

# 辣木籽蛋白酶解物对小鼠肠道黏膜炎的改善作用

杨晓丽<sup>1,2</sup>, 李丽<sup>3</sup>, 杨静娟<sup>3</sup>, 田洋<sup>1,2\*</sup>, 白忠彬<sup>2,3\*</sup>

(1. 云南农业大学食品科学技术学院, 云南昆明 650201) (2. 国家辣木加工技术研发专业中心, 云南昆明 650201) (3. 云南农业大学动物医学院, 云南昆明 650201)

**摘要:** 探讨辣木籽蛋白酶解物 (*Moringa oleifera* Seed Protease Hydrolysate, MSPH) 对小鼠肠道黏膜炎的改善作用。提取辣木籽蛋白并进行酶解, 冷冻干燥得到 MSPH; 随机将雄性 BALB/c 小鼠分为空白对照 (Con) 组、模型 (Mod) 组和 MSPH 组 (800 mg/kg·BW), 每组 6 只, 腹腔注射 5-FU 诱导小鼠肠道黏膜炎, MSPH 灌胃干预。每天记录小鼠体质量; 通过 HE 染色观察肠道组织形态学并计算绒毛高度/隐窝深度; 酶联免疫法测定小鼠血清 (INF- $\gamma$ 、SIgA、ROS、G-CSF、ET、D-LA) 和小肠组织 (IL-1 $\beta$ 、IL-6、MDA、MPO、TNF- $\alpha$ ) 含量变化; 实时荧光定量聚合酶链式反应检测小肠组织 *ZO-1* 和 *Occludin* mRNA 表达量。与 Mod 组相比, MSPH 组小鼠在实验后期体质量显著提高 ( $P=0.001$ ), 脾脏和胸腺指数分别增加 16.22% 和 34.69%, 肠绒毛高度/隐窝深度增加 25.88%, 血清中 INF- $\gamma$ 、ROS、G-CSF、ET、D-LA 含量分别降低 16.85%、17.50%、14.22%、8.28%、9.27%, SIgA 含量升高 23.07%, 小肠组织中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、MDA、MPO、TNF- $\alpha$  含量分别降低 9.72%、11.23%、9.74%、7.29%、5.17%, 肠道组织 *ZO-1* 和 *Occludin* mRNA 表达量增加 121.64% 和 29.35%。因此, MSPH 可以通过减轻炎症和氧化应激及降低肠道通透性改善 5-FU 诱导的小鼠肠道黏膜炎。

**关键词:** 辣木籽蛋白酶解物; 5-氟尿嘧啶; 肠道黏膜炎; 缓解改善

文章编号: 1673-9078(2024)03-1-8

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.3.0448

## Ameliorating Effects of *Moringa oleifera* Seed Protein Hydrolysate on Intestinal Mucositis in Mice

YANG Xiaoli<sup>1,2</sup>, LI Li<sup>3</sup>, YANG Jingjuan<sup>3</sup>, TIAN Yang<sup>1,2\*</sup>, BAI Zhongbin<sup>2,3\*</sup>

(1. College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

(2. National Research and Development Professional Center for Moringa Oleifera Processing Technology, Kunming 650201, China) (3. College of Veterinary Medicine, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

**Abstract:** The ameliorating effects of *Moringa oleifera* seed protein hydrolysate (MSPH) on intestinal mucositis in mice were investigated. *Moringa oleifera* seed protein was extracted, enzymolized, and freeze-dried to obtain MSPH. Male

引文格式:

杨晓丽, 李丽, 杨静娟, 等. 辣木籽蛋白酶解物对小鼠肠道黏膜炎的改善作用[J]. 现代食品科技, 2024, 40(3): 1-8.

YANG Xiaoli, LI Li, YANG Jingjuan, et al. Ameliorating effects of *Moringa oleifera* seed protein hydrolysate on intestinal mucositis in mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(3): 1-8.

收稿日期: 2023-04-13

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31960508); 国家木薯产业技术体系“辣木产品加工岗位”(CARS-11-YNTY); 云南绿色食品国际合作研究中心项目(省科技厅)(2019ZG00905); 云南省重大科技专项计划(202002AA100005)

作者简介: 杨晓丽(1997-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 营养与食品安全, E-mail: 18314390309@163.com

通讯作者: 田洋(1982-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 功能食品, E-mail: tianyang1208@163.com; 共同通讯作者: 白忠彬(1969-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 功能食品, E-mail: baizhongbin69@163.com

BALB/c mice were randomly divided into the blank control (Con) group, the model (Mod) group, and the MSPH treatment group with six mice in each group. 5-fluorouracil (5-FU) was intraperitoneally injected to induce intestinal mucositis in mice, and MSPH (800 mg/kg·BW) was administered orally for intervention. The weights of the mice were recorded daily. The intestinal histopathology was observed using HE staining, and the villus height/crypt depth was calculated. The concentrations of INF- $\gamma$ , SIgA, ROS, G-CSF, ET, and D-LA in serum and those of IL-1 $\beta$ , IL-6, MDA, MPO, and TNF- $\alpha$  in the small intestine were determined using enzyme-linked immunosorbent assay. The mRNA expressions of *ZO-1* and *occludin* in the small intestine were determined using real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction. Compared to the mice in the Mod group, the body masses of those in the MSPH group significantly increased ( $P=0.001$ ) in the later stage of the experiment, while their spleen and thymus indices increased by 16.22% and 34.69%, respectively. The villus height/crypt depth increased by 25.88% in the MSPH group. The INF- $\gamma$ , ROS, G-CSF, ET, and D-LA contents decreased by 16.85%, 17.50%, 14.22%, 8.28%, and 9.27%, respectively, while the SIgA content increased by 23.07% in the MSPH group compared to that in the Mod group. The contents of IL-1 $\beta$ , IL-6, MDA, MPO, and TNF- $\alpha$  decreased by 9.72%, 11.23%, 9.74%, 7.29%, and 5.17%, respectively, while mRNA expressions of *ZO-1* and *occludin* in intestinal tissues increased by 121.64% and 29.35%, respectively, in the MSPH group. Thus, 5-FU-induced intestinal mucositis in mice can be ameliorated by MSPH intervention owing to reduction in inflammation, oxidative stress and intestinal permeability.

