

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2025.12.003

· 基础研究 ·

2'-岩藻糖基乳糖缓解小鼠免疫检查点抑制剂相关结肠炎的机制研究

莫锦灵¹, 张洪涛², 胡楠³, 周栋¹, 朱傲霜¹, 蒋敬庭³, 张雯婷^{1,3,4} (1. 南通大学附属常州儿童医院 儿科中心实验室, 江苏 常州 213003; 2. 江南大学生物工程学院, 江苏 无锡 214122; 3. 苏州大学附属第三医院暨常州市第一人民医院 肿瘤生物诊疗中心, 江苏 常州 213003; 4. 常州市气管炎研究所 药学研究室, 江苏 常州 213003)

[摘要] **目的:**探究2'-岩藻糖基乳糖(2'-FL)对小鼠免疫检查点抑制剂(ICI)相关结肠炎(ICIC)的作用及其机制。**方法:**用随机数字表法将BALB/c小鼠随机分为对照组、葡聚糖硫酸钠(DSS)组、ICIC组、ICIC+2'-FL组。DSS组连续7 d自由摄取含3.5% DSS的饮用水诱导结肠炎;ICIC组在摄取含3.5% DSS的饮用水的同时在实验第0天和第4天通过腹腔注射细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4抗体(CTLA-4抗体,剂量为150 µg/只)构建ICIC模型;ICIC+2'-FL组在ICIC造模同时从实验开始每日灌胃给予2'-FL [150 mg/(kg·d)]。统计分析小鼠体质量和疾病活动性评分(DAI)变化。第7天处死小鼠,测量结肠长度,用H-E染色法观察各组结肠组织学形态变化,用免疫组织化学(IHC)法检测CD3⁺T细胞和CD19⁺B细胞在结肠组织中的浸润情况,用转录组学方法对结肠组织进行RNA测序,统计分析各组结肠组织中的差异表达基因(DEG)并进行基因本体论(GO)功能注释和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析。**结果:**与对照组和DSS组比较,ICIC组小鼠体质量明显下降、DAI评分上升、结肠长度更短(均 $P < 0.05$),结肠黏膜完整性受损,呈现典型的溃疡性病变;与ICIC组比较,ICIC+2'-FL组小鼠体质量下降显著缓解、DAI评分降低,结肠长度恢复(均 $P < 0.05$)。转录组学检测结果显示,与ICIC组相比,2'-FL处理组有51个DEG,GO功能注释和KEGG富集分析提示,2'-FL缓解ICIC样症状与B细胞受体、B细胞增殖调控、炎症反应和修复相关通路的上调有关。**结论:**人乳寡糖2'-FL可显著缓解ICIC的病理进程,其可能通过B细胞受体相关信号通路及与炎症反应和修复相关通路减轻ICIC小鼠结肠组织的损伤。

[关键词] 免疫检查点抑制剂相关结肠炎;2'-岩藻糖基乳糖;转录组测序;人乳寡糖;结肠炎

[中图分类号] R730.59 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2025)12-1228-08

Mechanistic study on the effects of 2'-fucosyllactose in alleviating immune checkpoint inhibitor-induced colitis in mice

MO Jinling¹, ZHANG Hongtao², HU Nan³, ZHOU Dong¹, ZHU Aoshuang¹, JIANG Jingting³, ZHANG Wenting^{1,3,4} (1. Central Laboratory of Pediatrics, Changzhou Children's Hospital Affiliated to Nantong University, Changzhou 213003, Jiangsu, China; 2. School of Biotechnology and Bioengineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China; 3. Department of Tumor Biological Treatment, the Third Affiliated Hospital of Soochow University & Changzhou First People's Hospital, Changzhou 213003, Jiangsu, China; 4. Department of Pharmaceutical Research, Research Institution of Asthma and Bronchitis of Changzhou, Changzhou 213003, Jiangsu, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of 2'-fucosyllactose (2'-FL) on immune checkpoint inhibitor-induced colitis (ICIC) in mice and its possible mechanisms. **Methods:** BALB/c mice were randomly assigned into the normal control (NC) group, dextran sulfate sodium (DSS) group, ICIC group, and ICIC + 2'-FL group, using a random number table method. Mice in the DSS group were provided with 3.5% DSS-containing drinking water for seven days to induce colonic inflammation. The ICIC group was intraperitoneally injected of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4; dose: 150 µg) on day 0 and day 4, while simultaneously consuming 3.5% DSS-containing drinking water. The ICIC + 2'-FL group received daily intragastric administration of 2'-FL (150 mg/[kg·d]) concurrently with the establishment of ICIC model. Changes in body weight and disease activity index (DAI) were statistically analyzed. On day 7, all mice were sacrificed, and the colon length was measured. Hematoxylin and eosin (H&E) staining was performed to observe histomorphological changes in colon tissues across groups. Immunohistochemistry (IHC) was

[基金项目] 中国博士后科研基金(No. 2021M700546);江苏省卫健委科研课题(No. MQ2024030);常州市科技计划项目(No. CJ20245049; No. CE20235066);南京医科大学常州医学中心重点项目(No. CMCM202314);南通大学临床专项(No. 2023LY027)

[作者简介] 莫锦灵(1998—),女,硕士生,研究实习生,主要从事肠道炎症性疾病的免疫学发病机制和药理学防御研究

[通信作者] 张雯婷(扫码获取作者通信方式)



conducted to assess the infiltration of CD3⁺ T cells and CD19⁺ B cells in colonic tissues. RNA sequencing (RNA-seq) was performed on colon tissues. The differentially expressed genes (DEGs) were subjected to Gene Ontology (GO) functional annotation and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis. **Results:** Compared with the NC and DSS groups, the ICIC group showed significant body weight loss, elevated DAI scores, and shorter colon length (all $P < 0.05$); besides, the colon mucosal integrity was damaged, with typical ulcerative lesions. Compared with the ICIC group, ICIC + 2'-FL group demonstrated significantly alleviated body weight loss, reduced DAI score, and restored colon length (all $P < 0.05$). Transcriptomic results revealed 51 DEGs in the ICIC + 2'-FL group (vs ICIC group). GO functional annotation and KEGG enrichment analysis suggested that the protective effect of 2'-FL against ICIC-like symptoms might be associated with upregulation of signaling pathways related to B cell receptor, B cell proliferation regulation, inflammatory responses, and tissue repair. **Conclusion:** Human milk oligosaccharide 2'-FL significantly alleviates the pathological progression of ICIC by modulating B-cell receptor-related signaling pathways and pathways associated with inflammation responses and tissue repair, thereby reducing colonic damage in ICIC mice.

