ## $P<0.01$.

Figure 1 Comparison of the colon of three groups of mice

2.7 肠道菌群差异物种分析结果

基于 16S rRNA 测序获取菌群序列数据,通过生物信息学流程将序列分类至不同分类单元,并计算各单元的相对丰度。物种累计柱状分析通过堆叠图可视化不同样本在门水平的菌群组成差异,与空白对照组,CAC 模型组显著抑制肠

道菌群厚壁菌门 (*Firmicutes*) 相对丰度 ($P < 0.05$); AFMT 干预组 *Firmicutes* 相对丰度与空白对照组相比无显著性差异 ($P > 0.05$)。在 CAC 模型组小鼠肠道菌群中拟杆菌门 (*Bacteroidota*) 相对丰度显著高于空白对照组 ($P < 0.05$), AFMT 干预组差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 结果见图 5。

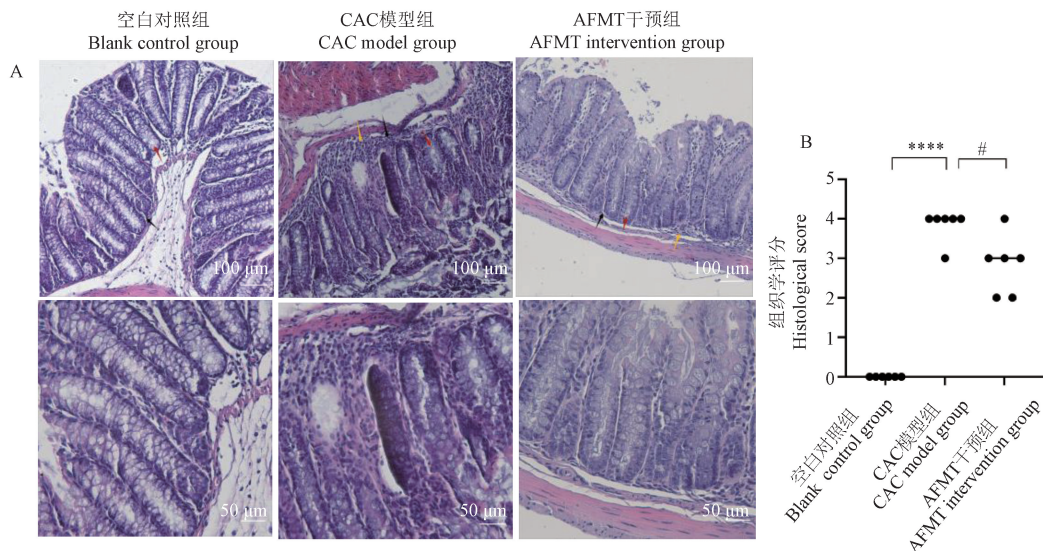


注:A:小鼠结肠宏观图(黑色箭头处为肿瘤);B:3组结肠肿瘤数目分布对比。与CAC模型组相比, # $P < 0.05$ 。

图2 3组小鼠结肠形态对比

Note. A, Macroscopic view of the colon of mouse (tumor indicated by black arrow). B, Comparison of the distribution of colon tumor counts across three groups. Compared with the CAC model group, # $P < 0.05$.

Figure 2 Comparison of colon morphology of three groups of mice



注:A:HE染色图(黑色箭头处为结肠隐窝;红色箭头处为杯状细胞;黄色箭头处为炎性细胞);B:组织病理学评分。与空白对照组相比, **** $P < 0.0001$;与CAC模型组相比, # $P < 0.05$ 。

图3 3组小鼠结肠组织病理改变以及评分

Note. A, HE stained images (black arrow indicates colonic crypts, red arrow indicates goblet cells, yellow arrow indicates inflammatory cells). B, Histopathological score. Compared with the blank control group, **** $P < 0.0001$. Compared with the CAC model group, # $P < 0.05$.

Figure 3 Pathological changes and scoring of colon tissue in three groups of mice

表 3 3 组小鼠结肠组织炎性细胞数量差异比较($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Table 3 Comparison of inflammatory cell counts in colonic tissues among three groups of mice($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

分组 Groups	炎性细胞数量/个 Number of inflammatory cells/ n	P 值 P value
空白对照组 Blank control group	2755 $\pm$ 517.0	—
CAC 模型组 CAC model group	5374 $\pm$ 179.2 ^{**}	$P<0.01$
AFMT 干预组 AFMT intervention group	3647 $\pm$ 464.6 ^{##}	$P<0.01$

注:与空白对照组相比, ^{**} $P<0.01$;与 CAC 模型组相比, ^{##} $P<0.01$ 。

Note. Compared with the blank control group, ^{**} $P<0.01$. Compared with the CAC model group, ^{##} $P<0.01$.