**Key words:** *Moringa oleifera* seed protein hydrolysate; 5-fluorouracil; intestinal mucositis; mitigation and improvement

辣木 (*Moringa oleifera* Lam.) 为辣木科辣木属多年生热带落叶乔木<sup>[1]</sup>, 世界上约共有 14 个品种。印度是辣木的原产地也是最大生产国, 随后便在赤道各热带地区广泛种植, 现在我国的长江以南省份如云南及“两广”也成为了辣木的种植地, 其中云南芒市最早在 20 世纪初从缅甸引入辣木的种植, 现在还遗留着“百年辣木古树”。辣木籽为三棱状, 可食用部分为去除灰褐色外壳后的白色内核, 约占整个辣木籽质量的 70%~75%<sup>[2]</sup>。辣木籽富含油脂、维生素、蛋白质、微量元素等营养物质, 其中粗脂肪 40.12%、蛋白质 37.8%、总糖 9.75%<sup>[3]</sup>; 辣木籽是辣木中蛋白质含量最高的部位<sup>[4]</sup>, 开发价值较高。研究发现, 辣木籽蛋白具有抑菌<sup>[5]</sup>、抗氧化<sup>[6]</sup>、抗癌<sup>[7]</sup>和心脏保护<sup>[8]</sup>等生物活性。经过酶解之后, MSPH 与辣木籽蛋白氨基酸含量并无明显变化<sup>[9-10]</sup>, 且同样具有相似的生物活性。

在化疗期间引起的消化道反应造成肠道溃疡性病变称为化疗性肠道黏膜炎 (Chemotherapy-induced Intestinal Mucositis, CIM), 其主要症状是恶心、呕吐、腹痛和粘液便, 有时还会有便血, 病情严重的时候, 还会导致水、碱、营养失调<sup>[11]</sup>。5-氟尿嘧啶 (5-Fluorouracil, 5-FU) 是一种光谱抗癌药物, 被广泛用于结直肠癌、胃癌、乳腺癌、卵巢癌; 据统计, 五到八成的患者在接受 5-FU 化疗后都伴随肠黏膜

炎的发生, 并且还在不断上升<sup>[12]</sup>。肠道黏膜屏障主要由物理、免疫、化学和生物屏障四部分组成, 是防止肠道中有害物质和病原体侵入体内的关键屏障, 起到维持体内稳态的作用。当肠黏膜屏障功能受到损害时, 将会引起不良症状: 如肠黏膜的收缩、绒毛的缩短、渗透性的增大、肠上皮的损伤、肠道菌群的失调、肠运动的障碍等<sup>[13]</sup>。

在进行化疗时, 严重的肠道黏膜炎可能会导致治疗终止, 这不仅对病情的治疗具有阻碍作用, 也给病人和家庭造成负担。因此在化疗过程中对肠道黏膜炎的预防和治疗是非常具有意义的。由于文献查找过程中未发现辣木籽蛋白及其酶解物的有关组分对肠黏膜炎的影响研究, 故本研究拟从 MSPH 比辣木籽蛋白更容易被小肠吸收这一点入手, 结合相关 MSPH 已报道的生物活性, 构建 5-FU 诱导的小鼠肠道黏膜炎模型, 旨在探讨 MSPH 对小鼠肠道黏膜炎的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 实验动物

实验动物为无特定病原体 (Specific Pathogen Free, SPF) 级 BALB/c 小鼠, 6 周龄, 体质量

20~25 g, 购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 质量合格证号: 430727220102269341, 许可证号 SCXK(湘)2019-0004。所有程序均严格按照中国实验动物使用和护理法规以及云南农业大学实验动物研究所制定的指南进行, 并经云南农业大学动物保护和利用委员会批准。

### 1.1.2 主要试剂

辣木籽, 云南天佑科技开发有限公司; 分析纯氯化钠, 天津市风船化学试剂科技有限公司; 木瓜蛋白酶, 北京索莱宝科技有限公司; TaKaRaMiniBEST Universal RNA Extraction Kit、PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time)、TB Green® Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus) 试剂盒, 宝日生物技术有限公司;  $\gamma$ -干扰素 (INF- $\gamma$ )、分泌型免疫球蛋白 A (SIgA)、活性氧 (ROS)、粒细胞集落刺激因子 (G-CSF)、内毒素 (ET)、D-乳酸 (D-LA)、白介素 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、白介素 6 (IL-6)、丙二醛 (MDA)、髓过氧化物酶 (MPO)、 $\alpha$  肿瘤坏死因子 (TNF- $\alpha$ ) 试剂盒, 江苏酶免实业有限公司。

### 1.1.3 主要仪器

HH-11-2 型恒温水浴锅, 常州诺基仪器有限公司; VL-7F 型落地式低速离心机离心机, 长沙市百诺克离心机仪器有限公司; R139 型病理切片机, 上海徠卡仪器有限公司; CX43 型光学生物显微镜, 上海光学仪器厂; Fluor Chem E 多功能酶标仪, 美国 Molecular Devices; Roche Light Cycler 480 II 型实时荧光定量 PCR 仪, 美国罗氏公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 辣木籽蛋白酶解物的提取

参照王雪峰<sup>[14]</sup>、魏光强等<sup>[15]</sup>, 根据实际条件进行调整。

辣木籽人工去壳→粉碎过筛→超临界 CO<sub>2</sub> 脱脂→料液比 1:64 加入 0.30 mol/L 氯化钠溶液→30 °C 水浴搅拌 90 min→过滤→复提两次→滤液调 pH 值为 11.00→静置离心→沉淀用水溶解后 3 500 U 的透析袋透析 36 h→冷冻干燥→料液比 1:40 加水匀浆 5 min→加入木瓜蛋白酶在 55 °C 下酶解 4.50 h→灭酶→冷却离心→100~500 U 的透析袋中透析 24 h→冷冻干燥

