

发酵乳杆菌 TY-H27 裂解物对幽门螺杆菌感染 引发炎症的缓解效果

赵宇阳¹, 唐甜^{2,3}, 王然⁴, 蒋渊源^{2,3}, 葛绍阳⁵, 何晶晶⁴, 张凤^{2,3*}

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 教育部功能乳品实验室, 北京 100193) (2. 重庆市天友乳业股份有限公司, 重庆 401120) (3. 国家乳业技术创新中心, 内蒙古呼和浩特 010080) (4. 中国农业大学营养与健康系, 教育部功能乳品实验室, 北京 100193) (5. 河北畜产食品技术创新中心, 河北三河 065200)

摘要: 幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, Hp) 感染是慢性胃炎及胃癌的主要病因, 传统抗生素疗法耐药性问题日益突出。为了评估发酵乳杆菌 TY-H27 不同组分对幽门螺杆菌感染所致炎症的缓解作用, 建立 Hp 感染 GES-1 细胞模型, 分别以活菌、上清液、裂解液、灭活菌体及裂解物进行干预, 检测细胞活力及 IL-8 分泌量; 进一步建立 Hp 感染 C57BL/6J 小鼠模型, 以三联药物及 TY-H27 裂解物干预, 检测血清炎症因子及胃黏膜病理变化。结果显示, TY-H27 裂解物显著抑制 Hp 诱导的 Interleukin-8 (IL-8) 分泌, 从模型组的 28.53 pg mL^{-1} 降至 17.81 pg mL^{-1} (降低 37.57%); 体内实验中, 裂解物使血清 Interleukin-6 (IL-6) 从 30.81 pg mL^{-1} 降至 19.99 pg mL^{-1} (降低 35.12%), C-X-C motif chemokine ligand 1 (CXCL1) 从 35.12 pg mL^{-1} 降至 22.72 pg mL^{-1} (降低 35.31%), 胃黏膜炎症浸润评分从 3.17 降至 1.33 (降低 58.04%), 黏膜损伤评分从 3.33 降至 1.50 (降低 54.95%), 效果与三联药物组无显著差异 ($P>0.05$); 而上清液、裂解液及灭活菌体在体外无显著抗炎作用。综上, TY-H27 裂解物可有效缓解 Hp 诱发的炎症并改善胃黏膜损伤, 为开发基于发酵乳杆菌 TY-H27 裂解物的抗幽门螺杆菌功能性食品及辅助拮抗后生元制剂提供了坚实的理论依据。

关键词: 发酵乳杆菌 TY-H27; 幽门螺杆菌; 裂解物; 炎症; GES-1 细胞; C57BL/6J 小鼠

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2027.6.0575

Efficacy of *Lactobacillus fermentum* TY-H27 Lysate in Alleviating Inflammation Induced by *Helicobacter pylori* Infection

ZHAO Yuyang¹, TANG Tian^{2,3}, WANG Ran⁴, JIANG Yuanyuan^{2,3}, GE Shaoyang⁵, HE Jingjing⁴, ZHANG Feng^{2,3*}

(1.College of Food Science and Nutritional Engineering, Key Laboratory of Functional Dairy, Ministry of Education, China Agricultural University, Beijing 100193, China) (2.Chongqing Tianyou Dairy Co. Ltd., Chongqing 401120, China) (3.National Dairy Technology Innovation Center, Hohhot 010080, China) (4.Department of Nutrition and Health, Key Laboratory of Functional Dairy, Ministry of Education, China Agricultural University, Beijing 100193, China) (5.Hebei Livestock Food Technology Innovation Center, Sanhe 065200, China)

Abstract: *Helicobacter pylori* (Hp) infection is a major cause of chronic gastritis and gastric cancer, and the increasing antibiotic resistance of conventional therapies poses a serious challenge. To evaluate the alleviating effects of different components of *Lactobacillus fermentum* TY-H27 on inflammation induced by Hp infection, an *in vitro* model of Hp-infected GES-1 cells was established. The cells were treated with live bacteria, supernatant, crude lysate, inactivated bacterial cells, or lysed bacterial preparation, respectively. Cell viability and Interleukin-8 (IL-8) secretion were measured. Furthermore, an Hp-infected C57BL/6J mouse model was established, and the mice were treated with triple therapy drugs or TY-H27 lysed preparation. Serum inflammatory cytokine levels and gastric mucosal pathological changes were assessed. The results showed that the TY-H27 lysed preparation significantly inhibited Hp-induced IL-8 secretion, reducing it from 28.53 pg mL^{-1} in the model group to 17.81 pg mL^{-1} (a reduction of 37.57%). *In vivo*, the lysed preparation decreased serum Interleukin-6 (IL-6) from 30.81 pg mL^{-1} to 19.99 pg mL^{-1} (a reduction of 35.12%) and C-X-C motif chemokine ligand 1 (CXCL1) from 35.12 pg mL^{-1} to 22.72 pg mL^{-1} (a reduction of 35.31%). The gastric mucosal inflammatory infiltration score decreased from 3.17 to 1.33 (a reduction of 58.04%),

收稿日期: 2026-03-13; 修回日期: 2026-06-01; 接受日期: 2026-06-02

基金项目: 国家乳业技术创新中心开放性课题 (2023-KFKT-18)

作者简介: 赵宇阳 (1997-), 男, 博士研究生, 研究方向: 功能性益生菌, E-mail: zhaoyuyang@cau.edu.cn

通讯作者: 张凤 (1990-), 女, 博士, 正高级工程师, 研究方向: 食品科学, E-mail: 583655110@qq.com

and the mucosal injury score decreased from 3.33 to 1.50 (a reduction of 54.95%), with effects comparable to those of the triple therapy group ($P>0.05$). In contrast, the supernatant, crude lysate, and inactivated bacterial cells showed no significant anti-inflammatory effects *in vitro*. In conclusion, the TY-H27 lysed preparation effectively alleviates Hp-induced inflammation and improves gastric mucosal injury, providing a solid theoretical basis for the development of anti-*H. pylori* functional foods and adjunctive postbiotic agents based on *Lactobacillus fermentum* TY-H27 lysate.

