

基于 Caco-2 单层细胞模型的兜唇石斛多糖的转运机制研究

王琴¹, 梁嘉熹¹, 吴晖², 刘祎帆¹

(1. 仲恺农业工程学院轻工食品学院, 广东广州 510230)

(2. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 以兜唇石斛多糖(DAP)为研究对象, 借助小肠上皮细胞 Caco-2 (the human colon carcinoma cell line) 单层细胞模型, 体外模拟 DAP 在小肠中的转运情况。在前期得到的 DAP 为基础, 探究 DAP 的粘度对其转运情况的影响, 同时建立 Caco-2 细胞的模型, 采用 MTT 法测定 DAP 对 Caco-2 细胞存活率的影响, 并考察了 DAP 在小肠的吸收转运的特征。实验表明: DAP 的粘度与其在 Caco-2 细胞中的转运能力呈负相关趋势, 粘度越大, 转运速率越慢; 在测定 TEER 值及荧光素钠渗透情况, 观察 Caco-2 细胞的形态, 建立了良好的细胞模型; DAP 的存在下, Caco-2 细胞的存活率为 91.8% 以上, 因此 DAP 对 Caco-2 细胞存活无影响; DAP 在 Caco-2 不同单边层的转移率分别为 $0.35\% \pm 0.02\%$ 和 $0.32\% \pm 0.02\%$, 表观渗透率分别为 $(0.42 \pm 0.02) \times 10^{-6}$ cm/s 和 $(0.19 \pm 0.18) \times 10^{-6}$ cm/s, 表明 DAP 在小肠中不易被吸收。本研究所得结果为进一步研究 DAP 在肠道中的吸收机制奠定基础。

关键词: 兜唇石斛; 多糖; 小肠吸收

文章编号: 1673-9078(2019)05-1-6

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.5.001

The Transport Mechanism of Polysaccharides from *Dendrobium aphyllum* Studied Using a Caco-2 Cell Monolayer Model

WANG Qin¹, LIANG Jia-xi¹, WU Hui², LIU Hui-fan¹

(1. College of Light Industry and Food Sciences, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510230, China)(2. College of Food Sciences and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: *Dendrobium aphyllum* polysaccharides (DAP) was used as the study object, and the monolayer cell model of the human intestinal epithelial (Caco-2) cells (the human colon carcinoma cell line) was used to simulate *in vitro* the transport/translocation of DAP in the small intestine. Based on the DAP obtained at the early stage, the influence of the viscosity of DAP on its transport was investigated, and the Caco-2 cell model was established at the same time. The effect of DAP on the survival rate of Caco-2 cells was determined by the MTT method, and the absorption and transport of DAP in the small intestine were investigated. The results showed that the viscosity of DAP was negatively correlated with its transport capacity in the Caco-2 cells. The higher the viscosity, the lower the transport rate was. The TEER value and the permeation of sodium luciferin were measured, while the morphology of the Caco-2 cells was observed. The obtained results indicated that a suitable cell model was established. In the presence of DAP, the survival rate of the Caco-2 cells was greater than 91.8%, thus, DAP had no effect on the survival of the Caco-2 cells. The transfer rates of DAP in different Caco-2 monolayers were $0.35\% \pm 0.02\%$ and $0.32\% \pm 0.02\%$ respectively, with the apparent permeability being $(0.42 \pm 0.02) \times 10^{-6}$ cm/s and $(0.19 \pm 0.18) \times 10^{-6}$ cm/s, indicating that DAP was not easily absorbed in the small intestine. The findings obtained in this study lay a foundation for further study on the absorption mechanism of DAP in the intestinal tract.

Key words: *Dendrobium aphyllum*; polysaccharides; intestinal absorption

收稿日期: 2018-12-05

基金项目: 广东省科技计划项目(2016A040402045); 广州市科技计划项目(201704030084)

作者简介: 王琴(1973-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 农产品贮藏与加工

通讯作者: 刘祎帆(1990-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物加工

兜唇石斛 [*Dendrobium aphyllum* (Roxb.) C.E.C. Fisch] 为兰科中石斛属 (*Dendrobium*) 的普通品种^[1], 广泛分布在西南和华南地区^[2]。兜唇石斛的主要化学成分有菲类、联苲类、多糖类^[3]。其中, 多糖 (polysacchride) 是一种由 10 个以上单糖分子聚合而成的水溶性天然高分子化合物^[4], 具有抗肿瘤、降低