[Key words] immune checkpoint inhibitor-induced colitis (ICIC); 2'-fucosyllactose (2'-FL); transcriptome sequencing; human milk oligosaccharide (HMO); colitis

[Chin J Cancer Biother, 2025, 32(12): 1228-1235. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.12.003]

免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitor, ICI) 是近年来癌症治疗的新方法, 通过阻断免疫系统通路的抑制分子, 如肿瘤微环境中的细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4, CTLA-4)、程序性细胞死亡蛋白 1 (programmed death-1, PD-1) 或其配体程序性细胞死亡蛋白配体 1 (programmed death-ligand 1, PD-L1) 激活全身免疫细胞的杀伤能力, 发挥抗肿瘤作用^[1]。与传统抗肿瘤药物的直接细胞毒性作用不同, ICI 在发挥药效的同时引起 T 细胞的广泛激活, 导致免疫相关不良事件 (immune-related adverse event, irAE), 并累及全身多器官^[2]。ICI 相关结肠炎 (ICI-induced colitis, ICIC) 是最常见的 irAE, 以腹泻、腹痛、便血和恶心呕吐等特征为临床表现^[3]。irAE 的危害较大, 10 例致命 irAE 中至少有 3 例为 ICIC^[4]; 此外, ICIC 的治疗通常伴随 ICI 的停止, 极大程度地限制了肿瘤患者的治疗方案选择^[5]。在此背景下, 开发安全有效的 ICIC 防治药物是目前免疫治疗领域亟待进行的研究任务。人乳寡糖 (human milk oligosaccharide, HMO) 作为人乳中含量第三高的固体营养物质, 极少 (约 1%) 在胃肠道消化, 能完整地到达结肠并参与微生物群落的构建, 还可与上皮细胞和免疫系统细胞上表达的糖链受体结合, 调节新生儿肠道屏障功能和免疫稳态^[6]。2'-岩藻糖基乳糖 (2'-fucosyllactose, 2'-FL) 是分泌型母亲乳汁中含量最高的 HMO^[7]。有研究^[8]表明, 2'-FL 通过下调 STAT3 的磷酸化并抑制结肠组织中 STAT3 相关信号通路, 改善葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium, DSS) 诱导的小鼠结肠炎。ICIC 具有和炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 相似的病理特征^[9], 以及相似的炎症启动机制 (即效应 T 细胞的过度激活、淋巴细胞的浸润和循环记忆 T 细胞的增加等自身免疫机制), 从而导致促炎状态和自身免疫性病变的出现^[3]。此外,

肠道微生物在肠黏膜稳态的调节和 ICIC 及 IBD 的发病进程中也起着关键作用, 而 2'-FL 作为寡糖类成分具有固有的益生元属性^[5, 10]。因此, 推测 2'-FL 可应用于 ICIC 的防治, 为 ICIC 干预策略的开发提供潜在的有效化合物结构。在本研究中, 项目组通过 ICI 联合 DSS 在小鼠中诱导实验性 ICIC, 并在此模型中进行 2'-FL 的探索性给药, 以高通量 mRNA 转录组测序考察小鼠肠道中基因转录水平的变化, 为揭示 2'-FL 的肠道保护作用机制提供初步的实验证据和线索。

1 材料与方法

1.1 动物、主要试剂与仪器

SPF 级雄性 BALB/c 小鼠 20 只, 6~7 周龄、体重 18~20 g, 购自常州卡文斯实验动物有限公司, 生产许可证号 [SCXK (苏) 2021-0013]。本研究经南通大学附属常州儿童医院伦理委员会批准 [批准号: 常州市儿童医院伦理审查 (科研) 2023-011]。

2'-FL 由江南大学生物工程学院张洪涛教授课题组提供 (纯度: 95%), DSS (分子量 36 000~50 000) 购自美国 MP Biomedicals 公司, InVivoMAb 小鼠 CTLA-4 抗体购自美国 BioXCell 公司, 4% 多聚甲醛固定液购自广州维格斯生物科技有限公司, oligo (dT) 磁珠购自美国 Thermo Fisher 公司。mRNA 镁离子打断试剂盒 (cat. E6150S)、*E. coli* DNA polymerase I (cat. m0209)、RNase H (cat. m0297)、尿嘧啶-DNA 糖基化酶 (cat. m0280) 购自美国 New England Biolabs 公司, 逆转录酶 (cat. 189649)、TRIzol 试剂购自美国 Invitrogen 公司, 异丙醇购自美国 Sigma Aldrich 公司, RNA 质检试剂盒 (RNA 6000 Nano Kit)、文库质检试剂盒 (High Sensitivity DNA Kit) 购自美国 Agilent 公司, 转录组文库试剂盒 (TruSeq Stranded mRNA Library Prep Kit) 购自美国 Illumina 公司。

Agilent 2100 生物分析仪购自美国 Agilent 公司, NanoDrop ND-1000 分光光度计购自美国 NanoDrop 公

司, NovaSeq 6000测序仪购自美国 Illumina 公司, Qubit 4 荧光仪购自美国 Invitrogen 公司, 高速离心机(Centrifuge 5425R)购自德国 Eppendorf 公司, PCR 仪(VeritiPro™ Thermal Cycler)购自美国 Applied Biosystems 公司, JXFSTPRP-II 液氮研磨仪购自中国净信公司。