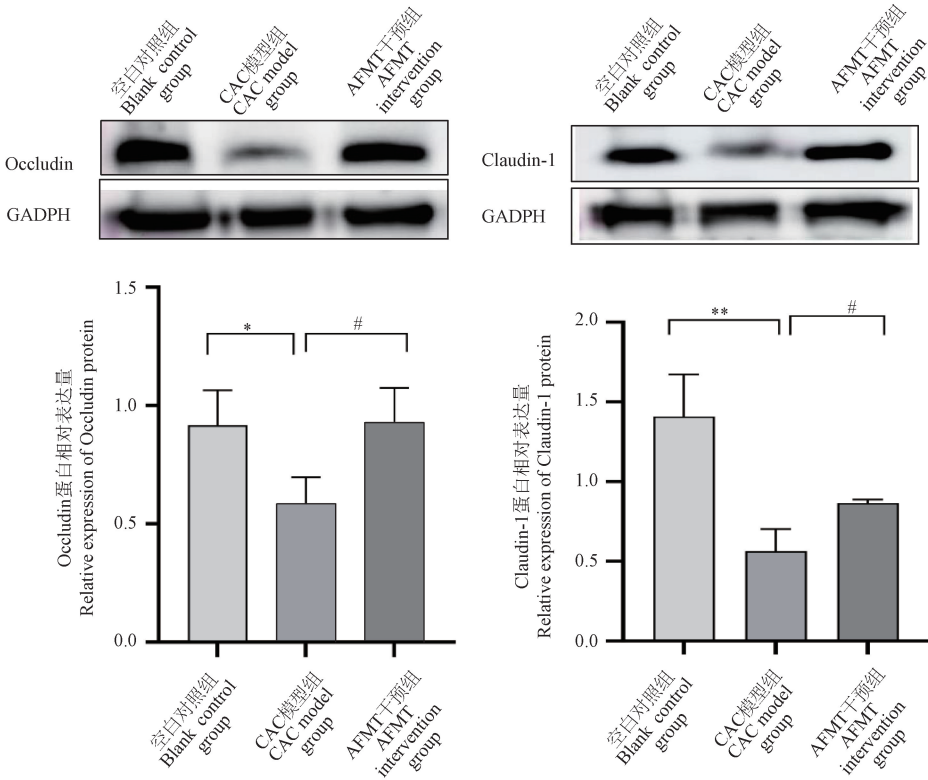
表 4 自体粪菌移植对 OCLN 和 CLDN1 基因表达的影响($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Table 4 Effects of autologous fecal microbiota transplantation on the expression of OCLN and CLDN1 genes ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别 Groups	OCLN	CLDN1
空白对照组 Blank control group	1.00 $\pm$ 0.01	1.00 $\pm$ 0.01
CAC 模型组 CAC model group	0.35 $\pm$ 0.03 [*]	0.21 $\pm$ 0.12 [*]
AFMT 干预组 AFMT intervention group	0.61 $\pm$ 0.13 [#]	0.74 $\pm$ 0.30 [#]

注:与空白对照组相比, ^{*} $P<0.05$;与 CAC 模型组相比, [#] $P<0.05$ 。

Note. Compared with the blank control group, ^{*} $P<0.05$. Compared with the CAC model group, [#] $P<0.05$.