油脂、延缓衰老、抗氧化、抗病毒、抗菌和抗辐射等功效^[5]。此外,多糖具有调节肠道菌群的功效^[6]。

前期研究表明,以水提醇沉法从兜唇石斛中提取的粗多糖 cDAP 得率为 38.15%±0.20%,通过分离纯化得到纯 DAP。经结构鉴定,其分子量为 471.586 ku,由甘露糖与葡萄糖以摩尔比 2.48:1 组成,由(1→4)糖苷键链接而成的 β-D-葡萄糖甘露聚糖,在某些碳位存在一个通过氧连接的乙酰基团^[7]。

Caco-2 细胞系来源于人的直肠癌细胞,含有与小肠刷状缘上皮相关的酶系^[8],其结构和生理作用与人小肠上皮细胞相似。Caco-2 细胞模型与其他用来研究吸收的模型相比,具有重复性较好,模型稳定并且应用范围广等优点,成为研究药物吸收的一种快速筛选工具,可以研究药物分子穿过小肠黏膜的吸收、代谢、转运的情况^[9]。因此,Caco-2 细胞模型能较好地模拟人体小肠吸收药物的情况。

目前对于 DAP 在小肠内的作用机制尚未明确。研究指出,多糖可以作为发酵相关的有效底物,从小肠排出并在结肠内被肠道菌群利用^[10]。因此在探究 DAP 对肠道健康的影响之前,有必要探讨 DAP 在小肠中的实际吸收特性。较多研究者利用 Caco-2 细胞模型进行体外预测肠道化合物通透性和吸收^[11]。因此,本研究通过该有效模型确定 DAP 渗透率和转运情况的预测。从而为进一步探究 DAP 的作用机制提供理论基础,对 DAP 有效开发具有深远的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

1.1.1 材料

兜唇石斛来源于云南省西双版纳傣族自治州勐海县,由华南农业大学生命科学学院教授鉴定。兜唇石斛多糖(DAP)来源于之前的研究^[7]中,用水提醇沉法从兜唇石斛中提取的粗多糖 cDAP 得率为 38.15%±0.20%,使用 DEAE Sepharose 和 Sephadex-G200 Fast Flow 对其进行分离纯化得到一种多糖 DAP。荧光素钠:上海静融生物科技有限公司生产;0.25%胰蛋白酶、DMEM 培养基粉剂购自 Gibco 公司;牛血清购自浙江天杭生物科技有限公司;人结肠癌细胞株 Caco-2 购自广州莱德生物有限公司(广东);链霉素、青霉素来自美国 Gibco 公司;12 孔 Transwell 培养板(聚酯膜,孔径 0.4 μm,膜面积 1.12 cm²),美国康宁公司。其他试剂均为分析纯。

1.1.2 设备

CO₂ 培养箱(型号 311),Thermo 公司;倒置显

微镜(型号 XD-101),南京江南光电有限公司;酶标仪(型号 MULTISKAN MK3),Thermo 公司;液氮罐(型号 A101436),Thermo 公司;-80 °C 超低温冰箱(型号 DW-86L828),青岛海尔股份有限公司;-25 °C 冰柜(型号 FYL-138L),北京福意联电器公司;超净工作台(型号 SZX),上海跃欣实业有限公司;高压灭菌锅(型号 SS-325),上海博迅实业有限公司;低速离心机(型号 TDL-2B),上海安亭科学仪器厂;超纯水系统(型号 Academic A10),Millipore 公司;恒温振荡孵育器(TMC 型),美国 ABSON 公司;高速冷冻离心机(5424R),德国 Eppendorf 公司;Millicell ERS-2 电阻仪,美国 Millipore 公司;快速黏度计(DV2T),美国 Brookfield Engineering 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 DAP 黏度的测定

利用快速粘度计在 200 r/min,37 °C 的条件下分别测定 2.5 mg/mL 和 10 mg/mL DAP 的粘度,测定时间为 1 min。

1.2.2 Caco-2 细胞培养

Caco-2 细胞在 37 °C 水浴复苏后,在含葡萄糖 DMEM 培养基中培养。培养基含 10% 热灭活后的胎牛血清(FBS),链霉素 100 U/mL 和 100 U/mL 青霉素。随后放入细胞培养箱中培养,培养箱参数为 5% CO₂、37 °C、饱和湿度。

1.2.3 Caco-2 细胞的存活率测定

兜唇石斛多糖(DAP)样品配置成不同浓度 100、200、400、800、1000 μg/mL 与经过 24 h 培养后的 Caco-2 细胞(1×10⁶ 个/mL)继续培育 24 h。同等体积的培养基用作对照组。去除细胞上清后,采用 MTT 法测定细胞活力,计算如下。