1.2 ICIC 小鼠模型建立、分组和评价

由于单纯的 ICI 不足以造成小鼠结肠炎, 本研究选用 DSS 联合 ICI 构建 ICIC 小鼠模型, 造模条件参考文献[11]并进行微调。实验分为对照组、DSS 组、ICIC 组、ICIC + 2'-FL 组。DSS 组自由摄取含 3.5% DSS 的饮用水, 连续喂养 7 d 诱导肠道炎症; ICIC 组在摄取 3.5% DSS 饮用水的同时在实验第 0 天和第 4 天通过腹腔注射 CTLA-4 抗体(150 μg)构建 ICIC 模型; ICIC + 2'-FL 组在 ICIC 造模同时每日灌胃 2'-FL [150 mg/(kg·d)]; 对照组、DSS 组、ICIC 组每日平行灌胃 0.2 mL 生理盐水, 并在实验第 0 和第 4 天腹腔注射 PBS。每日记录小鼠的体质量、粪便性状等一般指标, 计算小鼠体质量下降百分率, 计算公式为(当日体质量/首日体质量 - 1) × 100%。计算小鼠疾病活动性评分(disease activity index, DAI)。DAI 评分标准: 体质量每下降 5%, 评分增加 1 分, 最高评分为 4 分; 粪便性状正常、软化、不成形、稀便和水样腹泻分别对应为 0、1、2、3 和 4 分; 无便血、轻度、重度、血便和直肠出血则对应为 0、1、2、3 和 4 分; 上述 3 项分值相加总分为每只小鼠的 DAI 评分。在第 7 天处死所有小鼠, 取结肠组织测量长度后, 用 4% 多聚甲醛固定, 制作石蜡切片, H-E 染色观察组织病理学形态变化。用全自动免疫组化机进行免疫组织化学(IHC)染色观察结肠区域 CD3⁺ T 细胞和 CD19⁺ B 细胞浸润情况, 一抗为兔抗 CD3 单克隆抗体(稀释比例为 1:200)以及兔抗 CD19 单克隆抗体(稀释比例为 1:200), 二抗为辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG, 最后用二氨基联苯胺溶液显色。在显微镜下随机选取 5 个不重叠视野, 获取视野下呈现特异性棕褐色染色的 CD3⁺ T 细胞和 CD19⁺ B 细胞数量以及细胞总数, 用“CD3⁺/CD19⁺ B 细胞数量/总细胞数量 × 100%”计算 CD3⁺ T 细胞和 CD19⁺ B 细胞占比。

1.3 转录组测序分析各组小鼠结肠组织中基因表达

样本预处理: 称取 30~50 mg 结肠投入对应编号的 2 mL 磨样管中, 迅速投入液氮中暂存; 插入预冷的研磨仪适配器中(60 Hz, 60 s); 设备运行结束后, 取出样品管放置干冰上。

转录组测序分析: 用 TRIzol 试剂提取各组小鼠结肠组织中的总 RNA, NanoDrop ND-1000 对其量与纯度进行质控, 通过 Bioanalyzer 2100 对 RNA 的完整性进行检测; 质量浓度 > 50 ng/μL, RIN 值 > 7.0, 总 RNA > 1 μg

满足下游实验要求。使用 oligo (dT) 磁珠通过两轮纯化对其中带有 Poly (A) mRNA 进行特异性捕获。将捕获到的 mRNA 在高温条件下利用 mRNA 镁离子打断试剂盒将其片段化(94 °C 处理 5~7 min)。用逆转录酶将片段化 mRNA 逆转录为 cDNA。然后, 用 DNA 聚合酶 I 与 RNase H 进行二链合成, 将这些 DNA 与 RNA 的复合双链转化成双链 DNA, 将双链 DNA 的末端补齐为平末端, 再在其两端各加上一个碱基 A, 使其能够与末端带有 T 碱基的接头进行连接, 并利用磁珠对其片段大小进行筛选和纯化。用尿嘧啶-DNA 糖基化酶消化二链, 再进行 95 °C 3 min, 98 °C 15 s、60 °C 15 s、72 °C 30 s, 共 8 个循环, 72 °C 5 min, 使其形成片段大小为 (300 ± 50) bp 的文库。最后用 Illumina Novaseq™ 6000 测序仪按照标准操作程序对各组样本进行双端测序, 测序模式为 PE150。

1.4 统计学处理

使用 Graphpad Prism 8.0 软件进行统计数据分析与绘图。体质量、多样性指数等非正态分布定量资料以 M(Q1, Q3) 表示, 使用 *t* 检验比较两独立样本组, 多组间比较使用通过单因素方差分析(One-way ANOVA)。以 *P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

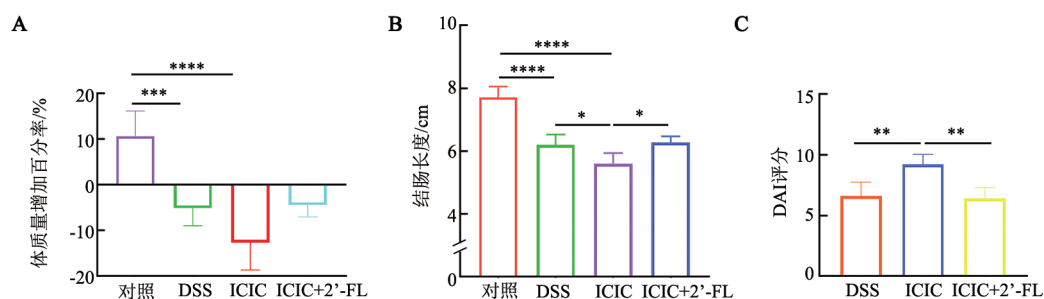
2 结果

2.1 各组小鼠体质量、结肠长度、结肠组织 H-E 染色和 CD3⁺ T 细胞 IHC 染色情况

在造模第 7 天, 与 DSS 组和 NC 组比较, ICIC 组小鼠体质量下降、DAI 评分升高, 小鼠结肠长度变短(图 1, 均 *P* < 0.05); 与 ICIC 组比较, ICIC + 2'-FL 组体质量下降有所缓解, DAI 评分和结肠长度丢失显著改善(图 1, 均 *P* < 0.05)。H-E 染色结果(图 2)显示, 与对照组和 DSS 组比较, ICIC 组小鼠结肠组织大部分隐窝结构和杯状细胞消失, 小部分呈现隐窝结构性改变, 炎性细胞浸润增加, 呈现典型的溃疡样病变; ICIC + 2'-FL 组对比 ICIC 组的结肠组织形态完整性显著改善, 尤其是黏膜层的结肠腺的完整性增加、固有层的炎性细胞减少。IHC 法检测结果(图 3)显示, 对照组比较, ICIC 组结肠组织中 CD3⁺ T 细胞浸润明显增加; 与 ICIC 组比较, ICIC + 2'-FL 组小鼠结肠组织中 CD3⁺ T 细胞明显减少(*P* < 0.05)。

