

# 芥菜疙瘩超微粉对小鼠慢性阻塞性肺炎的改善作用

陈岭林<sup>1</sup>, 查学强<sup>1</sup>, 李强明<sup>1</sup>, 罗建平<sup>1\*</sup>, 杨磊<sup>2</sup>

(1. 合肥工业大学食品与生物工程学院, 安徽合肥 230601)

(2. 安徽皖北老家农业开发有限公司, 安徽阜阳 236400)

**摘要:** 该实验研究了芥菜疙瘩超微粉(BUP)对脂多糖鼻腔滴注构建的慢性阻塞性肺疾病(COPD)小鼠肺炎的改善作用。结果显示,与粉碎后过60目筛的芥菜疙瘩普通粉(BOP)相比,BUP的活性成分可溶性膳食纤维、多酚、黄酮、硫苷、异硫氰酸酯等具有更高的溶出率(分别提高了77.27%、63.89%、17.86%、26.72%、42.86%);BUP可以改善COPD小鼠的体重减轻、肺气肿和肺纤维化,提高COPD小鼠肺泡灌洗液(BALF)中调节性T细胞的比例,降低巨噬细胞、树突状细胞和中性粒细胞的比例,下调COPD小鼠肺组织中IL-1 $\beta$ 和IL-6的水平并上调IL-10的水平,抑制肺组织内I $\kappa$ B和NF- $\kappa$ B p65的磷酸化,阻止p65入核促进炎症因子的表达;同时BUP能够平衡COPD小鼠BALF中活性氧水平,改善其肺组织内一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和过氧化氢酶(CAT)等氧化应激相关因子的水平,促进肺组织内Nrf2、血红素加氧酶-1(HO-1)和醌氧化还原酶-1(NQO-1)的表达。研究表明BUP可能由于其活性成分的溶出率优于BOP从而具有更好的改善COPD小鼠肺炎的作用,其机制与抗炎和抗氧化作用相关。实验结果可为芥菜疙瘩的开发利用提供新的参考依据。

**关键词:** 芥菜疙瘩; 超微粉; 慢性阻塞性肺炎

文章编号: 1673-9078(2022)03-33-40

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.3.0628

## The Ameliorating Effect of *Brassica napiformis* Superfine Powder on Chronic Obstructive Pulmonary Disease in Mice

CHEN Linglin<sup>1</sup>, ZHA Xueqiang<sup>1</sup>, LI Qiangming<sup>1</sup>, LUO Jianping<sup>1\*</sup>, YANG Lei<sup>2</sup>

(1.School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

(2.Anhui Wanbei Hometown Agricultural Development Co. Ltd., Fuyang 236400, China)

**Abstract:** The ameliorating effect of *Brassica napiformis* superfine powder (BUP) on the mice with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) induced by intranasal instillation of lipopolysaccharide was investigated. The results showed that the active ingredients of BUP, such as soluble dietary fiber, polyphenols, flavonoids, glucosinolates and isothiocyanates, had higher dissolution rates (which are increased by 77.27%, 63.89%, 17.86%, 26.72% and 42.86% respectively) compared with the *Brassica napiformis* powder (BOP) that was prepared via crushing and passing through a 60-mesh sieve; BUP could ameliorate weight loss, emphysema and pulmonary fibrosis in COPD mice, increase the proportion of regulatory T cells in broncho alveolar lavage fluid (BALF) of COPD mice, reduced the proportion of macrophages, dendritic cells and neutrophils, and down-regulate the levels of IL-1 $\beta$  and IL-6 while up-regulating IL-10 level in the lung tissues of COPD mice. BUP could prevent from p65 entering the nucleus to promote the expression of inflammatory factors through inhibiting the phosphorylation of I $\kappa$ B and NF- $\kappa$ B p65 in lung tissues. At the same time, BUP could balance the level of reactive oxygen species in the BALF of COPD mice, improve the levels of oxidative stress-related factors, such as nitric oxide (NO), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and catalase (CAT), and promote the expressions of Nrf2, heme oxygenase-1 (HO-1) and quinone oxidoreductase-1

引文格式:

陈岭林,查学强,李强明,等.芥菜疙瘩超微粉对小鼠慢性阻塞性肺炎的改善作用[J].现代食品科技,2022,38(3):33-40,+184

CHEN Linglin, ZHA Xueqiang, LI Qiangming, et al. The ameliorating effect of *Brassica napiformis* superfine powder on chronic obstructive pulmonary disease in mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(3): 33-40, +184

收稿日期: 2021-06-15

基金项目: 临泉县-合肥工业大学产业创新引导资金项目(113-413357)

作者简介: 陈岭林(1993-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品精深加工与应用, E-mail: linglin2495@163.com

通讯作者: 罗建平(1966-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 中草药与功能食品, E-mail: jianpingluo@hfut.edu.cn

(NQO-1) in the lung tissues of COPD mice. The research results showed that the ameliorating effect of BUP on COPD mice was greater than that of BOP, due to the higher dissolution rate of BUP's active ingredients, and the underlying mechanism might be related to its anti-inflammatory and antioxidant effects. The experimental results provide a new reference for the development and utilization of *Brassica napiformis*.

**Key words:** *Brassica napiformis*; ultrafine powder; chronic obstructive pulmonary disease

芥菜疙瘩 (*Brassica napiformis* L. H. Bariley) 又名辣疙瘩、大头芥、大头菜, 是十字花科芸薹属植物芥菜的一个变种, 为我国常用的蔬菜之一。传统中医药记载, 芥菜具有宣肺豁痰、温中利气的功效。现代研究表明, 芥菜疙瘩中不仅具有普遍的生物活性成分 (如膳食纤维、多糖、维生素、多酚和黄酮等), 而且还具有十字花科植物特有的硫苷和其代谢产物异硫氰酸酯等生物活性成分, 具有抗炎<sup>[1]</sup>和抗氧化<sup>[2]</sup>的生物活性。芥菜疙瘩在全国各省均有种植, 其栽培面积超过  $1.0 \times 10^6 \text{ hm}^2$ , 产量约  $4.5 \times 10^7 \text{ t}^{[3]}$ 。目前芥菜疙瘩的加工仍以传统腌制小菜为主, 加工手段初级、产品类型单一、附加值低、市场竞争力弱, 迫切需要改变传统的加工模式, 寻找新的加工利用途径, 从而改变产业发展困滞于产业链低端的局面。