Key words: *Lactobacillus fermentum* TY-H27; *Helicobacter pylori*; lysate; inflammation; GES-1 Cells; C57BL/6J Mice

幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, Hp) 是一种主要定植于人类胃黏膜的革兰氏阴性致病菌, 已被世界卫生组织列为第一类致癌物。目前, 全球约有半数以上人口感染 Hp, 其持续感染是引发胃炎、消化性溃疡乃至胃癌的核心驱动因素^[1,2]。Hp 在定植于胃黏膜上皮后, 其携带的细胞毒素相关蛋白 A 和空泡毒素 A 等毒力因子会导致上皮细胞损伤, 同时诱发宿主产生强烈的免疫级联反应^[3]。这一病理过程促使胃黏膜上皮细胞大量释放多种促炎细胞因子, 如 IL-6 及 IL-8 等, 进而招募中性粒细胞和巨噬细胞在固有层发生密集浸润, 最终造成不可逆的黏膜损伤和组织病理性改变^[4]。

当前, 临床针对 Hp 根除主要以质子泵抑制剂为基础, 联合两种或多种抗生素的标准三联或四联疗法。然而, 随着抗生素在全球范围内的广泛应用, Hp 的多重耐药率逐年上升, 导致传统根除疗法的临床有效率呈现显著下降趋势^[5]。此外, 长期或大剂量使用抗生素会引发宿主肠道菌群失调、抗生素相关性腹泻及机体代谢紊乱等危害^[6]。因此, 突破传统抗生素治疗的瓶颈, 探寻安全、有效且不易诱导耐药性的新型辅助拮抗 Hp 手段, 已成为当前消化道微生态与功能性食品研发领域亟待解决的关键问题。

益生菌作为能够改善宿主微生态平衡的活性微生物, 在辅助提高 Hp 根除率、减轻抗生素副作用方面展现出巨大的应用潜力。研究证实, 乳杆菌等益生菌可通过空间竞争排斥、分泌有机酸或细菌素等物质直接拮抗 Hp, 亦能通过调节宿主免疫屏障发挥保护作用^[7,8]。然而, 益生菌制剂在应用中存在特定局限性: 其在胃酸及胆盐等苛刻的胃肠道环境中存活率易受影响。基于上述局限, 后生元的概念逐渐受到关注。后生元是指对宿主健康有益的无生命微生物和(或)其成分的制剂, 涵盖胞外多糖、磷壁酸、肽聚糖及菌体裂解物等^[9]。后生元具备化学结构明确、安全性更高、靶向性强且易于加工储运等优势, 被认为是替代或辅助抗 Hp 治疗的优选策略^[10,11]。研究表明, 乳酸菌来源的后生元可通过干扰 Hp 对细胞的黏附、下调 IL-8 分泌、调节核因子- κ B (Nuclear Factor- κ B, NF- κ B) 信号通路等多重机制发挥抗炎活性^[12]。例如, 鼠李糖乳杆菌 MN45 后生元可通过上调粘附因子抑制 Hp 引发的炎症^[13]; 副干酪乳杆菌 S6 后生元亦能显著降低胃组织炎症指标^[14]。

发酵乳杆菌 TY-H27 为前期分离的一株潜在益生菌, 该菌株对 Hp 具有良好的体外抑菌活性, 但其对 Hp 感染引发的胃上皮细胞炎症及动物体内炎症的缓解作用尚不明确。本研究旨在通过建立 Hp 感染 GES-1 人胃上皮细胞模型和小鼠模型, 系统评价 TY-H27 活菌、代谢物及不同菌体组分对 Hp 所致炎症的影响, 并重点探究其裂解物的体内外抗炎功效, 以期开发基于 TY-H27 特异性细胞组分的抗 Hp 功能性制剂和食品提供更为夯实科学依据。

1 材料与方法

1.1 原料

菌株: 发酵乳杆菌 TY-H27 (保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心, 编号为 CGMCC No.37936), 幽门螺杆菌 ATCC 43504 (购自美国典型培养物保藏中心), GES-1 细胞 (购自江苏酶免实业有限公司)。

主要试剂: MRS 培养基、脑心浸液培养基, 北京陆桥技术股份有限公司; 哥伦比亚琼脂培养基, 广东环凯微生物科技有限公司; 无菌脱纤维绵羊血, 北京飞默生物科技有限公司; DMEM 培养基, 美国 Thermo Fisher Scientific; CCK8 试剂盒, 日本同仁化学研究所; Human IL-8 Elisa Kit 检测试剂盒, 杭州联科生物技术股份有限公司; Mouse IL-6 ELISA KIT、Mouse CXCL1 ELISA KIT 鼠源试剂盒, 上海茁彩生物科技有限公司; 质量分数为 4% 的多聚甲醛, 兰杰柯科技有限公司; 胎牛血清, 杭州四季青生物工程材料有限公司; 阿莫西林、克拉霉素, 上海易恩化学技术有限公司; 奥美拉唑, 北京博奥拓达科技有限公司。

实验动物: 实验动物选用 SPF 级 C57BL/6J 雄性 4 周龄小鼠, 购买自北京维通利华实验动物技术有限公司, 共 30 只, 实验动物生产许可证号为: SCXK(京) 2021-0006。动物实验伦理由北京谷食测试科技有限公司审批, 批号为 GSCS-2025-035。

1.2 主要仪器设备

JY88-PRO 超声细胞破碎仪, 宁波新芝生物科技股份有限公司; SpectraMAX Plus384 酶标仪, 美谷分子仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 菌株培养及活性成分制备