2.2 各组小鼠结肠组织中的差异表达基因分析

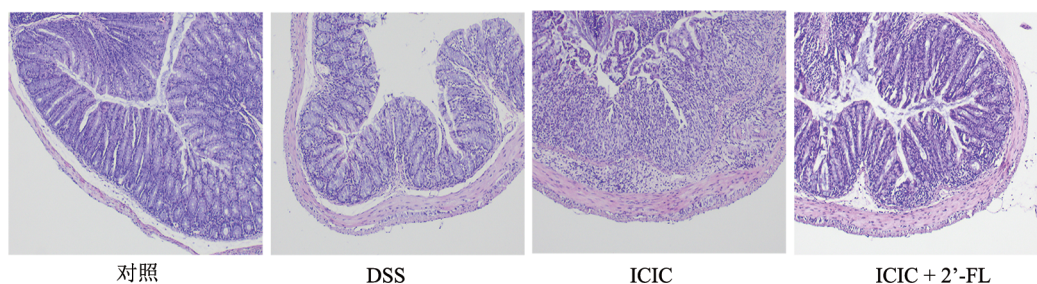
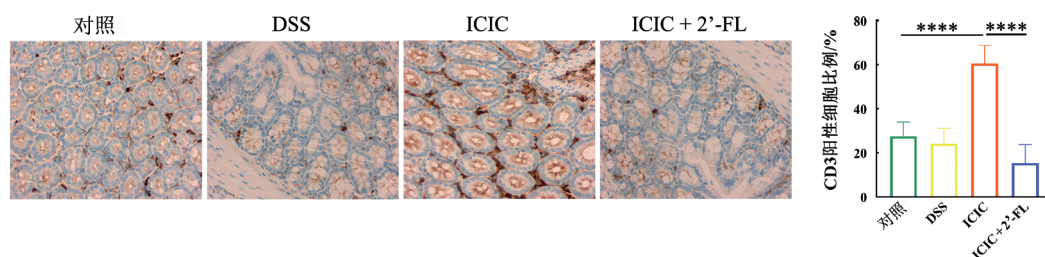
各组小鼠结肠组织进行转录组测序的主成分分析(principal component analysis, PCA)结果(图 4)显示, 给药组小鼠(ICIC + 2'-FL 组)与模型组小鼠(ICIC 组和 DSS 组), 模型组小鼠与正常组小鼠(对照组)结肠组织样本基因表达整体分离趋势明显, 表明组间在转录水平具有明显差异。



A: 各组小鼠在实验终点时的体重增加率; B: 各组小鼠在实验终点时的结肠长度; C: 各组小鼠的DAI评分。

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ 。

图1 2'-FL改善ICIC样症状

图2 各组小鼠结肠组织的H-E染色($\times 100$)**** $P < 0.0001$ 。图3 各组小鼠结肠组织的CD3⁺T细胞染色结果($\times 400$)

对测序数据质量评估后进行差异表达基因(DEG)筛选,以 $|\log_2FC| \geq 2$ 和 $P < 0.05$ 作为DEG筛选标准。分析结果(图5)显示,与对照组比较,ICIC组中共312个DEG,其中180个上调、132个下调;DSS组共435个DEG,其中225个上调、210个下调。与ICIC组相比,ICIC + 2'-FL组共113个DEG,其中70个上调、43个下调。对照、DSS、ICIC和ICIC + 2'-FL组重叠DEG共51个。

2.3 DEG的基因本体论(gene ontology, GO)功能注释和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路富集分析

为了研究2'-FL缓解ICIC的潜在作用途径,本研究对DEG进行GO和KEGG富集分析。GO富集分析主要体现在:生物过程(biological process, BP)、分子功能(molecular function, MF)、细胞组分(cell component, CC)3方面,ICIC + 2'-FL组与ICIC组的