慢性阻塞性肺疾病 (Chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是一种常见的伴有气流阻塞的慢性疾病, 是世界上第四大致死疾病<sup>[4]</sup>。在中国, 呼吸系统疾病死亡人数 (主要是慢性阻塞性肺疾病) 在主要疾病的死亡人数中排名第四<sup>[5]</sup>, 且农村死亡率明显高于城市。果蔬超微粉对果蔬的有效成分具有更高的溶出率, 其生物活性功能优于普通粉<sup>[6-9]</sup>, 采用超微粉碎技术对芥菜疙瘩冻干样品进行粉碎, 能基本完整保留芥菜疙瘩的功效成分。本研究基于果蔬超微粉的优良特性<sup>[10]</sup>, 以脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 鼻腔滴注构建 COPD 小鼠模型, 并以芥菜疙瘩普通粉 (*Brassica napiformis* ordinary powder, BOP) 为对照, 从抗炎和抗氧化的角度研究芥菜疙瘩超微粉 (*Brassica napiformis* ultrafine powder, BUP) 对 COPD 小鼠肺炎的影响, 旨在为芥菜疙瘩超微粉的高值化加工利用提供理论指导。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料与试剂

#### 1.1.1 实验材料与动物

芥菜疙瘩由安徽省临泉县安徽碗北老家农业开发有限公司提供; BUP (粒径  $18.311 \pm 0.008 \mu\text{m}$ ) 由芥菜疙瘩切块冻干后经中药超微粉碎机以进样体积 0.6 L、粉碎时间 20 min 制得; BOP (粒径  $86.025 \pm 0.293 \mu\text{m}$ ) 由高速破碎机破碎芥菜疙瘩冻干样品并过 60 目孔筛

制得。SPF 级 C57BL/6J 小鼠 (合格证编号: NO.202011402), 购买于常州市卡文斯实验动物有限公司 (许可证号: SCSK(苏)2016-0010)。小鼠饲养在标准 SPF 级动物房 (温度:  $23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ , 相对湿度: 50%~60%, 光照 12 h/d), 自由摄食饮水, 适应性喂养 1 w。

#### 1.1.2 主要实验试剂

异硫氰酸烯丙酯、萝卜硫苷, Sigma Inc.; 芦丁、没食子酸, 上海源叶生物科技有限公司; 脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS)、地塞米松 (Dexamethasone, Dex), 白鲨生物科技有限公司; 一氧化氮 (Nitric oxide, NO)、活性氧 (Reactive oxygen species, ROS)、ECL 化学发光、RNA 抽提试剂盒, 上海碧云天生物技术有限公司; 过氧化氢酶 (Catalase, CAT)、丙二醛 (Malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathione peroxidase, GSH-Px)、超氧化物歧化酶 (Superoxidase, SOD) 试剂盒, 南京建成科技有限公司; 小鼠 IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-10 Elisa 试剂盒, 北京索莱宝科技有限公司; iTaq Universal SYBR Green Supermix、iScript cDNA Synthesis 试剂盒, Bio-Rad Laboratories, Inc.; CD11b、MHCII、F4/80、CD11c、FoxP3、CD25 抗体, BD Biosciences; CD68、Ly6G 抗体, 赛维尔生物科技有限公司; p65、I $\kappa$ B、p-I $\kappa$ B、NF- $\kappa$ B、Nrf2 抗体, Proteintech, Group, Inc.; Phospho-NF- $\kappa$ B p65 抗体, Abclonal Biotech Co. Ltd.

### 1.2 主要仪器与设备

TU-1901 紫外分光光度计, 北京普析通用仪器有限公司; SC21CL 冷冻干燥机, 北京博医康实验仪器有限公司; XDW-6J 超微粉碎机, 济南达微机械有限公司; SI-150 高速多功能粉碎机, 江苏永康市松青五金厂; WIX-EP600 电泳仪, 韦克斯科技(北京)有限公司; Varioskan Flash 全波长酶标仪, Thermo Fisher 公司; Image Quant LAS 4000 mini 荧光成像系统, GE Healthcare 公司; MoFlo XDP 流式细胞仪, Beckman Coulter 公司; P250 FLASH 病理切片扫描显微镜, 3D HISTECH 公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 芥菜疙瘩粉体活性成分的测定

取适量 BUP 和 BOP, 按照 GB 5009.88-2014 测定其膳食纤维的含量, 按照唐明明等<sup>[11]</sup>的方法测定多酚和黄酮的含量, 按照 Doorn 等<sup>[12]</sup>的方法测定硫苷的含量, 按照方海仙等<sup>[13]</sup>的方法异硫氰酸酯的溶出率; 每组样本独立检测 3 次。

### 1.3.2 小鼠实验分组造模、给药及一般情况观察

小鼠随机分成 7 组 (n=8), 分别为正常组 (Control)、模型组 (LPS)、阳性药组 (LPS+Dex)、超微粉高剂量组 (LPS+6% BUP)、超微粉低剂量组 (LPS+2% BUP)、普通粉高剂量组 (LPS+6% BOP) 和普通粉低剂量组 (LPS+2% BOP)。造模参照 Janbazacyabar 等<sup>[14]</sup>的方法, 第 28 d 造模结束后, LPS+Dex 按照 1 mg/(kg·d)地塞米松剂量给药<sup>[15]</sup>, 芥菜疙瘩粉体饲料高、低剂量<sup>[16]</sup>分别是 100 g 饲料中含有对应粉体含量的 6 g 和 2 g, 其余组都给予正常饲料, 连续 30 d。整个周期结束后, 对小鼠进行隔夜禁食处理。实验期间对小鼠一般情况观察并记录体重变化。