1.3.1.1 菌株培养

TY-H27 接种于 MRS 液体培养基中, 37 °C 下培养, 每 12 h 传代, 活化两次后备用。

Hp 接种于哥伦比亚血琼脂平板上, 37 °C, 微需氧条件 (85% N₂, 10% CO₂, 5% O₂) 下培养 48 h, 活化两次后收集菌体备用。

1.3.1.2 活性成分制备

活菌及发酵上清液: 将活化好的 TY-H27 培养基离心 (4 000 g, 10 min), 收集发酵上清液及菌体。

热灭活死菌体: 将 TY-H27 菌体置于 65 °C 下水浴 30 min, 得到热灭活死菌体。

裂解物及裂解液: 使用超声细胞破碎仪 (宁波新芝生物科技股份有限公司, JY88-PRO) 将菌体裂解 (功率 300 W, 工作总时间 15 min, 超声开启时间为 2 s, 关闭时间 3 s) 离心 (5 000 g, 20 min), 得到裂解液及裂解物。

1.3.2 细胞试验检测方法

1.3.2.1 CCK8 检测 TY-H27 对 GES-1 细胞增殖能力的影响

GES-1 细胞以 1×10^5 每孔接种于 96 孔板中, 待细胞贴壁。用 PBS 清洗活菌体两次, DMEM 重悬调整菌体密度为 1×10^8 CFU/mL。设置对照组、模型组、药物组和 TY-H27 (高剂量组 (TY-H27-10) 1×10^8 CFU/mL, 低剂量组 (TY-H27-1) 1×10^7 CFU/mL) 活菌组。模型组和干预组在感染复数 (Multiplicity of infection, MOI) 为 100 的条件下与 Hp 共培养 24 h, 加入不同干预物质干预 12 h, 加入 CCK8 试剂, 随后用酶标仪在吸光度 450 nm 处检测光密度值。

1.3.2.2 TY-H27 活菌对 Hp 引发 GES-1 细胞炎症的影响

GES-1 细胞以 1×10^6 每孔接种于 12 孔板中, 待细胞贴壁。按照 1.3.2.1 中的方案造模并干预细胞。收集细胞上清液, 按照试剂盒的说明测定 IL-8 分泌量。

1.3.2.3 TY-H27 代谢物对 Hp 引发 GES-1 细胞炎症的影响

实验设置对照组、模型组、药物组、TY-H27 上清液组及 TY-H27 裂解液组, 随后造模并干预细胞, 测定 IL-8 分泌量。

1.3.2.4 TY-H27 菌体成分对 Hp 引发 GES-1 细胞炎症的影响

实验设置对照组、模型组、药物组、TY-H27 死菌组及 TY-H27 裂解物组, 随后造模并干预细胞, 测定 IL-8 分泌量。

1.3.3 动物试验方案

1.3.3.1 动物模型的建立及干预方案

Hp 感染小鼠模型的建立参考陈晓华^[15]的实验方法, 并作修改。采用随机分组方式将小鼠随机分为对照组、模型组、药物组及裂解物组, 每组 6 只, 实验周期为 8 周 (造模期 3 周, 干预期 5 周)。动物实验过程中严格遵循《关于善待实验动物的指导性意见》及《实验动物动物实验生物安全通用要求》中的要求。

造模方案: 先灌胃 0.25 mL NaHCO₃ (0.2 mol L⁻¹), 1 h 后, 再灌胃 0.3 mL Hp 菌悬液 (菌液浓度为 1×10^9 CFU/mL), 隔天灌胃, 共 5 次。

模型检测方案: 造模结束后, 间隔一周, 模型组和干预组中各随机选取一只小鼠, 在无菌条件下取胃窦组织。胃窦组织匀浆液涂布于含有 Hp 选择性添加剂 (万古霉素 10 μg·mL⁻¹、多粘菌素 B 2 500 IU mL⁻¹、甲氧苄啶 5 μg·mL⁻¹、两性霉素 B 2 μg·mL⁻¹) 的哥伦比亚琼脂平板上, 于 37 °C 微需氧条件下培养 3~5 天。若平板上出现针尖大小、灰

色、半透明、光滑湿润的菌落,即表明 Hp 成功定植。

干预方案:药物组最后两周灌胃标准三联疗法药物(奥美拉唑 140 mg kg^{-1} ,阿莫西林 28.6 mg kg^{-1} ,克拉霉素 14.3 mg kg^{-1}),裂解物组每日灌胃 $1\times 10^9\text{ CFU TY-H27}$ 裂解物,对照组和模型组每日灌胃等体积 PBS 缓冲液。

1.3.3.2 样本收集

实验周期结束后,禁食不禁水 24 h,眼球取血,室温静置 30 min 后低温离心 ($3\ 500\text{ g}$, 15 min),收集血清,并立即冻存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱。

在无菌条件下摘取鼠胃,沿胃大弯将胃体和窦剖开,取胃窦组织,用无菌 PBS 洗去内容物后分成 2 份,一份冻存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$,另一份用 4%多聚甲醛固定,用于病理学检查。对胸腺及脾脏进行称重,计算脏器指数。

1.3.3.3 胃窦组织病理切片观察

取胃组织样本,以 4%多聚甲醛固定后行石蜡包埋,制成 $5\text{ }\mu\text{m}$ 厚切片,经梯度乙醇脱水、苏木精-伊红染色,于金相显微镜下观察拍照,用以评估胃黏膜组织病理学变化并进行评分。HE 染色评分标准参照 Genta 等^[16]的方案,并略作修改。炎症细胞浸润评分标准:1分,固有膜有少量淋巴细胞而腺上皮内无淋巴细胞;2分,固有膜及腺上皮内均有少量淋巴细胞;3分,固有膜有多量淋巴细胞,腺上皮内也有散在的多量的淋巴细胞;4分,固有膜有多量淋巴细胞,腺上皮内有聚集成团的淋巴细胞。胃黏膜损伤以表皮损伤积分评估:黏膜正常为 1 分,黏膜表层细胞受损为 2 分,损伤累及腺体细胞为 3 分,黏膜糜烂、出血或溃疡形成为 4 分。

1.3.3.4 血清炎症因子检测

小鼠血清 IL-6, CXCL1 含量测定按照试剂盒说明方法进行操作。

1.3.3.5 数据统计分析方法

利用 IBM SPSS Statistics 25 软件中的 ANOVA 单因素方差分析与 Wilcoxon 秩和检验法分析组间差异, $P<0.05$ 表示组间差异显著。使用 GraphPad Prism version 8.01 软件对数据进行分析、作图。