注: 本文提取的 MSPH 为总粗提取, 进行 SDS-PAGE 分子量测定后确定 MSPH 分子量主要集中在 23 ku 以及 3.3~14 ku 之间。

### 1.2.2 动物分组与建模

实验动物适应性饲养一周后随机将小鼠分为空白对照 (Con) 组、模型 (Mod) 组和 MSPH 组 (800 mg/kg·BW), 每组 6 只小鼠。腹腔注射 5-FU 的剂量为 30 mg/kg·BW。实验动物分组与建模如表 1 所示, 实验过程中, 每天记录小鼠体质量变化, 观察小鼠状态。

表 1 实验分组及周期

Table 1 Experimental grouping and period

组别	1~4 d		5~8 d
Con	灌胃生理盐水	注射生理盐水	灌胃生理盐水
Mod	灌胃生理盐水	1 h 后腹腔注射	灌胃生理盐水
MSPH	灌胃 MSPH	5-FU	灌胃 MSPH

### 1.2.3 HE 染色观察小鼠肠道组织形态

实验结束后, 以 CO<sub>2</sub> 使小鼠窒息后脱颈处理, 剖开小鼠取小肠 1 cm 大小 4~5 段固定于多聚甲醛液体中, 24 h 后可用于苏木精-伊红染色 (HE 染色) 操作。

水洗→梯度脱水→二甲苯透明→石蜡包埋→切片→梯度酒精水化→HE 染色→拍照

小鼠组织形态在电子显微镜 100 倍下采集图片并进行分析。

### 1.2.4 血清中 INF- $\gamma$ 、SIgA、ROS、G-CSF、ET、D-LA 因子的测定

小鼠处死腹腔静脉取血, 4 °C 静置 4 h 后离心取上清, 试剂盒检测血清 INF- $\gamma$ 、SIgA、ROS、G-CSF、ET、D-LA 含量水平变化。

### 1.2.5 肠道组织中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、MDA、MPO、TNF- $\alpha$ 因子的测定

小鼠处死解剖取小肠组织保存于 -80 °C。从冰箱取出小肠组织, 按照试剂盒说明书操作, 测定组织中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、MDA、MPO、TNF- $\alpha$  含量水平变化。

### 1.2.6 RT-qPCR 法测定肠道组织紧密连接蛋白 mRNA 的表达量

取出冷冻保存于 -80 °C 冰箱中的小鼠小肠提取其 RNA, 定点分光光度计测定 RNA 浓度, 利用 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒将 RNA 反转录为 cDNA。根据实时荧光定量聚合酶链式反应 (RT-qPCR) 的方法, 利用 TB Green® Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus) 试剂盒进行实时荧光定量, 过程如表 2 所示, 采用引物序列如表 3 所示。

表 2 RT-qPCR反应过程

反应步骤	反应环节	循环数	反应温度/°C	反应时间/s	升降温速率/(°C/s)
Stage 1	预变性	1	95	30	4.40
Stage 2	PCR	40	95	5	4.40
			60	30	2.20
			95		0.11
Stage 3	溶解曲线	1	95	5	4.40
Stage 4	降温	1	65	60	2.20
			95		0.11

表 3 实验所用引物

引物名称	引物序列 (5' → 3')
ZO-1-F	CGGAAGTATGACCATCGCCTAC
ZO-1-R	CTTCGGGATGTTGTCTGGAGTC
Occludin-F	TTGAAAGTCCACCTCCTACAGA
Occludin-R	CCGATAAAAAGAGTACGCTGG
Rpl19-F	GCTTGCCTCTAGTGCCTCC
Rpl19-R	TTGGCGATTCATTGGTCTCA

### 1.2.7 数据分析

实验数据分析采用 Excel 2016, 实验数据作图采用 GraphPad Prism 9.0.0 软件分析, 两组间分析采用独立  $t$  检验。  $P < 0.05$  表示两组间差异具有统计学意义, “\*”表示与 Con 组比较  $P < 0.05$ , “\*\*”表示与 Con 组比较  $P < 0.01$ , “\*\*\*”表示与 Con 组比较  $P < 0.001$ ; “#”表示与 Mod 组比较  $P < 0.05$ , “##”表示与 Mod 组比较  $P < 0.01$ , “###”表示与 Mod 组比较  $P < 0.001$ 。

## 2 结果与讨论

### 2.1 小鼠体质量及脏器指数变化

肠道黏膜炎发生最显著特征是肠道溃疡, 外在表现为体质量减轻、恶心、腹泻等<sup>[16]</sup>。如图 1 所示, 实验过程中, 腹腔注射 5-FU 后, 小鼠表现出体质量下降、精神状态萎靡的现象。而 MSPH 灌胃小鼠后, 能让小鼠体质量明显回升, 这说明 MSPH 能够缓解由 5-FU 导致的肠道黏膜炎的恶性作用。此外 Mod 组的体质量在停止 5-FU 注射之后也呈现恢复趋势, 这是由于肠道内的上皮细胞更新时间较快<sup>[17]</sup>, 即使肠道受损, 更新速度减慢, 但肠道免疫