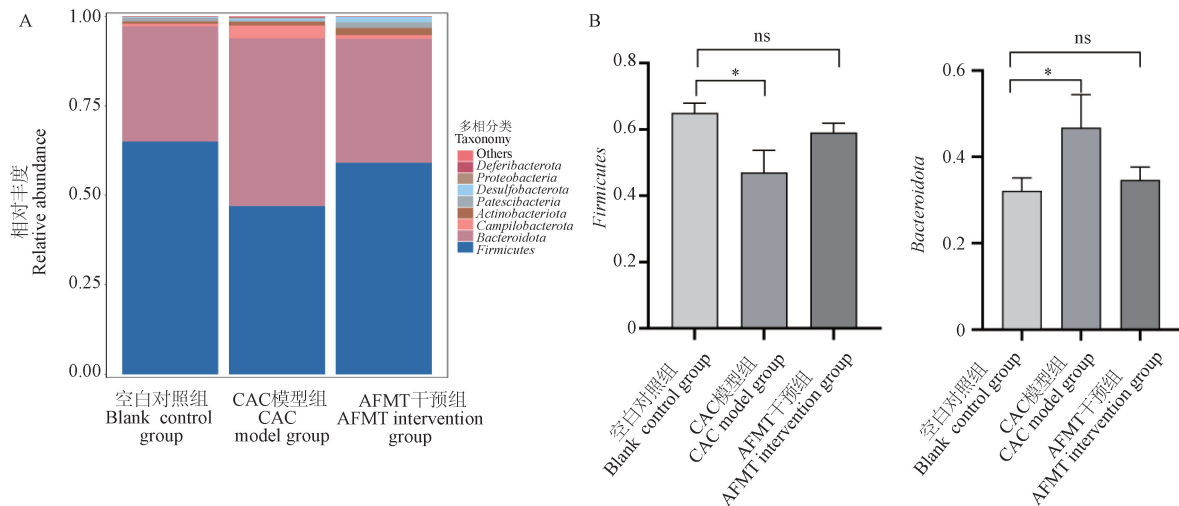


注:与空白对照组相比, ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$;与 CAC 模型组相比, [#] $P<0.05$ 。

图 4 AFMT 对小鼠结肠组织 Occludin、Claudin-1 表达影响

Note. Compared with the blank control group, ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$. Compared with the CAC model group, [#] $P<0.05$.

Figure 4 Effects of AFMT on the expression of Occludin and Claudin-1 in mouse colon tissue



注:A:物种组成;B:菌群相对丰度。与空白对照组相比, * $P < 0.05$ 。

图5 肠道菌群物种组成

Note. A, Species composition. B, Relative abundance of bacterial communities. Compared with the blank control group, * $P < 0.05$.

Figure 5 Species composition of intestinal microbiota

3 讨论

CAC 的发生与慢性炎症引起的免疫失衡和肠道菌群紊乱密切相关^[15,16]。肠道菌群失调可导致肠道屏障功能的损害,是结直肠癌发生发展的重要推动因素^[17]。在本研究中,采用 AOM/DSS 成功构建了 CAC 模型。该模型小鼠表现出典型的疾病进展特征,包括结肠长度缩短、结肠肿瘤数目明显增多,结肠组织病理学分析观察到隐窝结构破坏和炎性细胞浸润等特征性病变进一步证实了模型的成功构建^[18]。通过 16S rRNA 高通量测序技术对小鼠肠道菌群组成进行分析,将包含每个样本的 ASV 注释到不同的分类水平后,结果显示 CAC 模型组小鼠在门水平上 *Firmicutes* 相对丰度降低, *Bacteroidetes* 相对丰度升高,出现了严重菌群失调。 *Firmicutes* 在肠道菌群中主要负责发酵膳食纤维生成短链脂肪酸,为肠上皮供能、增强屏障功能、维持酸性环境及抑制病原菌定植^[19]。而 *Bacteroidota* 中的产肠毒素脆弱拟杆菌 (enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*, ETBF) 可通过分泌脆弱拟杆菌毒素 (*Bacteroides fragilis* toxin, BFT) 破坏上皮屏障,诱发持续性炎症,还可以经由 STAT3/ZEB2 信号通路激活进一步抑制 Occludin 的表达^[17,20]。

肠道屏障的完整性很大程度上依赖于 TJ 结构,特别是跨膜蛋白 Occludin 和 Claudin-1 的正常表达和功能^[17,21]。Occludin 是首个被鉴定的 TJ 跨膜蛋白,在调控细胞通透性、维护肠上皮屏障完整性及参与细胞生长调控中起核心作用^[22]。而 Claudin-1 则主要参与维持上皮细胞极性,并调控肠道屏障的通透性,对结肠上皮的正常功能也具有重要作用^[23]。本研究结果显示,CAC 模型组小鼠 Occludin 和 Claudin-1 蛋白表达显著降低,提示肠道屏障功能严重受损,这可能跟 *Firmicutes* 的保护作用减弱, *Bacteroidota* 的破坏作用增强有密切关系。在菌群失调和 Occludin 和 Claudin-1 表达下调的协同作用下,导致小鼠肠道通透性增加、有害物质易位,进而加剧慢性炎症环境^[24]。这种屏障功能损伤与持续炎症反应相互作用,共同促进 CAC 疾病进展。在 AFMT 干预处理后,小鼠结肠肿瘤数目明显减少、结肠组织炎性浸润减轻。肠道菌群差异物种分析显示,在 AFMT 干预下,小鼠肠道内 *Bacteroidota* 相对丰度降低而 *Firmicutes* 相对丰度恢复至接近空白对照组水平,这种菌群结构的改变,表明 AFMT 干预有助于调节肠道菌群组成恢复原有肠道菌群稳态。AFMT 的菌群调节效应一方面,通过恢复 *Firmicutes* 相对丰度直接促进有益代谢物(如丁酸盐)的合成,改