### 1.3.3 小鼠肺泡灌洗液 (Bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 的流式细胞计数分析

CO<sub>2</sub> 处死小鼠, 收集小鼠 BALF<sup>[17]</sup>, 将收集的细胞混匀后分成 5 个组别, 即调节性 T 细胞 (Treg) 组、树突状细胞 (DC) 组、肺泡巨噬细胞 (AM) 组、中性粒细胞 (NE) 组以及活性氧 (ROS) 组, 分别加入各细胞对应的荧光抗体, 即 Treg 为 CD25-FITC 和 Foxp3-APC、DC 为 CD11c-APC 和 MHCII-PE、AM 为 CD11c-APC 和 F4/80-FITC、NE 为 CD11b-FITC 和 Ly6G-PE, 室温 (25 °C) 环境下孵育 30 min 后以流式细胞仪检测几种细胞的比例; BALF 中 ROS 含量变化按照试剂盒说明书测定<sup>[18,19]</sup>。每组样品重复上述实验平行三次, 实验结果采用 flowjo (V 10.5.3, BD Life Sciences, USA) 进行数据分析。

### 1.3.4 肺组织病理学染色和免疫组化分析

CO<sub>2</sub> 处死小鼠, 收集小鼠肺组织, 计算肺系数 (肺组织重量与该小鼠对应体重的比值); 肺组织以 4% 多聚甲醛固定后分别按 Li 等<sup>[20]</sup>、Fleur 等<sup>[21]</sup>和 Wang 等<sup>[22]</sup>的方法制备 H&E 染色、Masson 染色、CD68 和 Ly6G 免疫组化切片, 并在显微镜下观察、拍照。

### 1.3.5 小鼠肺组织中细胞因子和氧化应激相关因子的测定

取适量肺组织, 分别以 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 IL-10 ELISA 检测试剂盒对小鼠肺组织中细胞因子的含量进行测定; 分别以超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶、一氧化氮和丙二醛检测试剂盒测定小鼠肺组织中氧化应激相关因子的含量。

### 1.3.6 肺组织 RT-PCR 分析

取适量肺组织, 按照 RNA 提取试剂盒提出 RNA, 以 iScript cDNA Synthesis 试剂盒进行逆转录, 参照 iTaq Universal SYBR Green Supermix 试剂盒进行血红素加氧酶-1 (Heme oxygenase-1, HO-1) 和醌氧化还原酶-1 (NADPH quinoneoxidoreductase-1, NQO-1) 的荧光定量 PCR 实验, 所得数据采用 2- $\Delta\Delta$ Ct 法计算其相对 mRNA 的水平 (以 GAPDH 为内参)。引物购买于生工生物工程股份有限公司, 序列为: GAPDH 正向: 5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3', 反向: 5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3'; HO-1 正向: 5'-CTGACCCATGACACCAAGGAC-3', 反向: 5'-AAAGCCCTACAGCAACTGTGCG-3'; NQO1 正向: 5'-GGCAGAAGAGCACTGATCGTA-3', 反向: 5'-TGATGGGATTGAAGTTCATGGC-3'。

### 1.3.7 肺组织 Western blot 实验

取适量肺组织, 对肺组织内的全蛋白进行提取, 对所提蛋白进行 Western blot 实验<sup>[23]</sup>, 分别分析肺组织内 p65、p-p65、I $\kappa$ B、p-I $\kappa$ B、Nrf2 等蛋白的表达水平。用 Image Quant LAS 4000 mini 荧光成像系统进行成像并拍照保存, 拍照结果用 Image J 软件 (以  $\beta$ -actin 作为内参) 进行灰度值分析。

## 1.4 数据处理

所有实验数据均使用 SPSS 26.0 软件进行统计分析, 结果以 Mean $\pm$ SD 表示, 运用 One-Way ANOVA 检验方法分析各组之间的显著性差异, 不同字母表示组与组之间具有显著性差异 ( $p < 0.05$ ), 根据统计的结果, 用 Origin 9.0 软件绘制图表。

## 2 结果与分析

### 2.1 BUP 的活性成分溶出率

表 1 芥菜疙瘩普通粉 (BOP) 和超微粉 (BUP) 活性成分溶出率比较

Table 1 Comparison of the dissolution rate of active ingredients in BOP and BUP

活性成分/(mg/g)	BOP	BUP
可溶性膳食纤维	0.05 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.22 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
不可溶性膳食纤维	0.39 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.24 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
多酚	0.13 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.36 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>
黄酮	0.46 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.56 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>
硫苷	1.70 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	2.32 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>
异硫氰酸酯	0.20 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.35 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>