系统也具有一定的自我的修复的能力。

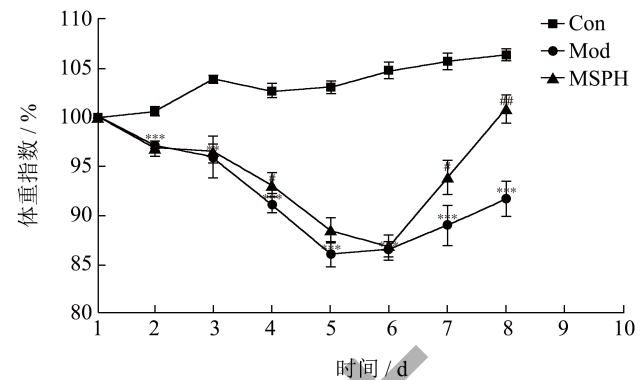
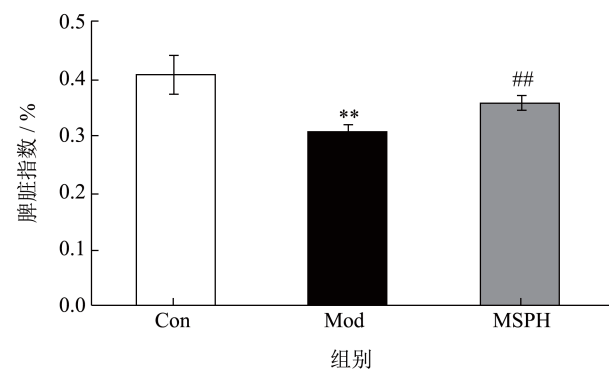
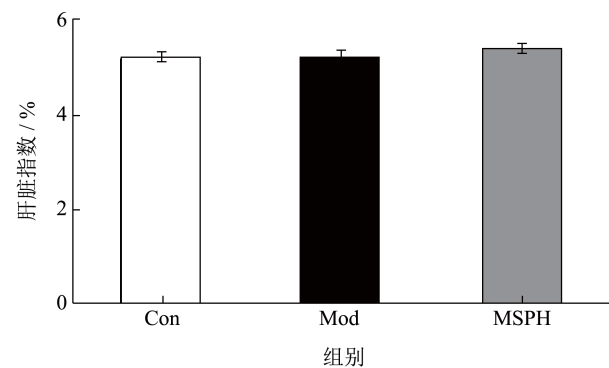


图 1 小鼠体质量变化

Fig.1 Changes of body mass in mice

老鼠处死后称取脏器质量, 计算脏器指数, 由图 2 呈现数据结果, 整个实验中, 小鼠肝脏和肾脏指数没有发生显著性变化, 而 Mod 组脾脏和胸腺指数相比于 Con 组分别降低了 24.61% ( $P < 0.01$ ) 和 35.97% ( $P < 0.01$ ), MSPH 组的脾脏和胸腺指数比 Mod 组增加了 16.22% ( $P < 0.01$ ) 和 34.69% ( $P < 0.01$ )。这说明 5-FU 在一定程度上使外周免疫器官发生萎缩, 但对其他器官影响不显著, 但 MSPH 具有恢复脾脏和胸腺萎缩的效果。与张青等<sup>[18]</sup>的研究中, 5-FU 会导致胸腺和脾脏质量显著下降结果一致。这可能是因为肠黏膜炎发生关联的一系列免疫反应, 造成免疫器官受损。