2 结果与讨论

2.1 TY-H27 干预对 Hp 感染 GES-1 细胞引发炎症的影响

2.1.1 TY-H27 活菌对细胞活力的影响

CCK-8 检测结果(图 1)显示:Hp 感染后 GES-1 细胞活力降至对照组的 63.21% ($P<0.05$);经 TY-H27 活菌 ($1\times 10^8\text{ CFU/mL}$) 干预后,细胞活力恢复至 77.17%,与药物组 (75.28%) 无显著差异 ($P>0.05$)。低剂量 ($1\times 10^7\text{ CFU/mL}$) 组活力为 75.87%,与高剂量组无显著差异 ($P>0.05$)。文献报道中, Yao 等^[17]使用刺槐素使 Hp 感染的 GES-1 细胞活力从 58.6%恢复至 81.3%; Wu 等^[18]发现植物乳杆菌 ZJ316 使 AGS 细胞活力从 61.2%提升至 85.7%。TY-H27 活菌恢复细胞活力至 77.17%,提示其保护效应较强。

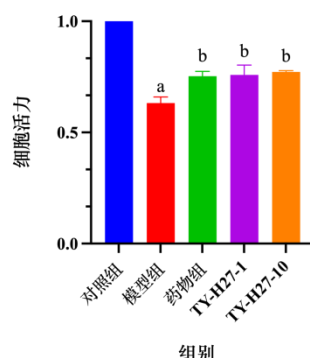


图 1 TY-H27 活菌对细胞活力的影响

Fig.1 Effect of live TY-H27 bacteria on cell viability

注:不同字母表示组间具有显著性差异 ($P<0.05$)。下图同。

2.1.2 TY-H27 活菌对 Hp 感染引发的炎症的影响

TY-H27 活菌对 Hp 感染引发的炎症的影响如图 2 所示。对照组 IL-8 为 37.85 pg mL^{-1} ; Hp 感染后升至 57.35 pg mL^{-1} ; TY-H27 活菌 ($1\times 10^8\text{ CFU/mL}$) 干预后显著降至 42.59 pg mL^{-1} (较模型组降低 25.74%),低剂量组

降至 39.98 pg mL^{-1} (较模型组降低 30.29%), 与药物组 (37.34 pg mL^{-1}) 无显著差异 ($P>0.05$)。

Chen 等^[19]报道鼠李糖乳杆菌 GMNL-74 使 Hp 感染的 AGS 细胞 IL-8 从 41.2 pg mL^{-1} 降至 22.5 pg mL^{-1} ; Talebi 等^[20]发现罗伊氏乳杆菌 I300 使 IL-8 从 38.6 pg mL^{-1} 降至 21.3 pg mL^{-1} 。上述研究中活菌使 IL-8 降低的比例 (44.8%~45.4%) 高于本研究中 TY-H27 活菌的降低比例 (25.7%~30.3%), 这可能与细胞系、感染复数及干预时长等因素有关。Song 等^[21]的研究在 GES-1 细胞模型中检测了 7 种商品化益生菌菌株的抗 Hp 活性, 结果显示, 嗜酸乳杆菌和保加利亚乳杆菌对 Hp 黏附的抑制作用最为显著, 且保加利亚乳杆菌通过调节 TLR4/I κ B α /NF- κ B 通路抑制 IL-8 的产生。Takeda 等^[22]发现副干酪乳杆菌 06TCa19 在 MKN45 和 AGS 细胞中通过下调 NF- κ B 和 p38 MAPK 信号通路的活化, 显著抑制 Hp 诱导的 IL-8 表达。上述发现共同支持乳杆菌活菌的抗炎作用, TY-H27 活菌能够减轻 Hp 诱导的炎症因子 IL-8 的释放。

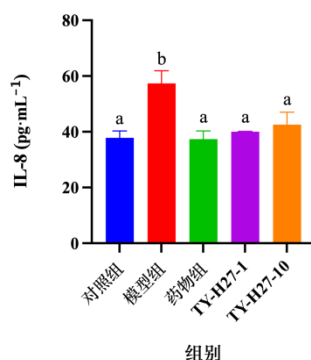


图 2 TY-H27 活菌对 Hp 感染引发的炎症的影响

Fig.2 Effect of live TY-H27 bacteria on inflammation induced by *H. pylori* infection

2.1.3 TY-H27 代谢物及菌体结构对 Hp 感染引发的炎症的影响

为进一步探究 TY-H27 是否通过产生关键代谢产物或菌体表面活性物质来抑制炎症的发生, 测定其上清液, 裂解液, 灭活菌体及裂解物对炎症的影响。图 3a 显示: 上清液组 IL-8 为 22.20 pg mL^{-1} , 裂解液组为 23.01 pg mL^{-1} , 较模型组 (28.53 pg mL^{-1}) 分别降低 22.19%和 19.35%, 显著高于药物组 (5.86 pg mL^{-1} , $P<0.05$)。图 3b 表明: 灭活菌体组 IL-8 为 32.57 pg mL^{-1} , 与模型组无显著差异 ($P>0.05$); 裂解物组 IL-8 降至 17.81 pg mL^{-1} (降低 37.57%), 与活菌组 (18.06 pg mL^{-1}) 及药物组 (13.62 pg mL^{-1}) 无显著差异 ($P>0.05$)。

上述结果提示, TY-H27 分泌的可溶性代谢产物及未破碎菌体抗炎效力有限; 65°C 热灭活完全丧失活性, 而超声破碎获得的裂解物保留完整活性。该特征与文献报道的乳杆菌表面分子热敏性相似: Lebeer 等^[23]和 Lee 等^[24]指出脂磷壁酸、肽聚糖等菌体表面分子的三维构象在加热时易遭破坏, 导致 TLR2 识别受阻。TY-H27 裂解物的热敏性提示其活性成分可能为热不稳定的表面蛋白或脂磷壁酸, 而非耐热多糖, 但该推测有待后续组分分析验证。进一步分析裂解液效果显著弱于裂解物的原因, 裂解液仅含可溶性胞内成分, 而活性成分主要锚定于细胞壁或膜的不溶性碎片, 超声裂解后弃去沉淀导致活性丢失; 超声破碎所得裂解物为全组分悬液, 保留了这些热不稳定的表面分子及其结构, 故能重现活菌的抗炎效力。相比之下, 65°C 热灭活虽保持菌体完整, 但表面分子的三维构象被破坏, 因此完全丧失活性。