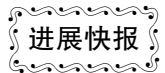
善紧密连接蛋白 Occludin 和 Claudin-1 的功能,从而修复肠屏障损伤^[25]。另一方面,通过降低 *Bacteroidetes* 相对丰度,在减少 ETBF 等致病菌肠道负荷的同时降低了其对 Occludin 和 Claudin-1 的破坏作用,减轻了炎症反应,阻断了对肠道上皮的持续破坏,维持了肠道屏障完整性。

综上所述,本研究证实,AFMT 可显著改善 AOM/DSS 诱导的 CAC 模型小鼠肠道菌群相对丰度,通过上调 Occludin 和 Claudin-1 的表达增强紧密连接完整性,从而恢复肠道屏障功能、减轻炎症反应、延缓 CAC 进展。此外,AFMT 作为一种基于个体自身粪菌移植的干预策略,其个性化移植的核心属性避免了供体来源的异质性和潜在排斥风险,为临床应用转化提供了独特的便利性和安全性优势。

参考文献:

- [1] KEUM N, GIOVANNUCCI E. Global burden of colorectal cancer: emerging trends, risk factors and prevention strategies [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019, 16 (12): 713-732.
- [2] WAN M L, WANG Y, ZENG Z, et al. Colorectal cancer (CRC) as a multifactorial disease and its causal correlations with multiple signaling pathways [J]. Biosci Rep, 2020, 40 (3): BSR20200265.
- [3] SWIERCZYNSKI M, KASPRZAK Z, MAKARO A, et al. Regulators of G-protein signaling (RGS) in sporadic and colitis-associated colorectal cancer [J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(1): 577.
- [4] BINIENDA A, TWARDOWSKA A, MAKARO A, et al. Dietary carbohydrates and lipids in the pathogenesis of leaky gut syndrome: an overview [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21 (21): 8368.
- [5] GE L, QI J, SHAO B, et al. Microbial hydrogen economy alleviates colitis by reprogramming colonocyte metabolism and reinforcing intestinal barrier [J]. Gut Microbes, 2022, 14(1): 2013764.
- [6] TURNER J R. Intestinal mucosal barrier function in health and disease [J]. Nat Rev Immunol, 2009, 9(11): 799-809.
- [7] CAPALDO C T, POWELL D N, KALMAN D. Layered defense: how mucus and tight junctions seal the intestinal barrier [J]. J Mol Med, 2017, 95(9): 927-934.
- [8] FURUSE M, HIRASE T, ITOH M, et al. Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions [J]. J Cell Biol, 1993, 123(6): 1777-1788.
- [9] WANG J W, KUO C H, KUO F C, et al. Fecal microbiota transplantation: Review and update [J]. J Formos Med Assoc, 2019, 118(Suppl 1): S23-S31.
- [10] PEERY A F, KELLY C R, KAO D, et al. AGA clinical practice guideline on fecal microbiota-based therapies for select gastrointestinal diseases [J]. Gastroenterology, 2024, 166(3): 409-434.
- [11] BURRELLO C, GARAVAGLIA F, CRIBIÙ F M, et al. Therapeutic faecal microbiota transplantation controls intestinal inflammation through IL10 secretion by immune cells [J]. Nat Commun, 2018, 9: 5184.
- [12] XU F, LI Q, WANG S, et al. The efficacy of prevention for colon cancer based on the microbiota therapy and the antitumor mechanisms with intervention of dietary *Lactobacillus* [J]. Microbiol Spectr, 2023, 11(5): e00189-23.
- [13] 杨秋雨, 檀梦天, 白净, 等. 菌群移植对小鼠化疗相关性腹泻的改善作用 [J]. 解放军医学杂志, 2025, 50(3): 261-268.
- YANG Q Y, TAN M T, BAI J, et al. Improvement effects of fecal microbiota transplantation on chemotherapy-induced diarrhea in mice [J]. Med J Chin People's Liberation Army, 2025, 50(3): 261-268.
- [14] SHEN J, ZHAO Y, CUI W. *Astragalus mongholicus* Bunge extract improves ulcerative colitis by promoting PLCB2 to inhibit colonic epithelial cell pyroptosis [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 334: 118554.
- [15] LEE Y P, CHIU C C, LIN T J, et al. The germ-free mice monocolonization with *Bacteroides fragilis* improves azoxymethane/dextran sulfate sodium induced colitis-associated colorectal cancer [J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2019, 41(2): 207-213.
- [16] HERRINTON L J, LIU L, LEVIN T R, et al. Incidence and mortality of colorectal adenocarcinoma in persons with inflammatory bowel disease from 1998 to 2010 [J]. Gastroenterology, 2012, 143(2): 382-389.
- [17] QUAGLIO A E V, GRILLO T G, DE OLIVEIRA E C S, et al. Gut microbiota, inflammatory bowel disease and colorectal cancer [J]. World J Gastroenterol, 2022, 28 (30): 4053-4060.
- [18] SNIDER A J, BIALKOWSKA A B, CHALEB A M, et al. Murine model for colitis-associated cancer of the colon [J]. Methods Mol Biol, 2016, 1438: 245-254.
- [19] MARTIN-GALLAUSIAUX C, MARINELLI L, BLOTTIÈRE H M, et al. SCFA: mechanisms and functional importance in the gut [J]. Proc Nutr Soc, 2021, 80(1): 37-49.
- [20] CHANG Z Y, LIU H M, LEU Y L, et al. Modulation of gut microbiota combined with upregulation of intestinal tight junction explains anti-inflammatory effect of corylin on