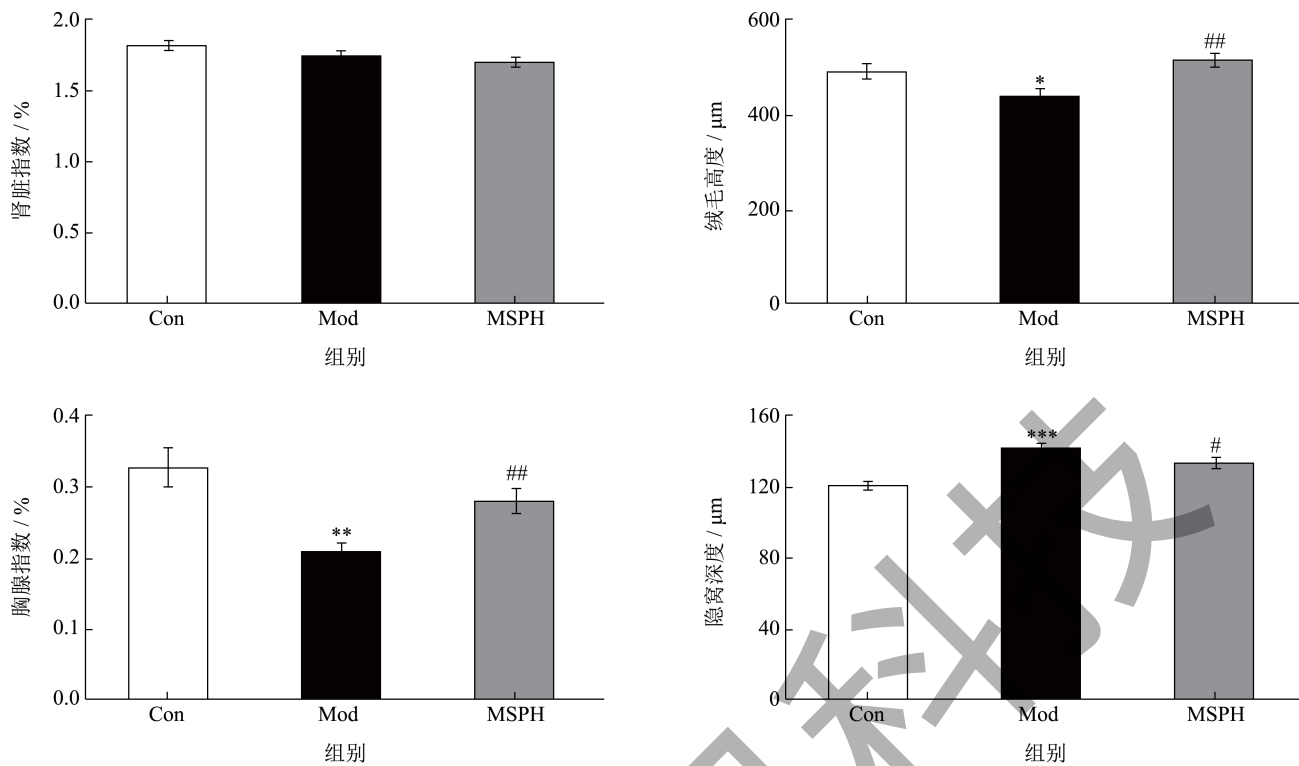


图 2 小鼠脏器指数变化

Fig.2 Changes of organ index in mouse

## 2.2 小鼠肠道组织形态学变化

肠道是人体最重要的消化、吸收器官，其功能状态与肠道绒毛的长短、隐窝的深浅等密切相关。绒毛变短，隐窝深度增加，绒毛长度 / 隐窝深度的比例降低，可作为肠道粘膜损害的指标<sup>[19,20]</sup>。如图 3 所示，Con 组小肠绒毛形态规则无萎缩；Mod 组小肠绒毛萎缩严重并出现绒毛形态缺失等情况，隐窝深度增加；MSPH 组小肠绒毛形态能够得到很好的恢复，排列整齐圆润饱满，隐窝深度减小。进行统计学分析，结果如图 4 所示，Mod 组绒毛高度 / 隐窝深度比 Con 组低 24.75% ( $P < 0.001$ )，而 MSPH 组绒毛高度 / 隐窝深度比 Mod 组高 34.69% ( $P < 0.001$ )。表示 MSPH 能够显著恢复小鼠肠道绒毛形态损伤，改善因 5-FU 造成的肠道形态损伤。

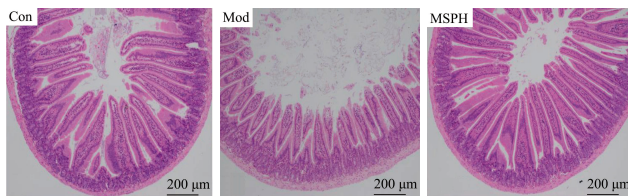


图 3 小肠组织 HE 染色形态学观察 (100 倍)

Fig.3 Morphological observation of small intestinal tissue stained by HE staining (100 $\times$ )

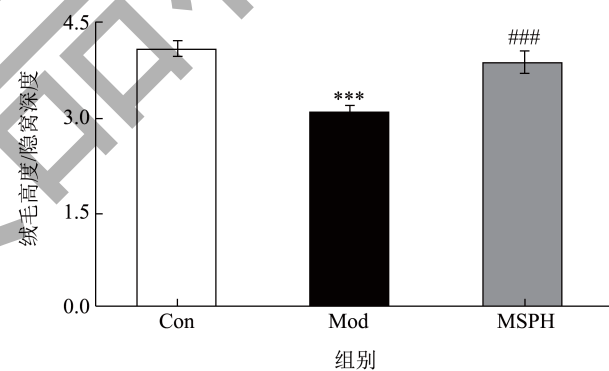


图 4 小肠组织形态学参数变化

Fig.4 Changes of histomorphologic parameters of small intestine

## 2.3 小鼠血清变化

SIgA 是机体局部黏膜抗感染免疫的主要抗体，由肠道固有层浆细胞和肠上皮细胞分泌组装，可作为防御病菌的“第一道防线”<sup>[21]</sup>。IFN- $\gamma$  是 Th1 型细胞因子，与促炎因子和免疫抗炎因子共同作用可调节免疫细胞功能，维护黏膜屏障<sup>[22]</sup>。当细胞受到细菌或病毒攻击时，会促发系列免疫反应，大量促炎因子（如 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8、IL-1 $\beta$  等）被释放，参与机体“战斗”<sup>[23,24]</sup>。图 5 展示了小鼠血清因子水平的变化情况：在 Mod 组中检测到 INF- $\gamma$ 、ROS、G-CSF 的含量，分别比 Con 组高 9.34% ( $P < 0.01$ )、11.06% ( $P < 0.05$ )、13.16% ( $P < 0.05$ )，而 SIgA 含量降低

了 7.58% ( $P < 0.05$ )；但是 MSPH 组中  $\text{INF-}\gamma$ 、ROS、G-CSF 的含量分别比 Mod 组低了 16.85% ( $P < 0.001$ )、17.50% ( $P < 0.001$ )、14.22% ( $P < 0.05$ )，SigA 含量增加了 23.07% ( $P < 0.001$ )。当肠粘膜生物屏障破坏，细菌便可进入血液循环，血清 D-LA、ET 含量升高<sup>[25]</sup>。Mod 组中 ET 和 D-LA 含量升高了 11.09% ( $P < 0.01$ ) 和 9.27% ( $P < 0.05$ )，MSPH 使其含量降低了 8.28% ( $P < 0.05$ ) 和 9.27% ( $P < 0.01$ )。