DEG主要富集在B细胞受体信号通路、B细胞的激活

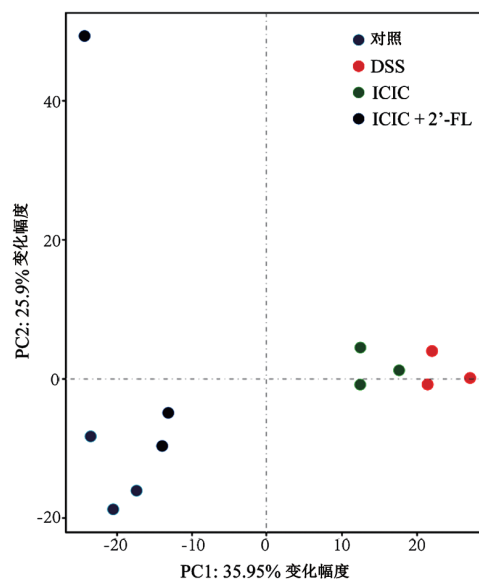
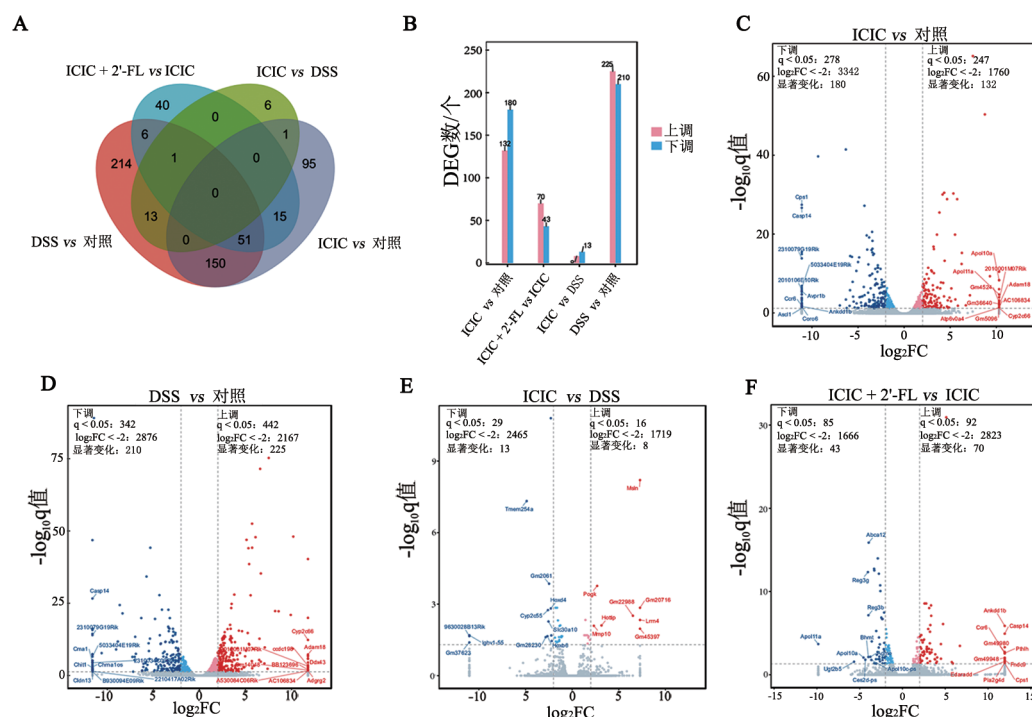
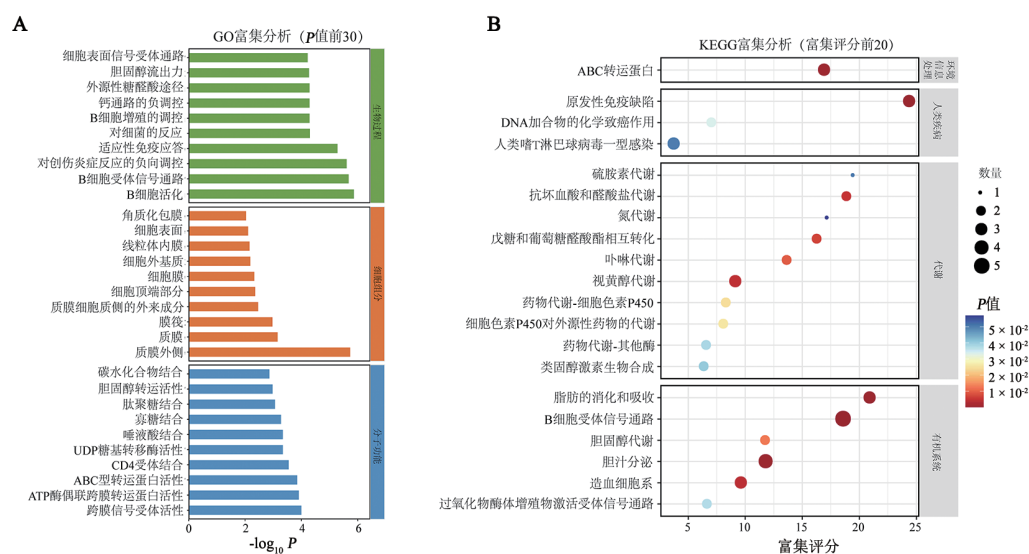


图4 各组小鼠结肠组织转录组学的主成分分析



A: 韦恩图示各组小鼠结肠组织中DEG; B: 柱状图示各组DEG的个数; C-F: 火山图显示ICIC组与对照组(C)、DSS组与对照组(D)、ICIC组与DSS组(E)和ICIC + 2'-FL组与ICIC组(F)的DEG。

图5 各组小鼠结肠组织转录组测序的DEG



A: GO注释分类; B: KEGG功能注释。

图6 ICIC组与2'-FL组间的DEG的富集分析

和调控增殖、与炎症反应和修复相关的信号通路以及适应性免疫通路等,细胞膜和脂蛋白颗粒,跨膜信号受体活性和ATP酶偶联跨膜转运蛋白活性(图6A)。KEGG富集分析结果(图6B)显示,与ICIC组相比,ICIC + 2'-FL组的DEG多富集在ABC蛋白转运、原发性免疫缺陷、视黄醇代谢、B细胞受体信号通路、胆汁分泌和脂肪消化和吸收。