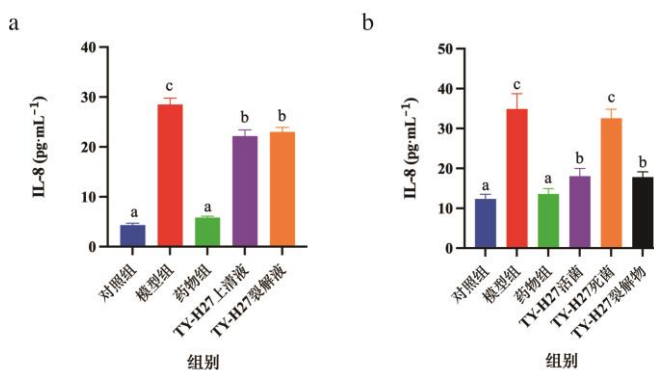


图 3 TY-H27 代谢物及菌体结构对 Hp 感染引发的炎症的影响

Fig.3 Effect of TY-H27 metabolites and bacterial cell structure on inflammation induced by *H. pylori* infection

注: a 为 TY-H27 代谢物对 Hp 感染引发的炎症的影响; b 为菌体结构对 Hp 感染引发的炎症的影响。

2.2 TY-H27 裂解物的体内功效探究

为进一步探究 TY-H27 裂解物的体内功效, 建立 Hp 感染小鼠动物模型。

2.2.1 小鼠模型及安全性指标检测

Hp 感染小鼠模型检测结果如图 4a 所示, Hp 选择性培养平板上出现典型的针尖大小、灰色、半透明且光滑湿润的菌落, 表明 Hp 成功定植。

实验结束时, 对照组、模型组、药物组及裂解物组小鼠体重 (图 4b) 分别为: 26.39 g、25.23 g、25.03 g 及 25.01 g; 脾脏脏器指数 (图 4c) 分别为: 0.152%、0.153%、0.137%及 0.142%; 胸腺脏器指数 (图 4d) 分别为: 0.199%、0.231%、0.191%及 0.221%。各小鼠体重、脾脏及胸腺脏器指数之间均无显著差异 ($P>0.05$), 表明 Hp 感染及裂解物干预均未影响小鼠体重、脾脏及胸腺脏器指数, TY-H27 裂解物生物安全性良好。

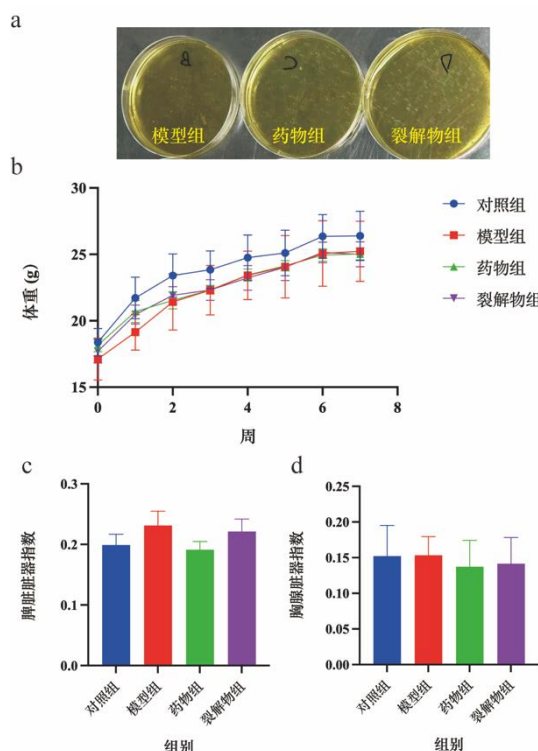


图4 小鼠模型检测及安全性指标

Fig.4 Mouse model detection and safety indicators

注: a: 小鼠模型检测; b: 小鼠体重变化; c: 小鼠脾脏指数; d: 小鼠胸腺指数。

2.2.2 小鼠胃黏膜病理学切片评估

HE 染色 (图 5a) 显示: 对照组胃黏膜结构完整, 腺体排列致密, 未见炎性浸润; 模型组黏膜表面广泛糜烂, 腺体排列紊乱伴局灶性萎缩, 固有层大量中性粒细胞浸润及间质充血水肿; 药物组腺体架构基本完整, 仅残留少许淋巴细胞浸润; 裂解物组黏膜厚度及腺体形态基本恢复正常, 未见中性粒细胞浸润, 上皮屏障完整。病理评分 (图 5b、5c) 进一步量化: 模型组炎性浸润评分 (3.17) 和黏膜损伤评分 (3.33) 显著高于对照组 (1.00, 1.00, $P<0.05$)。药物组两项评分分别降至 1.6 和 1.83, 较模型组降低 49.53%和 45.05%。裂解物组分别降至 1.33 和 1.50, 较模型组降低 58.04%和 54.95%, 与药物组无显著差异 ($P>0.05$)。

结果表明, 幽门螺杆菌感染后会导致胃黏膜糜烂、腺体萎缩及中性粒细胞浸润, TY-H27 裂解物通过局部免疫调节有效改善 Hp 感染所致胃黏膜损伤, 效果与三联疗法相当。