- colitis-associated cancer in mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(5): 2667.
- [21] ROBINSON K, DENG Z, HOU Y, et al. Regulation of the intestinal barrier function by host defense peptides [J]. *Front Vet Sci*, 2015, 2: 57.
- [22] RAO R. Occludin phosphorylation in regulation of epithelial tight junctions [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2009, 1165: 62–68.
- [23] FELDMAN G J, MULLIN J M, RYAN M P. Occludin: structure, function and regulation [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2005, 57(6): 883–917.
- [24] AL-SADI R, KHATIB K, GUO S, et al. Occludin regulates macromolecule flux across the intestinal epithelial tight junction barrier [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2011, 300(6): G1054–G1064.
- [25] HAGHI F, GOLI E, MIRZAEI B, et al. The association between fecal enterotoxigenic *B. fragilis* with colorectal cancer [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 879.
- [收稿日期] 2025-08-04



用于流感研究的 ST6GAL1 人源化小鼠模型的建立

流行性感冒严重危害人类健康和公共卫生,是全球重点监测和造成死亡人数最多的传染病之一。动物模型在流感病毒研究中起关键作用,主要体现在有助于理解病毒的发病机制、研究病毒传播方式和途径、筛选抗病毒药物和评价疫苗效果等。理想的动物模型需对病毒易感,在受到病毒感染后应表现出与人体相似的病理生理、疾病进程和宿主免疫反应等。人流感病毒通常优先结合宿主细胞表面 $\alpha 2,6$ 唾液酸受体进行感染,而在宿主体内 ST6GAL1 基因通过唾液酸转移酶进而调控 $\alpha 2,6$ 唾液酸受体的合成表达。

中国疾病预防控制中心、传染病溯源预警与智能决策全国重点实验室卢选成团队联合中国科学院动物研究所多曙光团队应用基因编辑技术成功建立了 ST6GAL1 人源化小鼠模型。该模型将人源 ST6GAL1 基因插入到小鼠基因序列中,在小鼠肺脏上皮细胞高表达人 ST6GAL1 蛋白,表达部位符合流感病毒感染特征,血生理和生化指标均在正常范围内。该人源化小鼠有望直接用于人流感病毒动物模型,病毒无需在小鼠体内预先适应,从而应用于快速、便捷阐明流感发病机制、验证新的药物靶标和新药开发与疫苗评价等。该研究成果发表于《动物模型与实验医学(英文)》期刊(*Animal Models and Experimental Medicine*, 2024, 7(3):337–346. doi: 10.1002/ame2.12449)。