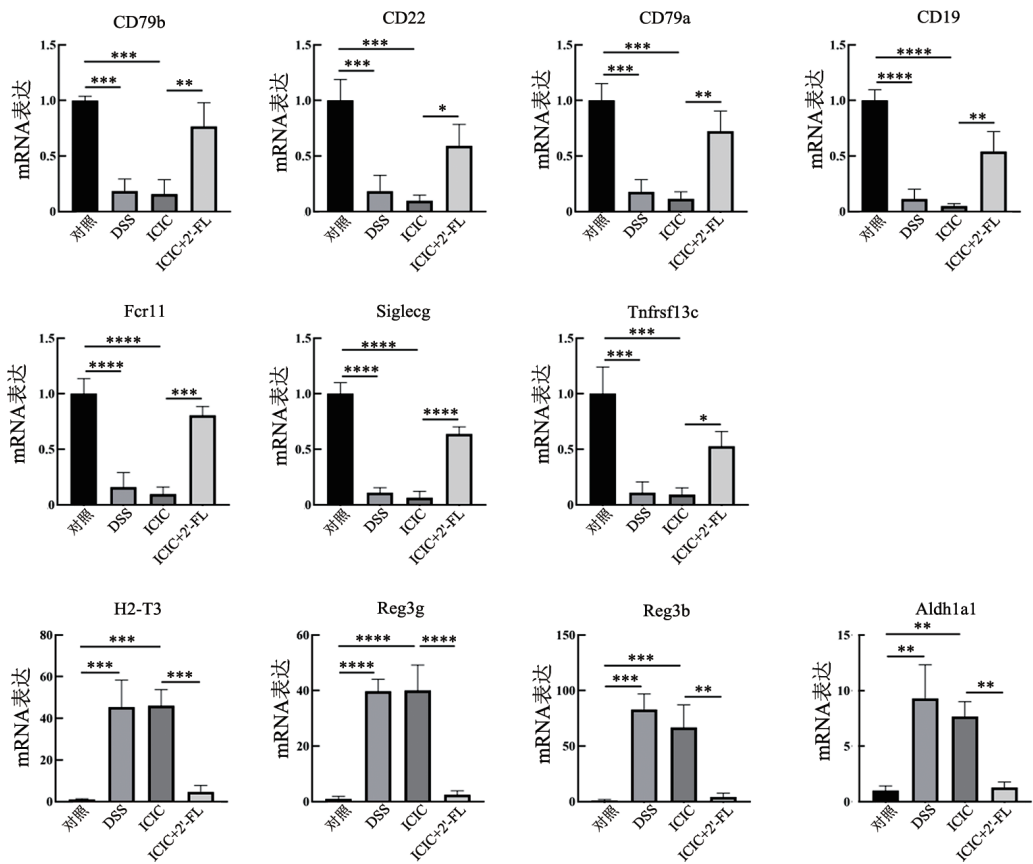
进一步分析上述与B细胞和免疫功能相关的DEG在各组中的表达,结果发现,与B细胞受体、B细

胞激活和调控增殖通路以及免疫反应相关的Cd79b、Cd22、Cd79a、Cd19、Fcrl1、Siglecg和Tnfrsf13c,在ICIC + 2'-FL组的表达显著高于ICIC组,表明2'-FL抑制ICIC的作用与正调节这7个基因有潜在的相关性。ICIC组炎症反应和修复相关的信号通路的Reg3g和Reg3b与适应性免疫反应的H2-T3以及视黄醇代谢相关的Aldh1a1表达显著上调,而它们在ICIC + 2'-FL组表达降低,表明2'-FL可逆转部分与肠道修复相关的基因在ICIC中的代偿性上升(图7)。

结合 GO 和 KEGG 富集分析结果发现, 2'-FL 在抑制 ICIC 病理损害的同时调控了多个与 B 细胞活化和生物学功能发挥以及免疫激活的基因: B 细胞受体通路中的 Cd79b、Cd22、Cd79a 和 Cd19, B 细胞激活通路中的 Cd22、Cd79a 和 Fcrl1, 调控 B 细胞增殖的 Cd22 和 Siglecg, 原发性免疫缺陷的 Cd79a、Tnfrsf13c 和 Cd19, 与炎症反应和修复相关的信号通路的 Reg3g、Reg3b 和 Siglecg, 与视黄醇代谢相关的 Aldh1a1, 结果如表 1 所示。

表 1 2'-FL 干预 ICIC 后与免疫修复相关的差异表达基因

基因名称	结 果	功 能
Cd79b	上调	B 细胞受体通路; 适应性免疫应答
Cd22	上调	B 细胞受体通路; B 细胞活化; B 细胞增殖的调控
Cd79a	上调	B 细胞受体通路; B 细胞激活; 原发性免疫缺陷; 适应性免疫应答
Cd19	上调	B 细胞受体通路; 原发性免疫缺陷; 适应性免疫应答
Fcrl1	上调	B 细胞活化
Siglecg	上调	B 细胞增殖的调控; 对创伤炎症反应的负向调控; 适应性免疫应答
Tnfrsf13c	上调	原发性免疫缺陷; 适应性免疫应答
H2-T3	下调	适应性免疫应答
Reg3g	下调	对创伤炎症反应的负向调控
Reg3b	下调	对创伤炎症反应的负向调控
Aldh1a1	下调	视黄醇代谢



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ 。

图 7 2'-FL 干预 ICIC 后产生的部分 DEG mRNA 在各组小鼠结肠组织中的表达

对结肠组织的 CD19 阳性表达细胞进行 IHC 染色和定量分析以进一步考察和验证 2'-FL 干预对 ICIC 条件下小鼠结肠组织 B 细胞的影响, 结果发现, 给予 2'-FL 干预后 ICIC 组小鼠结肠区域 B 细胞数量有所增加, 结合转录组的数据分析, 2'-FL 缓解 ICIC 肠道炎性损伤的机制可能与增强 B 细胞生物学效应有关(图 8)。

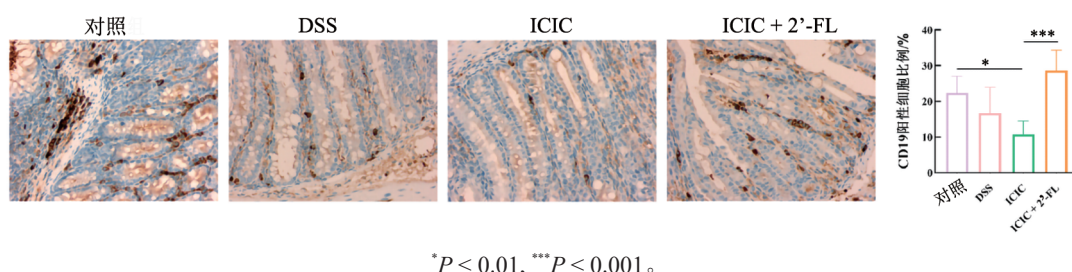


图8 各组小鼠结肠CD19 IHC染色及CD19阳性细胞的定量分析($\times 400$)

3 讨论

ICI在多种肿瘤中显示出良好的抗肿瘤活性,但导致多器官损伤等irAE,几乎影响身体每个系统,导致高发病率和病死率,降低患者的生活质量。ICIC是最常见的irAE之一,发病机制尚不明确,目前的治疗手段包括类固醇和生物制剂,但也存在耐药、增加感染风险以及疗效降低导致疾病复发等缺点^[5]。2'-FL是人乳中含量最高的HMO单体,已被证实可以调节免疫和改善肠道屏障^[6]。本研究通过将2'-FL应用于实验性ICIC模型,并结合肠组织mRNA转录组测序,发现2'-FL改善ICIC样症状和病理损伤,该作用与其调节B细胞生物学活性相关。