注: 不同字母表示组与组之间具有显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

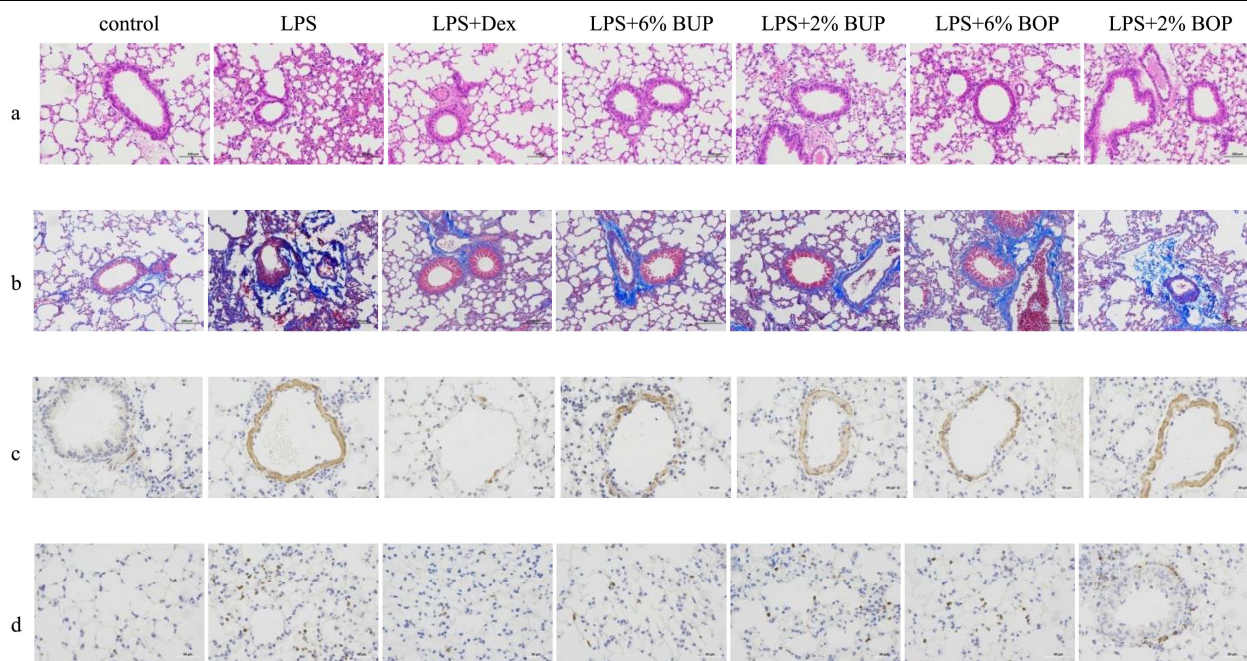


图1 小鼠肺组织 H&E 染色 (a) 和 Masson 染色 (b)、巨噬细胞 CD68 (c) 和中性粒细胞 Ly6G (d) 免疫组化

Fig.1 H&E (a) and Masson staining (b), as well as immunohistochemical analysis of Macrophage CD68 (c) and neutrophil Ly6G (d) in

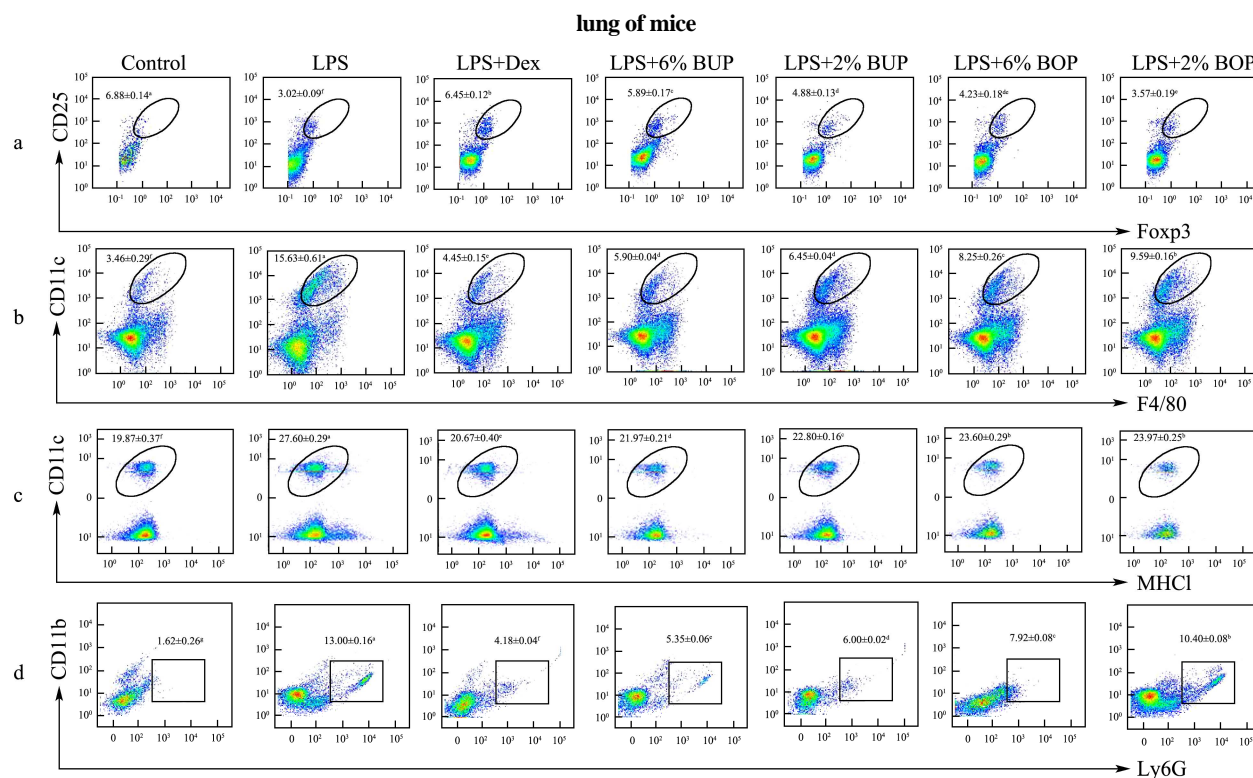


图2 小鼠 BALF 中调节性 T 细胞 (a)、巨噬细胞 (b)、树突状细胞 (c) 和中性粒细胞 (d) 的比例变化

Fig.2 The proportion of regulatory T cells (a), macrophage cells (b), dendritic cells (c) and neutrophils (d) in BALF of mice

注: 数据后上标的不同字母表示组与组之间具有显著性差异 ( $p < 0.05$ )。下图同。

BUP 的粒径只有 BOP 的 21%，两种粉体的活性成分溶出率测定 (表 1) 表明，BUP 中可溶性膳食纤维、多酚、黄酮以及其特有的硫苷和异硫氰酸酯的溶出率均高于 BOP，表明超微粉碎可使芥菜疙瘩中的活性成分更加容易释放出来。

## 2.2 BUP 对 COPD 小鼠一般情况及肺组织病理学的影响

小鼠经过 LPS 造模以后，与正常组相比，其体重

增长速度开始减缓,精神状态欠佳。造模结束后开始给药,与模型组相比,阳性组小鼠和芥菜疙瘩粉体组小鼠体重增长速度开始恢复,精神状态开始恢复;并且 BUP 组小鼠的体重恢复速度比 BOP 组小鼠更快。解剖小鼠后对小鼠肺组织进行肺系数计算可知,与正常组相比,模型组小鼠肺系数明显增大;与模型组相比,阳性药和芥菜疙瘩粉体组小鼠的小鼠肺系数降低。如图 1 所示, LPS 造模会导致 COPD 小鼠肺组织发生炎性细胞浸润,肺泡壁和支气管增粗(图 1a)、肺组织纤维化(图 1b),同时也会导致小鼠肺组织支气管发生巨噬细胞浸润(图 1c)和肺泡壁中性粒细胞浸润(图 1d)。通过给小鼠日粮饲料添加 BUP 可以缓解小鼠的 COPD 症状,虽然其作用效果与阳性药地塞米松相比略有不足,但对肺组织的改善效果优于 BOP。