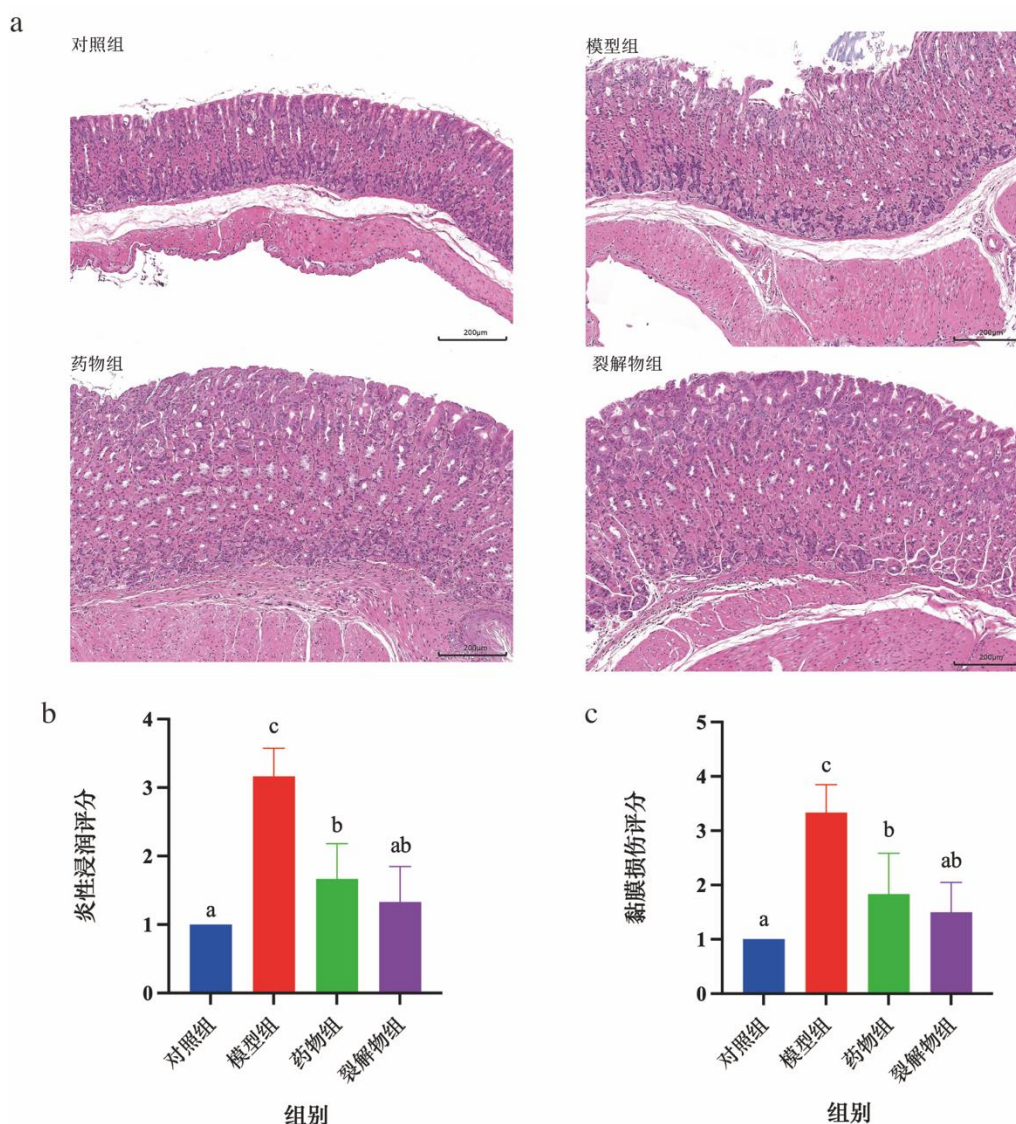


图5 小鼠胃黏膜病理学切片评估

Fig.5 Evaluation of mouse gastric mucosal pathological sections

注: a: 小鼠胃黏膜 HE 染色图像 ($\times 100$); b: 小鼠胃黏膜病理学切片炎症浸润评分; c: 小鼠胃黏膜病理学切片黏膜损伤评分。

2.2.3 小鼠血清炎症因子水平

小鼠血清炎症因子 IL-6, CXCL1 水平如图 6 所示: 模型组 IL-6 (30.81 pg mL^{-1}) 和 CXCL1 (35.12 pg mL^{-1}) 显著高于对照组 (18.61 pg mL^{-1} , 22.46 pg mL^{-1} , $P < 0.05$)。药物组 IL-6 降至 22.66 pg mL^{-1} (降低 26.45%), CXCL1 降至 25.63 pg mL^{-1} (降低 27.02%)。裂解物组 IL-6 降至 19.99 pg mL^{-1} (降低 35.12%), CXCL1 降至 22.72 pg mL^{-1} (降低 35.31%), 与药物组无显著差异 ($P > 0.05$)。

TY-H27 裂解物由破碎菌体成分构成, 不具备定植或代谢活性, 提示其抗炎作用可能源于局部免疫调节而非直接杀菌。血清学结果 (图 6) 显示, 裂解物干预后小鼠 IL-6 与 CXCL1 水平分别降低 35.12% 和 35.31%, 与三联药物组无显著差异 ($P > 0.05$), 且降幅与文献报道的多种乳杆菌制剂相近: Hong 等^[25]副干酪乳杆菌 HP7 可减少 Hp 对 AGS 细胞的黏附并下调 IL-8, 在 C57BL/6 小鼠中减轻胃部炎症及上皮损伤; Garcia 等^[26]发现发酵乳杆菌 UCO-979C 使血清 IL-6 和 IL-8 分别降低 35.4% 和 35.9%; Li 等^[27]发现唾液乳杆菌 NCUH062003 使 IL-6 降低 34.7%。上述比较进一步支持 TY-H27 裂解物可通过免疫调节发挥抗炎效应。

益生菌的后生元抗炎活性已在多项研究中得到直接证实: Nie 等^[28]制备的副干酪乳杆菌 TK1501 后生元在 Hp 感染小鼠中显著降低了血清 TNF- α 和 IL-1 β 水平 ($P < 0.05$) 并减轻胃黏膜炎症浸润, 且该后生元具有热稳定性, 与 TY-H27 裂解物的热敏性形成对比, 提示不同菌株活性成分化学性质存在差异。在信号通路层面, Yu 等^[29]证实