本研究对给予/不给予2'-FL的小鼠结肠进行转录组测序并对筛选出的DEG进行GO富集和KEGG分析,发现2'-FL主要影响的生物学通路大量富集在B细胞受体信号通路、B细胞的激活和调控增殖、炎症反应和修复相关的信号通路、适应性免疫等免疫反应通路,以及视黄醇代谢通路。B淋巴细胞在人体免疫防御中起核心作用^[12]。B细胞受体通过结合细胞外抗原和配体向下游传递信号,从而调节B细胞的增殖、活化、组织浸润和凋亡^[13]。已有研究^[14-16]证实,B细胞受体信号通路的激活可以改善DSS诱导的小鼠结肠炎及沙门菌引起的家禽肠道炎症。在本研究中,2'-FL干预组调控B细胞受体信号通路相关基因Cd79b、Cd22、Cd79a、Cd19、Tnfrsf13c、Fcrl1、Siglecg表达上调^[17-22],与ICIC组有显著差异,表明2'-FL可能通过激活B细胞受体通路达到缓解ICIC的作用。目前,已有动物研究^[23-24]发现,2'-FL可用于防治ICIC,且认为该作用与2'-FL的益生元作用相关,因2'-FL可以显著降低ICIC小鼠肠道内以多种明确致病菌为主的变形菌的丰度,同时提升有益的双歧杆菌和乳酸菌的丰度。2'-FL被证实可通过调节双歧杆菌产生的代谢物短链脂肪酸、增加乙酰辅酶A和调节代谢传感器来激活B细胞^[25]。因此,结合在本研究中2'-FL给药显著逆转ICIC小鼠肠道菌群紊乱、增加结肠组织B细胞数量和功能基因表达,推测2'-FL缓解ICIC的机制与调节肠道微生物和免疫微环境有关。值得注

意的是,尽管本实验中所用的2'-FL浓度远远低于婴幼儿每日在分泌型母亲乳汁中的摄入量,但考虑到ICIC是特殊的群体且需要长期用药,而2'-FL在该群体中长期应用的安全性尚未有临床数据,因此在未来的转化中需要关注其可能存在的风险,如长期影响、联合用药风险等。

本研究中发现,2'-FL显著抑制ICIC中上升的Reg3g和Reg3b表达。再生胰岛衍生蛋白(regenerating islet-derived protein, Reg)包含由Reg1、Reg2、Reg3a、Reg3b、Reg3g、Reg3d和Reg4编码的C型凝集素蛋白超家族,Reg3b和Reg3g分别编码小鼠Reg3 β 和Reg3 γ ,Reg3 β 参与组织修复过程,在成年小鼠的小肠中高表达,在结肠中低表达^[26]。在本研究中,ICIC组的小鼠结肠组织中Reg3b和Reg3g高表达,给予2'-FL干预后,表达降低,表明2'-FL可抑制ICIC病理刺激下Reg3b和Reg3g的代偿性上升。在肠道中,Reg3b和Reg3g由IL-22诱导产生,而IL-22的水平与肠道菌群的存在和组成有关^[27],共生菌可以抑制健康小鼠肠道表达IL-22^[28]。由于2'-FL在坏死性小肠结肠炎以及IBD等肠炎模型中均表现出抑制病原菌、促进益生菌生长的益生元作用,推测2'-FL在本研究中对ICIC小鼠Reg3b和Reg3g的含量抑制作用可能由其益生元作用引起。

综上所述,本研究通过DSS联合抗CTLA-4构建ICIC小鼠模型,发现2'-FL可以缓解ICIC小鼠肠道炎症,并通过转录组测序获得2'-FL缓解小鼠ICIC的调控基因,发现2'-FL是B细胞功能和效应的重要调节剂,为进一步明确2'-FL作为潜在的ICIC的治疗药物提供实验证据和线索,可进一步进行开发和应用。

[参考文献]

- [1] POTO R, TROIANI T, CRISCUOLO G, *et al.* Holistic approach to immune checkpoint inhibitor-related adverse events[J/OL]. *Front Immunol*, 2022, 13: 804597[2025-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35432346/>. DOI: 10.3389/fimmu.2022.804597.
- [2] LAUERSEN J B, ANDERSEN T E, ANDERSEN L B. Strength training as superior, dose-dependent and safe prevention of acute and overuse sports injuries: a systematic review, qualitative analysis and meta-analysis[J]. *Br J Sports Med*, 2018, 52(24): 1557-1563.