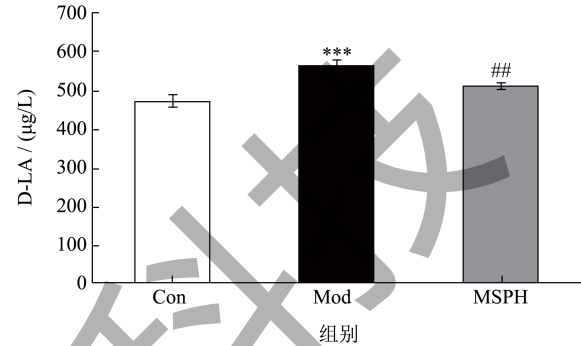
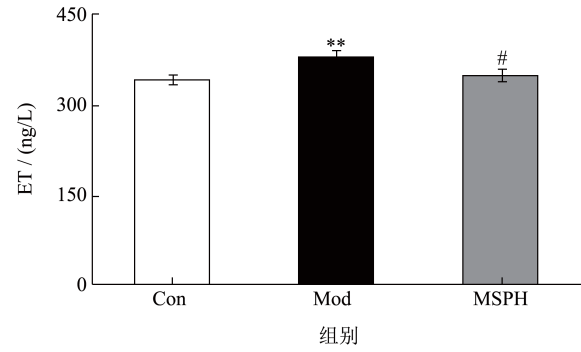
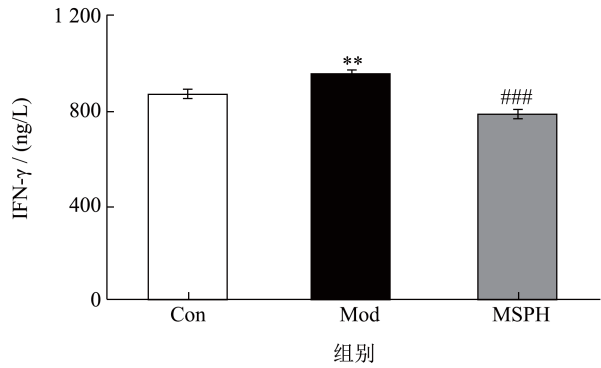
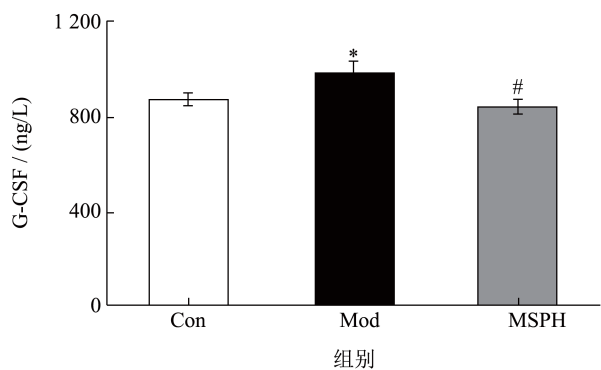
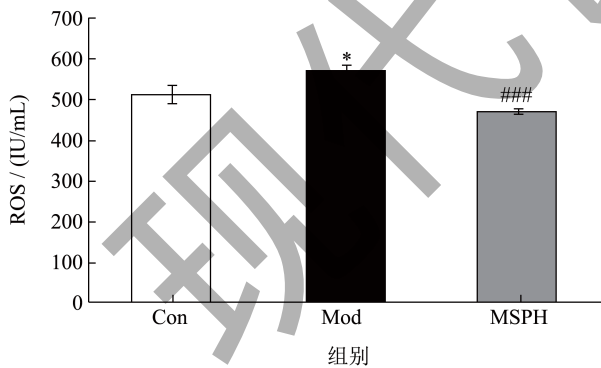
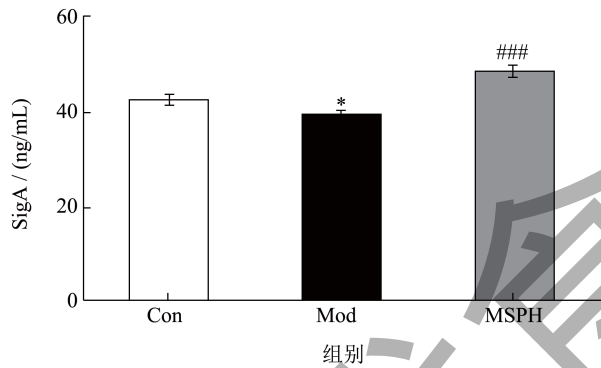


图 5 血清因子检测变化

Fig.5 Changes in serum factor detection



#### 2.4 小鼠肠道组织变化

核因子  $\kappa\text{B}$  (Nuclear Factor kappa-B,  $\text{NF-}\kappa\text{B}$ ) 通路是重要的免疫与炎症相关通路，直接参与  $\text{IL-1}\beta$ 、 $\text{TNF-}\alpha$  的表达。中性粒细胞是机体抵御病毒侵袭的首要屏障，它具有天然的吞噬功能。G-CSF 可以促进中性粒细胞集落的形成，延长成熟中性粒细胞的存活时间，活化中性粒细胞，而当外界刺激时可导致中性粒细胞聚集，释放 MPO，因此肠道组织中 MPO 表达可间接反映肠道炎症的严重程度。体内氧自由基的增加，是大多数炎症发生的根本。当机体长期暴露于一系列有毒和破坏性环境中，氧化应激加重，大量释放活性氧代谢产物，使机体产生疾病或组织损伤<sup>[26]</sup>。图 6 展示了小鼠肠道组织中相关因子的变化情况：在 Mod 组中  $\text{IL-1}\beta$ 、 $\text{IL-6}$ 、MDA、MPO、 $\text{TNF-}\alpha$  含量分别增加了 8.52% ( $P < 0.05$ )、8.80% ( $P < 0.05$ )、10.49% ( $P < 0.05$ )、9.79% ( $P < 0.01$ )、10.90% ( $P < 0.001$ )，在 Con 组中  $\text{IL-1}\beta$ 、 $\text{IL-6}$ 、MDA、MPO、 $\text{TNF-}\alpha$  含量分别降低了 9.72% ( $P < 0.05$ )、11.23% ( $P < 0.01$ )、9.74% ( $P < 0.01$ )、7.29% ( $P < 0.05$ )、5.17% ( $P < 0.05$ )。与辣木油通过降低促炎因子及髓过氧化物酶水平，使肠道炎症改善结果一致<sup>[27]</sup>。本实验通过测定血清中及肠道组织中氧化相关、免疫相关因子，发现 5-FU 引起肠道组织氧化应激，诱导炎症发生，导致肠道黏膜损伤。而 MSPH 可以减少氧化应激水平及炎症程度，起到对肠道黏膜修复和改善的作用。