BIFICO 益生菌组合（含嗜热链球菌、两歧双歧杆菌和乳双歧杆菌）可抑制 Hp 感染小鼠胃黏膜中 NF- κ B 活化，降低 IL-8 和 TNF- α 水平；蒋杰等^[30]报道鼠李糖乳杆菌 DM9054 和植物乳杆菌 86066 通过下调磷酸化 ERK1/2、JNK1/2、p38 及 NF- κ B p65 蛋白表达抑制 IL-8 mRNA 表达（ $P<0.05$ ），表明抗炎作用涉及 MAPK、JAK/STAT 和 NF- κ B 通路的协同抑制。在动物模型验证层面，Tek 等^[31]在 Hp 感染大鼠胃炎模型中证实嗜热链球菌和干酪乳杆菌后生元使 NF- κ B 表达降低 10 倍、IL-6 和 IL-8 释放减少 10 倍，并显著改善胃组织病理学评分（ $P<0.05$ ）。

综合上述，TY-H27 裂解物的抗炎效应可归因于其菌体表面分子（如脂磷壁酸、肽聚糖片段等）与胃上皮细胞或免疫细胞表面的 TLR2/TLR4 受体结合，抑制 I κ B α 磷酸化降解，减少 p65 核转位，从而下调 IL-6 和 CXCL1 等促炎因子的转录与释放。

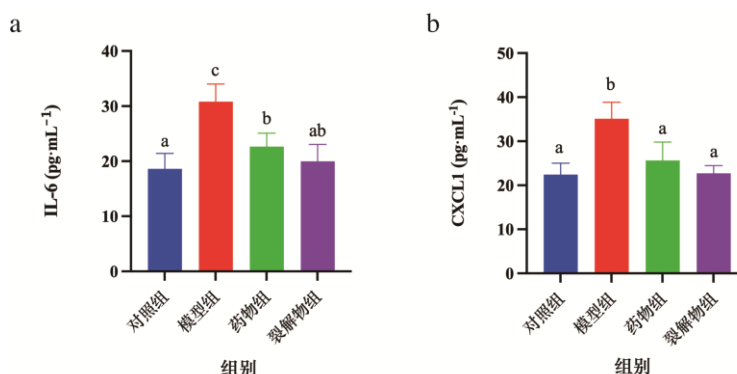


图6 各组小鼠血清炎症因子水平

Fig.6 Levels of serum inflammatory cytokines in each group of mice

注：a：小鼠血清 IL-6 水平；b：小鼠血清 CXCL1 水平。

3 结论

本研究系统比较了发酵乳杆菌 TY-H27 不同组分对幽门螺杆菌感染所致炎症的缓解作用，发现仅超声破碎获得的裂解物具备显著的体内外抗炎活性，而上清液、裂解液及热灭活菌体均无效。该结果提示，TY-H27 的抗炎功效并非源于分泌性代谢产物或完整菌体，而是可能依赖于热不稳定的菌体不溶性组分（推测为表面蛋白或脂磷壁酸等，需进一步鉴定）。裂解物在体外能将 Hp 诱导的 IL-8 分泌降低 37.57%，在体内使血清 IL-6 和 CXCL1 分别下降 35.12%和 35.31%，同时使胃黏膜炎性浸润评分和损伤评分分别降低 58.04%和 54.95%，疗效与三联药物相当。这一发现突破了传统活菌制剂在胃酸环境中存活率低的局限，为后生元制剂的开发提供了新的候选原料。

与现有乳杆菌后生元研究相比，TY-H27 裂解物的活性呈明确的热敏性，提示其作用机制可能区别于耐热型后生元（如胞外多糖），更倾向于通过表面分子与胃上皮或免疫细胞的 TLR2/TLR4 受体直接互动，进而抑制 NF- κ B 通路的活化。这一机制假设为后续信号通路验证实验指明了方向。此外，裂解物干预未影响小鼠体重、脾脏及胸腺脏器指数，表明其具有良好的生物安全性。

本研究尚存在一定局限性：体内实验仅检测了血清 IL-6 和 CXCL1，未检测胃组织局部 TNF- α 、IL-1 β 等炎症因子及 TLR4、MyD88、I κ B α 、p-I κ B α 、NF- κ B p65、p-p65 等通路关键分子的表达或磷酸化水平；裂解物中活性成分的鉴定仅基于功能差异比较和热敏性现象，未进行蛋白酶处理、化学组分分离（如脂质、多糖、蛋白）等直接证据实验。因此，关于 TY-H27 裂解物通过 TLR2/TLR4-NF- κ B 通路发挥抗炎作用以及活性成分为热不稳定性表面分子的结论尚属推测，需在后续研究中通过 Western blot、抑制剂干预、组分分离与活性追踪等方法加以验证。

综上所述，TY-H27 裂解物具备明确的抗炎效果、较高的安全性和潜在的加工适配性，尤其适用于对抗生素不耐受或耐药的特殊人群。未来需进一步分离鉴定裂解物中的关键活性分子，并利用分子生物学手段探究其在 NF- κ B 等炎症信号通路中的具体靶点，以推动该后生元向功能性食品或辅助治疗药物的转化应用。

参考文献

- [1] MALFERTHEINER P, CAMARGO M C, EL-OMAR E, et al. *Helicobacter pylori* infection [J]. Nature Reviews Disease Primers, 2023, 9(1): 19.