- DOI: 10.1136/bjsports-2018-099078.
- [3] TANG L S, WANG J L, LIN N, *et al.* Immune checkpoint inhibitor-associated colitis: from mechanism to management[J/OL]. *Front Immunol*, 2021, 12: 800879[2025-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34992611/>. DOI: 10.3389/fimmu.2021.800879.
- [4] WESTDORP H, SWEEP M W D, GORRIS M A J, *et al.* Mechanisms of immune checkpoint inhibitor-mediated colitis[J/OL]. *Front Immunol*, 2021, 12: 768957[2025-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34777387/>. DOI: 10.3389/fimmu.2021.768957.
- [5] WANG S Y, WANG H P. Treatment of immune checkpoint inhibitor-related colitis: a narrative review[J]. *Transl Cancer Res*, 2024, 13 (12): 7002-7014. DOI: 10.21037/tcr-24-2150.
- [6] ŠULIGOJ T, VIGSNÆS L K, ABEELE P V D, *et al.* Effects of human milk oligosaccharides on the adult gut microbiota and barrier function [J/OL]. *Nutrients*, 2020, 12(9): 2808[2025-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32933181/>. DOI: 10.3390/nu12092808.
- [7] VANDENPLAS Y, BERGER B, CARNIELLI V P, *et al.* Human milk oligosaccharides: 2'-fucosyllactose (2'-FL) and lacto-N-neotetraose (LNnT) in infant formula[J/OL]. *Nutrients*, 2018, 10(9): 1161[2025-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30149573/>. DOI: 10.3390/nu10091161.
- [8] LI J T, WEI Y P, LIU C, *et al.* 2'-Fucosyllactose restores the intestinal mucosal barrier in ulcerative colitis by inhibiting STAT3 palmitoylation and phosphorylation[J]. *Clin Nutr*, 2024, 43(2): 380-394. DOI: 10.1016/j.clnu.2023.12.011.
- [9] SIAKAVELLAS S I, BAMIAS G. Checkpoint inhibitor colitis: a new model of inflammatory bowel disease?[J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2018, 34(6): 377-383. DOI: 10.1097/MOG.0000000000000482.
- [10] ZHANG S Q, CHEN L, HU M, *et al.* 2'-Fucosyllactose (2'-FL) changes infants gut microbiota composition and their metabolism in a host-free human colonic model[J/OL]. *Food Res Int*, 2023, 173: 113293[2025-09-10]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113293>. DOI: 10.1016/j.foodres.2023.113293.
- [11] PEREZ-RUIZ E, MINUTE L, OTANO I, *et al.* Prophylactic TNF blockade uncouples efficacy and toxicity in dual CTLA-4 and PD-1 immunotherapy[J]. *Nature*, 2019, 569(7756): 428-432. DOI: 10.1038/s41586-019-1162-y.
- [12] BORBET T C, HINES M J, KORALOV S B. microRNA regulation of B cell receptor signaling[J]. *Immunol Rev*, 2021, 304(1): 111-125. DOI: 10.1111/imr.13024.
- [13] LIN A Q, FANG J B, CHENG Q, *et al.* B cell receptor signaling pathway mutation as prognosis predictor of immune checkpoint inhibitors in lung adenocarcinoma by bioinformatic analysis[J]. *J Inflamm Res*, 2022, 15: 5541-5555. DOI: 10.2147/JIR.S379016.
- [14] GERTH A J, LIN L, NEURATH M F, *et al.* An innate cell-mediated, murine ulcerative colitis-like syndrome in the absence of nuclear factor of activated T cells[J]. *Gastroenterology*, 2004, 126(4): 1115-1121. DOI: 10.1053/j.gastro.2004.01.013.
- [15] FENG Z Q, YE W, FENG L F. Bioactives and metabolites of *Tetragium hemsleyanum* root extract alleviate DSS-induced ulcerative colitis by targeting the SYK protein in the B cell receptor signaling pathway[J/OL]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 322: 117563 [2025-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38104876/>. DOI: 10.1016/j.jep.2023.117563.
- [16] YANG L, SUN J W, YANG T, *et al.* Therapeutic effects and mechanisms of berberine on enteritis caused by *Salmonella* in poultry [J/OL]. *Front Microbiol*, 2024, 15: 1458579[2025-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39664055/>. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1458579.
- [17] SMULSKI C R, EIBEL H. BAFF and BAFF-receptor in B cell selection and survival[J/OL]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2285[2025-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30349534/>. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02285.
- [18] SCHWEIGHOFFER E, TYBULEWICZ V L. BAFF signaling in health and disease[J]. *Curr Opin Immunol*, 2021, 71: 124-131. DOI: 10.1016/j.coi.2021.06.014.
- [19] MAMIDI M K, HUANG J F, HONJO K, *et al.* FCRL1 immunoregulation in B cell development and malignancy[J/OL]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1251127[2025-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37822931/>. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1251127.
- [20] ROYSTER W, WANG P, AZIZ M. The role of siglec-G on immune cells in sepsis[J/OL]. *Front Immunol*, 2021, 12: 621627[2025-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33708213/>. DOI: 10.3389/fimmu.2021.621627.
- [21] BAI X M, HUANG L, NIU L L, *et al.* Mst1 positively regulates B-cell receptor signaling via CD19 transcriptional levels[J]. *Blood Adv*, 2016, 1(3): 219-230. DOI: 10.1182/bloodadvances.2016000588.
- [22] CLARK E A, GILTIAY N V. CD22: a regulator of innate and adaptive B cell responses and autoimmunity[J/OL]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2235[2025-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30323814/>. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02235.
- [23] AZAD M A K, SARKER M, LI T J, *et al.* Probiotic species in the modulation of gut microbiota: an overview[J/OL]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 9478630[2025-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29854813/>. DOI: 10.1155/2018/9478630.
- [24] YAN S K, YU L L, TIAN F W, *et al.* 2'-fucosyllactose alleviate immune checkpoint blockade-associated colitis by reshaping gut microbiota and activating AHR pathway[J]. *Food Sci Hum Wellness*, 2024, 13(5): 2543-2561. DOI: 10.26599/FSHW.2022.9250205.
- [25] LI M, BAI Y Q, ZHOU J R, *et al.* Core fucosylation of maternal milk N-glycan evokes B cell activation by selectively promoting the l-fucose metabolism of gut *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus* spp[J/OL]. *mBio*, 2019, 10(2): e00128-19[2025-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30940702/>. DOI: 10.1128/mBio.00128-19.
- [26] SHINDO R, KATAGIRI T, KOMAZAWA-SAKON S, *et al.* Regenerating islet-derived protein (Reg)₃β plays a crucial role in attenuation of ileitis and colitis in mice[J/OL]. *Biochem Biophys Rep*, 2020, 21: 100738[2025-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32072024/>. DOI: 10.1016/j.bbrep.2020.100738.
- [27] HENDRIKX T, DUAN Y, WANG Y H, *et al.* Bacteria engineered to produce IL-22 in intestine induce expression of REG3G to reduce ethanol-induced liver disease in mice[J]. *Gut*, 2019, 68(8): 1504-1515. DOI: 10.1136/gutjnl-2018-317232.
- [28] SAWA S, LOCHNER M, SATOH-TAKAYAMA N, *et al.* RORγ⁺ innate lymphoid cells regulate intestinal homeostasis by integrating negative signals from the symbiotic microbiota[J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(4): 320-326. DOI: 10.1038/ni.2002.

[收稿日期] 2025-05-23

[修回日期] 2025-10-17

[本文编辑] 向正华