### 2.3 BUP 对 COPD 小鼠肺泡灌洗液免疫细胞

#### 比例的影响

小鼠 BALF 中炎性相关细胞 Treg、AM、DC 和 NE 的流式细胞分析表明,与正常组小鼠 BALF 中 Treg 细胞比例(6.88%)相比, LPS 造模导致小鼠 BALF 中的 Treg 细胞比例变少(3.02%),阳性药地塞米松明显改善其比例(6.45%),芥菜疙瘩粉也能提升 Treg 的比例,其中 BUP 的效果最优(5.89%) (图 2a)。同时,与正常组的 AM(3.43%)、DC(19.87%)和 NE(1.62%)的细胞比例相比,模型组小鼠 BALF 中的 AM、DC 和 NE 均显著提高,分别升高了 3.56、0.39 和 7.02 倍,而给药地塞米松和芥菜疙瘩粉体均能降低 COPD 小鼠 BALF 中 AM、DC 和 NE 细胞的比例,且 BUP 降低的比例优于 BOP(图 2b、2c、2d)。研究结果表明芥菜疙瘩能调节小鼠 BALF 中的细胞比例,进而改善 LPS 引起的 COPD。

### 2.4 BUP 对 COPD 小鼠肺组织炎症相关因子

#### 的影响

LPS 造成炎性细胞大量聚集,释放大量的炎性细胞因子参与肺的炎症损伤过程<sup>[24]</sup>。通过图 3a、3b 分析得知,与正常组的促炎因子 IL-1 $\beta$ (226.95 $\pm$ 4.48 pg/mg prot)和 IL-6(134.97 pg/mg prot)的水平相比,通过 LPS 诱导小鼠 COPD 以后,肺组织中 IL-1 $\beta$ 和 IL-6 的水平分别增高到 329.74 pg/mg prot 和 199.55 pg/mg prot,通过给药阳性药和芥菜疙瘩粉体具有抑制 IL-1 $\beta$ 和 IL-6 增多的趋势;同理,如图 3c 所示,与正常组抗炎因子 IL-10 的水平(219.48 pg/mg prot)相比,

COPD 模型小鼠肺组织中其水平明显降低(165.48 pg/mg prot),通过给予阳性药和芥菜疙瘩粉体均能增高 IL-10 的水平,从而改善 COPD 小鼠的炎症水平。

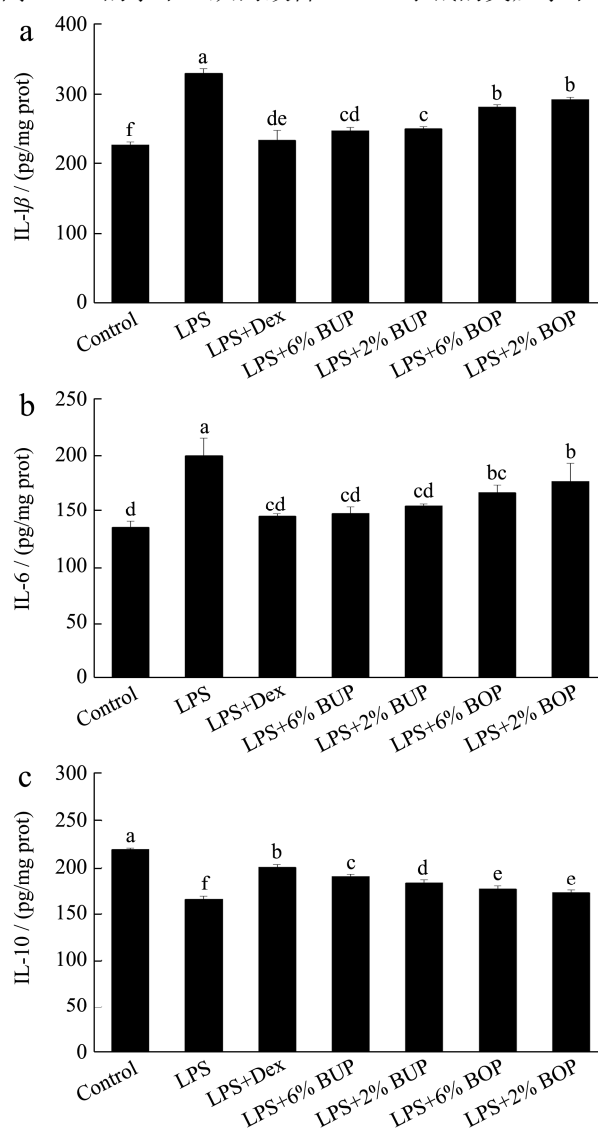


图 3 小鼠肺组织细胞因子 IL-1 $\beta$  (a)、IL-6 (b) 和 IL-10 (c) 的变化

Fig.3 Changes of IL-1 $\beta$  (a), IL-6 (b) and IL-10 (c) in lung of mice

### 2.5 BUP 对 COPD 小鼠肺组织炎症信号通路

#### 的影响

NF- $\kappa$ B 信号通路是目前已知最主要的调节炎症的通路之一,主要参与调控机体内细胞因子的产生和细胞的存活,在调节致病菌感染的免疫应答中起关键作用<sup>[25]</sup>。如图 4 所示,通过对小鼠肺脏的炎症通路蛋白进行 western blotting 分析,结果表明,与对照组相比, LPS 诱导小鼠肺脏 NF- $\kappa$ B 通路的激活,其肺组织内的 p-p65(p-NF- $\kappa$ B)和 p-I $\kappa$ B 的表达增加,表明 NF- $\kappa$ B-p65