- [2] SURESH V, SREEKUMAR A, KUMAR A, et al. Therapeutic advances and future directions in *Helicobacter pylori* eradication [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2025, 16: 1652943.
- [3] SUN Q, YUAN C, ZHOU S, et al. *Helicobacter pylori* infection: a dynamic process from diagnosis to treatment [J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2023, 13: 1257817.
- [4] WROBLEWSKI L E, PEEK R M, JR., WILSON K T. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: factors that modulate disease risk [J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2010, 23(4): 713-739.
- [5] YU Y, XUE J, LIN F, et al. Global primary antibiotic resistance rate of *Helicobacter pylori* in recent 10 years: a systematic review and meta-analysis [J]. *Helicobacter*, 2024, 29(3): e13103.
- [6] SZAJEWSKA H, SCOTT K P, DE MEIJ T, et al. Antibiotic-perturbed microbiota and the role of probiotics [J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2025, 22(3): 155-172.
- [7] DASH D, MISHRA V, PANDA M K, et al. Effects of *Lactobacillus spp.* on *Helicobacter pylori*: a promising frontier in the era of antibiotic resistance [J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2025, 17(5): 2653-2672.
- [8] WANG Y, WANG X, CAO X Y, et al. Comparative effectiveness of different probiotics supplements for triple *Helicobacter pylori* eradication: a network meta-analysis [J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2023, 13: 1120789.
- [9] SALMINEN S, COLLADO M C, ENDO A, et al. Author correction: the international scientific association of probiotics and prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics [J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2022, 19(8): 551.
- [10] AGUILAR-TOALÁ J E, GARCÍA-VARELA R, GARCÍA H S, et al. Postbiotics: an evolving term within the functional foods field [J]. *Trends in Food Science and Technology*, 2018, 75: 105-114.
- [11] SANHUEZA-CARRERA E A, HERNANDEZ-DELGADO N C, ROMO-GONZALEZ C, et al. Agave fructans as a carbon source to develop a postbiotic-based strategy for the prophylaxis and treatment of *Helicobacter pylori* infection [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2025, 26(22): 1119.
- [12] 冯晓敏,李寒露,胡海杰,等.后生元在胃肠道疾病防治中的应用[J].微生物学杂志,2025,45(4):96-104.
- [13] HUA Q, HU J, ZHANG X, et al. Postbiotics suppress *Helicobacter pylori* adhesion and survival through a coaggregation mechanism [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2025, 73(35): 21976-21986.
- [14] 梁家瑞,温明赫,陈玮萱,等.益生菌及后生元对胃部幽门螺杆菌感染的改善作用[J].现代食品科技,2025,41(7):101-108.
- [15] 陈晓华.拮抗幽门螺杆菌益生菌的筛选及其干预机制的研究[D].无锡:江南大学,2011.
- [16] GENTA R M, LEW G M, GRAHAM D Y. Changes in the gastric mucosa following eradication of *Helicobacter pylori* [J]. *Modern Pathology*, 1993, 6(3): 281-289.
- [17] YAO Q X, LI Z Y, KANG H L, et al. Effect of acacetin on inhibition of apoptosis in *Helicobacter pylori*-infected gastric epithelial cell line [J]. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, 2024, 16(8): 3624-3634.
- [18] WU S, LUO Y, WEI F, et al. *Lactic acid bacteria* target NF-kappaB signaling to alleviate gastric inflammation [J]. *Food & Function*, 2025, 16(8): 3101-3119.
- [19] CHEN Y H, TSAI W H, WU H Y, et al. Probiotic *Lactobacillus spp.* act against *Helicobacter pylori*-induced inflammation [J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2019, 8(1): 90.
- [20] TALEBI G, NABAVI-RAD A, SADEGHLOO Z, et al. Inhibitory effects of *Lactobacillus reuteri* strain I300 against *Helicobacter pylori* adhesion, invasion, and inflammatory response in gastric epithelial cells in vitro [J]. *Folia Microbiologica*, 2026, 71(1): 155-165.
- [21] SONG H Y, ZHOU L, LIU D Y, et al. Probiotic effect on *Helicobacter pylori* attachment and inhibition of inflammation in human gastric epithelial cells [J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2019, 18(3): 1551-1562.
- [22] TAKEDA S, IGOSHI K, TSEND-AYUSH C, et al. *Lactobacillus paracasei* strain 06TCa19 suppresses inflammatory chemokine induced by *Helicobacter pylori* in human gastric epithelial cells [J]. *Human Cell*, 2017, 30(4): 258-266.
- [23] LEBEER S, VANDERLEYDEN J, DE KEERSMAECKER S C. Host interactions of probiotic bacterial surface molecules: comparison with commensals and pathogens [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, 8(3): 171-184.
- [24] LEE I C, TOMITA S, KLEEREBEZEM M, et al. The quest for probiotic effector molecules--unraveling strain specificity at the molecular level [J]. *Pharmacological Research*, 2013, 69(1): 61-74.

- [25] HONG S S, LEE H A, KIM J Y, et al. In vitro and in vivo inhibition of *Helicobacter pylori* by *Lactobacillus paracasei* HP7 [J]. Laboratory Animal Research, 2018, 34(4): 216-222.
- [26] GARCIA-CASTILLO V, MARCIAL G, ALBARRACIN L, et al. The exopolysaccharide of *Lactobacillus fermentum* UCO-979C is partially involved in its immunomodulatory effect and its ability to improve the resistance against *Helicobacter pylori* infection [J]. Microorganisms, 2020, 8(4): 479.
- [27] LI J, XU X, YANG S, et al. *Helicobacter pylori* inhibition, gastritis attenuation, and gut microbiota protection in C57BL/6 mice by *Ligilactobacillus salivarius* NCUH062003 [J]. Microorganisms, 2024, 12(12): 2521.
- [28] NIE J R, WU Y H, HAN X M, et al. Preparation of *Lactobacillus paracasei* TK1501 postbiotic and its inhibitory effect against *Helicobacter pylori* infection in mice [J]. Journal of Southern Medical University, 2024, 44(5): 867-875.
- [29] YU H J, LIU W, CHANG Z, et al. Probiotic BIFICO cocktail ameliorates *Helicobacter pylori* induced gastritis [J]. World Journal of Gastroenterology, 2015, 21(21): 6561-6571.
- [30] 蒋杰,黄煌,梅璐,等.乳杆菌改善幽门螺杆菌感染性胃炎的实验研究[J].河南医学研究,2018,27(16):2887-2892.
- [31] TEK E, DURAN N, COLAK E Y, et al. The effects of postbiotics and glycyrrhetic acid on immune response and inflammation-related genes during *H. pylori* eradication therapy [J]. BMC Microbiology, 2025, 26(1): 39.