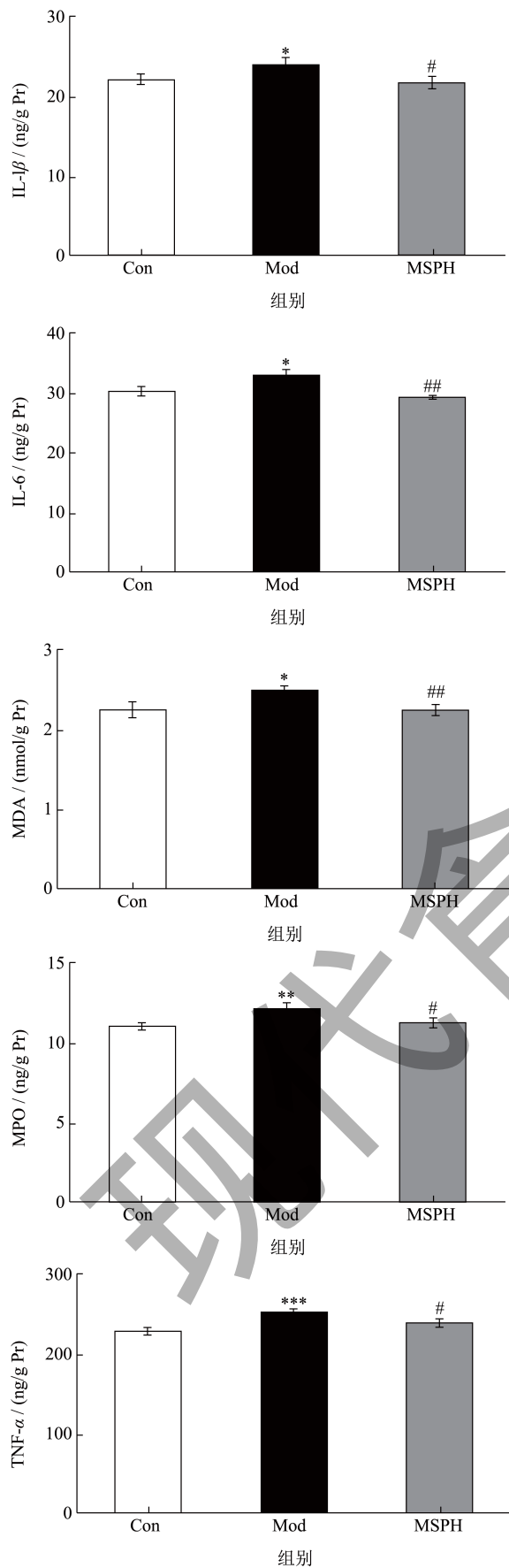


图 6 小肠组织因子检测变化

Fig.6 Changes in small intestinal tissue factor detection

### 2.5 小鼠肠道组织紧密连接蛋白ZO-1和Occludin mRNA表达量的变化

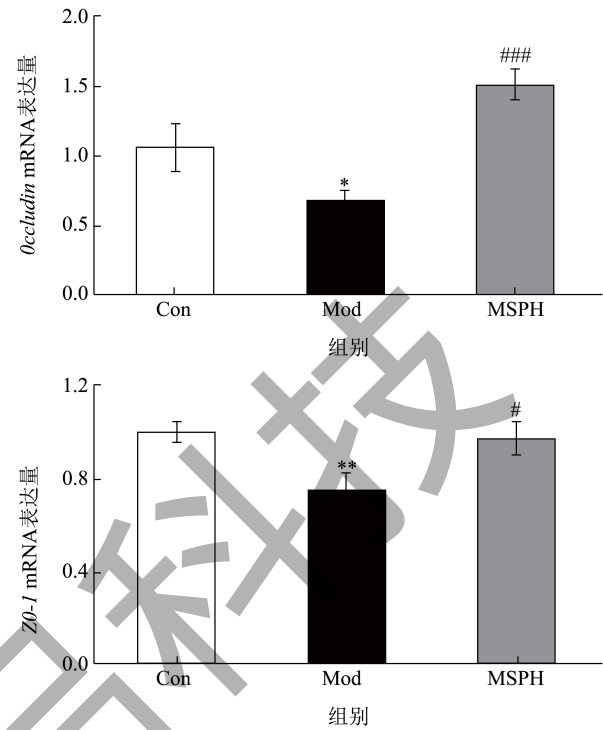


图 7 小肠组织 Occludin 和 ZO-1 mRNA 表达量变化

Fig.7 Changes of mRNA expression of Occludin and ZO-1 in small intestine

肠上皮的完整和紧密连接性是维持整个肠道微生态平衡的基础。肠上皮细胞表达闭锁小带蛋白 ZO-1、咬合蛋白 Occludin 等对大分子物质的阻隔起着至关重要的作用<sup>[28]</sup>。利用 RT-qPCR 检测小肠组织中肠道屏障代表性蛋白 Occludin 和 ZO-1 mRNA 表达量情况变化, 结果如图 7 所示, Mod 组中 Occludin 和 ZO-1 mRNA 表达量分别比 Con 组减少 35.81% ( $P < 0.05$ ) 和 25.39% ( $P < 0.01$ ), MSPH 组相较于 Mod 组增加了 121.64% ( $P < 0.001$ ) 和 29.35% ( $P < 0.05$ ) 的 Occludin 和 ZO-1 mRNA 表达量。5-FU 作为广泛抗癌化疗药物, 产生的副作用最常见的是腹泻, 使肠道通透性增加, 加大了大分子有害物质攻击机体的机会。在吴嘉振<sup>[29]</sup>的研究中, 紧密连接蛋白 mRNA 表达量和蛋白的表达是一致的。因此在本实验研究中 MSPH 增加了 ZO-1 和 Occludin mRNA 的表达量, 具有修复紧密连接蛋白受损的潜力。