可能向核内转移促进炎症因子的表达，从而诱导炎症的发生；而 BUP 能抑制 COPD 小鼠肺组织内 p65 和 IκB 的磷酸化，从而改善 COPD 小鼠的炎症，同时可以看出 BUP 在改善 COPD 小鼠炎症信号通路的效果优于 BOP。

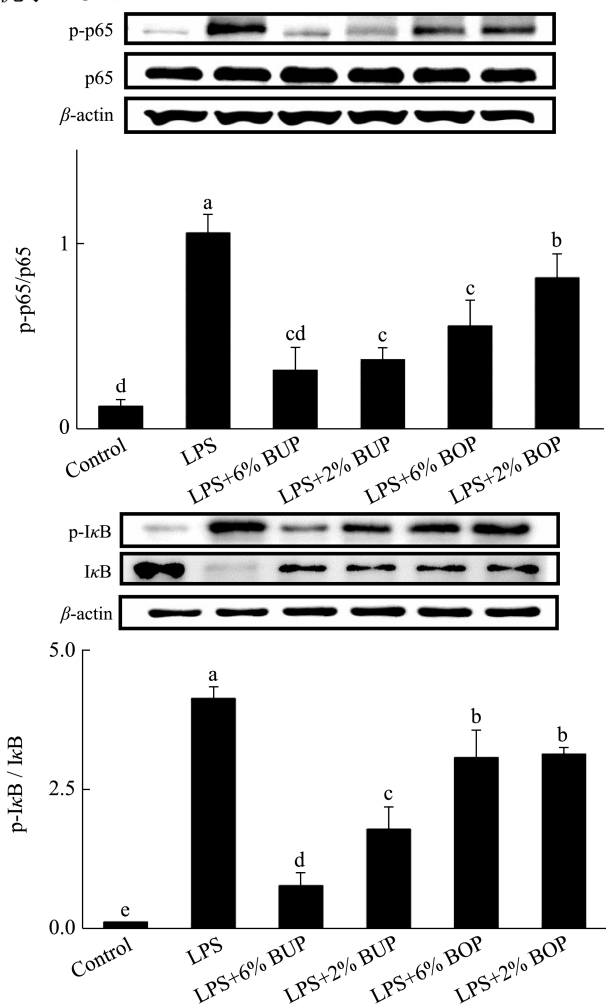


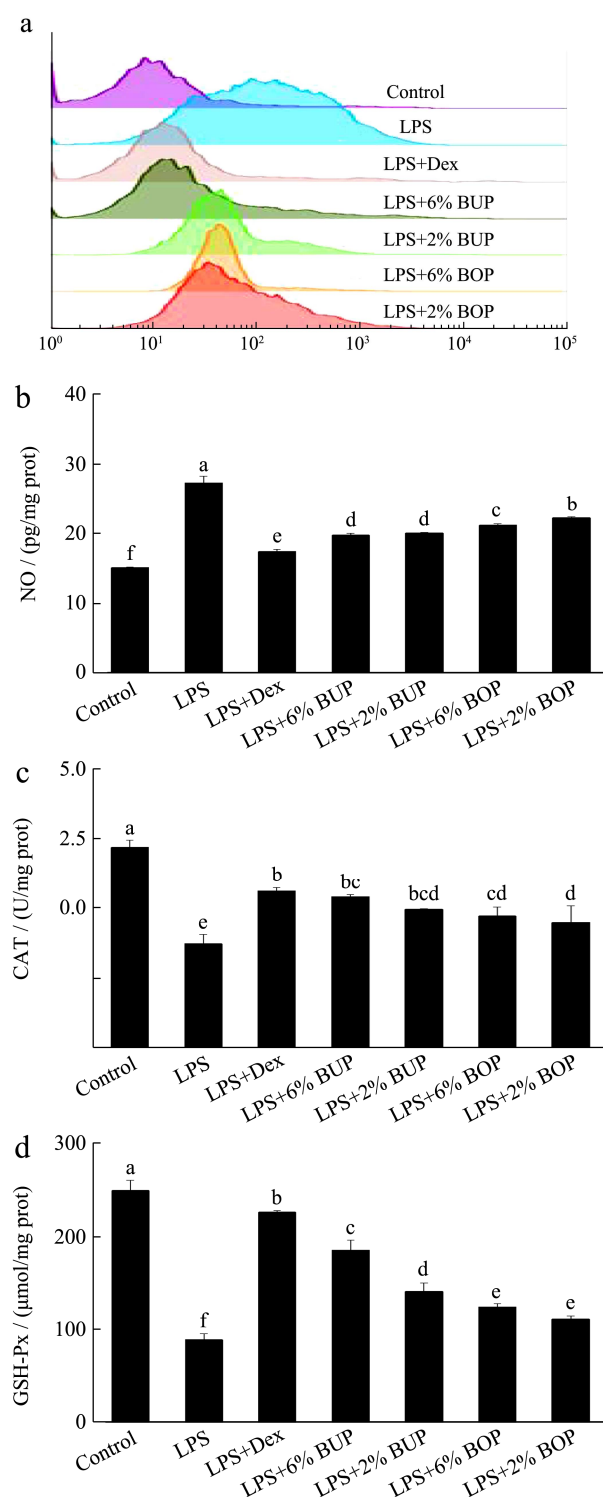
图4 小鼠肺组织炎症通路相关蛋白的变化

Fig.4 Changes of inflammatory pathway related proteins in lung of mice

## 2.6 BUP 对 COPD 小鼠氧化应激相关因子和抗氧化酶系统的影响

越来越多的证据证明，活化的细胞体内耗氧量会增加，从而导致 ROS 的过量产生，因此维持机体 ROS 的稳态至关重要<sup>[26]</sup>。从图 5 可以看出，正常小鼠经 LPS 诱导 COPD 后，其肺泡灌洗液活性氧平衡被破坏(5a)，肺组织内 NO 含量增加(5b，由 15.14 pg/mg prot 增加至 27.41 pg/mg prot)，CAT (5c)，GSH-Px (5d) 和 SOD (5e) 表达下降(分别由 3.62 U/mg prot、251.43 μmol/mg prot、91.00 U/mg prot 下降至 1.88 U/mg prot、

90.36 μmol/mg prot、10.72 U/mg prot)，促使氧自由基过量产生对机体有伤害的物质 MDA (5f，含量增加了 152.71%)，表明 LPS 破坏了 COPD 小鼠细胞膜，致使肺组织发生损伤。通过给予地塞米松和芥菜疙瘩粉体后能够降低 COPD 小鼠体内的 NO 和 MDA，升高 CAT、GSH-Px 和 SOD 的水平，进而平衡氧化应激过程。



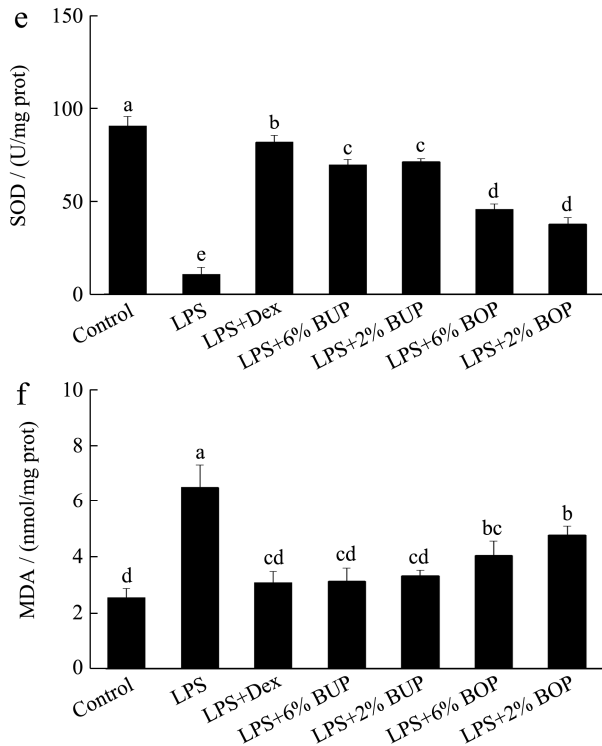


图5 小鼠BALF中ROS (a) 以及肺组织中NO (b)、CAT (c)、GSH-Px (d)、SOD (e)、MDA (f) 的变化

Fig.5 Changes of ROS in BALF (a), and changes of NO (b), CAT (c), GSH-Px (d), SOD (e) and MDA (f) in lung of mice

2.7 BUP对COPD小鼠抗氧化通路的影响

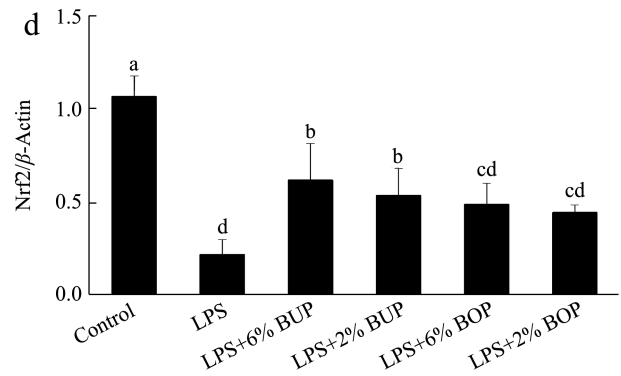
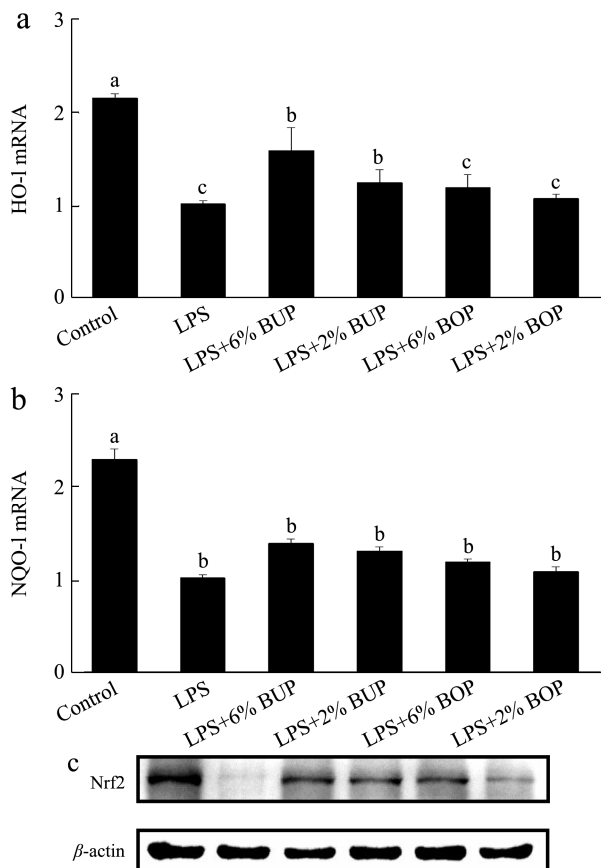


图6 小鼠肺组织中HO-1 mRNA (a)、NQO-1 mRNA (b) 和抗氧化通路蛋白Nrf2 (c、d) 的变化

Fig.6 Changes of HO-1 mRNA (a), NQO-1 mRNA (b) and antioxidant pathway protein Nrf2 (c, d) in lung of mice

注: 不同字母表示组与组之间具有显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

如图6所示, LPS造模会导致COPD小鼠肺组织内的HO-1 mRNA (6a)、NQO-1 mRNA (6b)表达下降, 说明机体内的解毒酶表达不足。Nrf2被认为是一种调节抗氧化能力的转录因子, Nrf2信号通路的激活是细胞防御氧化应激的主要机制<sup>[27]</sup>。通过对小鼠饲喂芥菜疙瘩粉体, 能够增加Nrf2蛋白水平的表达(6c、6d), Nrf2被转运到细胞核从而可能上调大量抗氧化酶(CAT、GSH-Px和SOD等)和异种生物解毒基因(HO-1 mRNA和NQO-1 mRNA等)的表达, 进而改善小鼠的COPD。