### 3 结论

根据本实验结果分析, 得出 MSPH 可以通过修复肠绒毛和隐窝损伤、减少氧化应激、减轻炎症、

降低肠道通透性来缓解 5-FU 诱导的肠道黏膜炎。但无法得知具体作用机理及作用分子, 需进行更深层次研究。这为辣木籽的深加工利用提供实验依据。

### 参考文献

- [1] 许敏,赵三军,宋晖,等.辣木的研究进展[J].食品科学,2016,37(23):291-301.
- [2] ALESSANDRO LEONE, ALBERTO SPADA, ALBERTO BATTEZZATI, et al. *Moringa oleifera* seeds and oil: Characteristics and uses for human health [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(12): 2141.
- [3] 樊建麟,邵金良,叶艳萍,等.辣木籽营养成分含量测定[J].中国食物与营养,2016,22(5):69-72.
- [4] LAKSHMIPRIYA GOPALAKRISHNAN, KRUTHI DORIYA, DEVARAI SANTHOSH KUMAR. *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application [J]. Food Science and Human Wellness, 2016, 5(2): 49-56.
- [5] JOAO X.S NETO, MIRELLA L PEREIRA, JOSE T.A OLIVEIRA, et al. A chitin-binding protein purified from *Moringa oleifera* seeds presents anticandidal activity by increasing cell membrane permeability and reactive oxygen species production [J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 980.
- [6] TAIWO AYODELE ADERINOLA, TAYO NATHANIEL FAGBEMI, VICTOR NDIGWE ENUJIUGHA, et al. Amino acid composition and antioxidant properties of *Moringa oleifera* seed protein isolate and enzymatic hydrolysates [J]. Heliyon, 2018, 4(10): e00877.
- [7] M C CORIOLANO, J S BRITO, G R S FERREIRA, et al. Antibacterial lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL) has differential action on growth, membrane permeability and protease secretory ability of Gram-positive and Gram-negative pathogens [J]. South African Journal of Botany, 2020, 129: 198-205.
- [8] NANCY GISELA GONZÁLEZ GARZA, JANICE AZUCENA CHUCKOYOC, JORGE ARIEL TORRES CASTILLO, et al. Biofunctional properties of bioactive peptide fractions from protein isolates of moringa seed (*Moringa oleifera*) [J]. Journal of Food Science and Technology, 2017, 54: 4268-4276.
- [9] TOLULOPE OGUNYEMI, ESTHERIKHUORIA, OLORUNFEMI OLAOFE, et al. Amino acid composition and proximate analysis of *Moringa oleifera* seed grown in south-western Nigeria [J]. Technical Transactions of Materials Science and Technology Society of Nigeria, 2019, 2, 88-95.
- [10] ROTIMI E. ALUKO. Antihypertensive peptides from food proteins [J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2015, 6: 235-262.
- [11] 贺江虹,黄建国,王勇强,等.复方谷氨酰胺预防化疗相关性腹泻的临床观察[J].肿瘤防治研究,2006(2):120.
- [12] NAHLA HAMOUDA, TATSUSHI SANO, YOSUKE OIKAWA, et al. Apoptosis, dysbiosis and expression of inflammatory cytokines are sequential events in the development of 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in mice [J]. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 2017, 121(3): 159-168.
- [13] NOHA YOUSSEF, CODY S SHEIK, LEE R KRUMHOLZ, et al. Comparison of species richness estimates obtained using nearly complete fragments and simulated pyrosequencing-generated fragments in 16S rRNA gene-based environmental surveys [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(16): 5227-5236.
- [14] 王雪峰,陈越,赵琼,等.响应面法优化酶法制备辣木籽多肽工艺及其抑菌活性分析[J].现代食品科技,2019,35(1): 173-181,214.
- [15] 魏光强,赵娜,范尧珠,等.响应面法优化辣木籽降糖肽的酶法制备工艺及其体外活性评价[J].食品工业科技,2021,42(24):136-143.
- [16] 冯剑,王毓国,窦永起.辐射损伤破坏肠黏膜机械屏障机制相关研究及进展[J].武警医学,2019,30(9):811-815.
- [17] ADAM S. DARWICH, UMAIR ASLAM, DARREN W. Ashcroft, et al. Meta-analysis of the turnover of intestinal epithelia in preclinical animal species and humans [J]. Drug Metabolism and Disposition, 2014, 42(12): 2016-2022.
- [18] 张青,高远,程泉杰,等.卡帕藻对5-氟尿嘧啶所致肠黏膜损伤的保护作用[J].现代食品科技,2021,37(6):20-27.
- [19] TERUO MURAKAMI. Absorption sites of orally administered drugs in the small intestine [J]. Expert Opinion on Drug Discovery, 2017, 12(12): 1219-1232.
- [20] 周卫东,项磊,卢汉琪,等.党参多糖改善5-氟尿嘧啶诱导小肠黏膜炎的实验研究[J].辽宁中医杂志,2016,43(7): 1495-1498,2.
- [21] ANDREW J. MACPHERSON, LUKASHUNZIKER, KATHY MCCOY, et al. IgA responses in the intestinal mucosa against pathogenic and non-pathogenic microorganisms [J]. Microbes and Infection, 2001, 3(12): 1021-1035.
- [22] CHRISTOPH A T ERAN E. NF- $\kappa$ B regulation by NLRs: T cells join the club [J]. Immunity, 2015, 42(4): 595-597.
- [23] K M SAKTHIVEL, C GURUVAYOORAPPAN. Amentoflavone inhibits iNOS, COX-2 expression and modulates cytokine profile, NF- $\kappa$ B signal transduction pathways in rats with ulcerative colitis [J]. International Immunopharmacology, 2013, 17(3): 907-916.
- [24] AMANDA L RINKENBAUGH, ALBERT S BALDWIN. The NF- $\kappa$ B pathway and cancer stem cells [J]. Cells, 2016, 5(2): 16.
- [25] 王志华,蔡金芳,汪伟,等.丙氨酰-谷氨酰胺在重度颅脑损伤治疗中的应用价值研究[J].中国全科医学,2011, 14(3):277-279.
- [26] L KRUIDENIER, H W VERSPAGET. Oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease-radicals or ridiculous? [J]. Alimentary Pharmacology & Therapeutics, 2002, 16(12): 1997-2015.
- [27] 曾榛,莫敏敏,黄妍,等.辣木油脂对多糖诱导小鼠肠道炎症的改善作用[J].现代食品科技,2020,36(11):17-23.
- [28] 沈雁,王章流,郑华君,等.盐酸小檗碱对溃疡性结肠炎小鼠结肠黏膜机械屏障的保护作用[J].中国现代应用药学,2018,35(12):1765-1770.
- [29] 吴嘉振.广藿香醇治疗5-氟尿嘧啶所致肠黏膜炎的作用机制研究[D].广州:广州中医药大学,2019.