3 结论

本研究以芥菜疙瘩制备BUP, 并与BOP对比, 研究BUP活性成分浸出率的变化和其对COPD小鼠的改善作用及机制。相较于BOP, BUP具有更高的活性成分浸出率, 且BUP能够通过抗炎和抗氧化通路调节COPD小鼠的免疫细胞比例、细胞因子和氧化应激相关因子的释放, 改善COPD小鼠的肺气肿和肺纤维化, 从而改善COPD小鼠的肺炎, 且其效果优于BOP。综上所述, BUP活性成分溶出率高且能够改善LPS诱导的COPD小鼠, 该结果为芥菜疙瘩的精深加工利用和功能食品的开发研究提供了新的理论依据。

参考文献

[1] Kim H Y, Yokozawa T, Choe J. Mustard leaf suppresses nitric oxide synthesis by mouse macrophages [J]. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, 2005, 51(3): 200-203  
 [2] Singh M, Kumar D, Yusuf M A, et al. Effects of wild-type and  $\alpha$ -tocopherol-enriched transgenic *Brassica juncea* on the components of xenobiotic metabolism, antioxidant status, and oxidative stress in the liver of mice [J]. Transgenic Research,

- 2013, 22(4): 813-822
- [3] Kwak Y, Lee J, Ju J. Anti-canceractivities of *Brassica juncea* leaves *in vitro* [J]. Excli Journal, 2016, 15(1): 699-710
- [4] Thirumalai T, Therasa S V, Elumala E. K, et al. Hypoglycemic effect of *Brassica juncea* (seeds) on streptozotocin induced diabetic male albino rat [J]. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2011, 1(4): 323-325
- [5] 中国卫生年鉴编辑委员会.2020 中国健康卫生统计年鉴 [M].人民卫生出版社,2020:55-57  
Editorial Board of China Health Yearbook. China Health Statistical Yearbook 2020 [M]. People's Health Publishing House, 2020: 55-57
- [6] Chen Z, Zu Y, Zhao X, et al. Effect of superfine grinding on physicochemical and antioxidant properties of pomegranate peel [J]. International Journal of Food Science &Technology, 2016, 51(1): 212-221
- [7] 祖元刚,钟晨,赵修华,等.石榴皮超微粉制备工艺优化及体内抗氧化研究[J].中草药,2015,46(10):1454-1459  
ZU Yuangang, ZHONG Chen, ZHAO Xiuhua, et al. Optimization of processing technology and study on antioxidant activity *in vivo* of superfine powder of granati pericarpium [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2015, 46(10): 1454-1459
- [8] Kim D H, Song S B, Kang W S, et al. Superfine saengshik improves liver protecting effect compared with finersaengshik in an animal model [J]. Journal of Food Science, 2009, 74(2): 59-64
- [9] Zhu Y, Dong Y, Qian X, et al. Effect of superfine grinding on antidiabetic activity of bitter melon powder [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2012, 13(11): 14203-14218
- [10] Zhao X Y, Ao Q, Yang L W, et al. Application of superfine pulverization technology in biomaterial industry [J]. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2009, 40(3): 337-343
- [11] 唐明明.水芹的漂烫、超微粉碎及具有降血糖活性的固体饮料的工艺研究[D].合肥:合肥工业大学,2019  
TANG Mingming. Study on blanching, superfine grinding of water dropwort and processing technology of solid beverage with hypoglycemic activity [D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2019
- [12] Doorn H V, Van D, Holst G V. Large scale determination of glucosinolates in Brussels sprouts samples after degradation of endogenous glucose [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1999, 47(3): 1029-1033
- [13] 方海仙,梅文泉,杨东顺,等.紫外分光光度法快速测定山葵中异硫氰酸酯的研究[J].中国调味品,2016,41(10):109-111  
FANG Haixian, MEI Wenquan, YANG Dongshun, et al. Study on rapid determination of isothiocyanates in *Wasabia japonica* mastum by ultraviolet spectrometry [J]. China Condiment, 2016, 41(10): 109-111
- [14] Janbazacyabar H, Bergenhenegouwen V J, Verheijden K A T, et al. Non-digestible oligosaccharides partially prevent the development of LPS-induced lung emphysema in mice [J]. Pharma Nutrition, 2019, 10(C): 100163-100168
- [15] Liu R, Wang P, Wu C, et al. Therapeutic effects of *Hedyotisdiffusa willd* in a COPD mouse model challenged with LPS and smoke [J]. Experimental & Therapeutic Medicine, 2018, 15(4): 3385-3391
- [16] Lei S S, Li B, Chen Y H, et al. *Dendrobii officinalis*, a traditional Chinese edible and officinal plant, accelerates liver recovery by regulating the gut-liver axis in nafld mice [J]. Journal of Functional Foods, 2019, 61: 103458-103462
- [17] Wang Z, Fang K, Wang G, et al. Protective effect of amygdalin on epithelial-mesenchymal transformation in experimental chronic obstructive pulmonary disease mice [J]. Phytotherapy Research, 2019, 33(3): 808-817
- [18] Zhao L, Huang S, Mei S, et al. Pharmacological activation of estrogen receptor beta augments innate immunity to suppress cancer metastasis [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, 115(16): E3673-E3681
- [19] Kobayashi E H, Suzuki T, Funayama R, et al. Nrf2 suppresses macrophage inflammatory response by blocking proinflammatory cytokine transcription [J]. Nature Communications, 2016, 7(2): 11624-11640
- [20] Li Y F, Yu Y. Effect of ligustrazine on pulmonary fibrosis caused by hyperoxia in neonatal rats [J]. Journal of Applied Clinical Pediatrics, 2009, 42(3): 46-53
- [21] Fleur L L, Boura V F, Alexeyenko A, et al. Expression of scavenger receptor marco defines a targetable tumor-associated macrophage subset in non-small cell lung cancer [J]. International Journal of Cancer, 2018, 143(7): 1741-1752
- [22] Wang X L, Li T, Li J H, et al. The effects of resveratrol on inflammation and oxidative stress in a rat model of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Molecules, 2019, 22(9): 1529-1542

(下转第 184 页)