细胞存活率(%)=(样本组 OD 值)/(对照组 OD 值)×100%

1.2.4 体外小肠 Caco-2 模型的建立

用 10% 胎牛血清的 DMEM 作为 Caco-2 细胞的培养液,于 37 °C,5% CO₂ 的培养箱中培养。细胞在瓶中长至 80%~90% 时,吸弃旧的培养液,加入 0.25% 胰蛋白酶(含 0.02% EDTA)溶液进行消化,用 DMEM 培养液制成细胞悬液,接种于 12 孔 Transwell 板的滤膜上。在滤膜的顶侧(apical side, AP)和基底侧(basolateral side, BL)分别加入细胞悬液 0.5 mL 和 DMEM 培养液 1.5 mL。24 h 后换培养液,前 7 d 隔天换液,随后每天换液,培养 21 d。

1.2.5 细胞形态观察

用倒置显微镜与 OPTPRO3000 微观图像采集和处

理软件来记录 Caco-2 单层膜细胞形态每天的变化情况。

1.2.6 跨上皮细胞电阻值的测定

用微孔 ERS-2 电阻器(Millipore, USA)测定细胞跨上皮电阻(transsepical resistance, TEER)以了解细胞单层完整性与紧密性动态形成过程。Caco-2 细胞单层 TEER 值的计算:

TEER 值($\Omega \cdot \text{cm}^2$)=(Caco-2 细胞电阻值-空白膜电阻值)×膜面积(cm^2)

1.2.7 荧光素钠渗透检查

荧光素钠标准溶液用 HBSS 配置成不同浓度(0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，在 492 nm 波长中测定吸光度，制作标准曲线。采用培育 21 d 后的 Caco-2 细胞 Transwell 平板评价荧光素钠的吸收率。去除培养基后，用 37 °C 的 HBSS 洗三次，随后在饱和湿度的培养箱中培育 30 min，将 4 g/L 荧光素钠 0.5 mL 添加到细胞的顶部(AP)，1.5 mL HBSS(37 °C)添加到基底外侧 Transwell 板(BL)。在饱和湿度的培养箱中培育 30、60、90、120、150、180、210 min，在 BL 处取 100 μL HBSS 培养基。

吸收率(%)=(BL 侧样品浓度)/(AP 侧原样品浓度)×100%

1.2.8 兜唇石斛多糖(DAP)吸收的测定

当 Caco-2 细胞层形成稳定时，吸去 AP 侧和 BL 侧的培养基，用 37 °C 的 HBSS 溶液缓冲洗 2 次。随后，分别添加 pH 6.0 的 HBSS(37 °C)到 AP 处和 pH 7.4 的 HBSS(37 °C)到 BL 处，在 37 °C 下培育 15 min。培育后，除去孔板中的 HBSS(37 °C)。按照图 1 所述方法添加样品。所有孔板在 37 °C 培养箱中培育，3 h 后收集所有样本溶液。样本采集前后，各组的 TEER 值均按 1.2.6 方法进行测定。

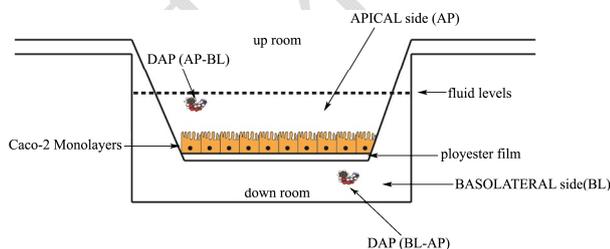


图 1 Caco-2 细胞 Transwell 培养模拟图

Fig.1 The culture system of Caco-2 Transwell

1.2.9 经 Caco-2 运输后 DAP 含量的评价

根据之前研究 DAP 的单糖组成及 GC-MS 分析^[7]，DAP 含甘露糖 71.3%，葡萄糖 28.7%。因此，选用甘露糖作为测定 Caco-2 单层运输后 DAP 含量的标记物。将各单边层收集得到的 DAP 样品液、HBSS(空白对照组)、甘露糖标准品经酸水解和衍生化后，利用 GC-TQ/

MS-MS 法分析，GC 色谱条件：进样量 1 μL ，色谱柱型号为 DB-170 色谱柱(30 mm×0.53 mm×0.25 μm)，采用的梯度洗脱方式为：100 °C 到 30 °C 保持流速为 10 °C/min，从 230 到 250 °C 保持 50 °C/min 持续 1 min。采用的电导检测器(FID)的温度为 230 °C，空气流速为 300 mL/min，氢气流速为 30 mL/min，氮气流速为 5 mL/min^[7]。

计算结果如下：

DAP 多糖浓度=(甘露糖浓度)/0.713

转移率(%)=(样品浓度)/(原样品浓度)×100%

其中：样品浓度为加入样品另一侧的浓度，原样品浓度为培育前的浓度。

计算待测物的表观渗透系数。

$P_{\text{APP}} = \text{转移量} / (\text{细胞膜面积} \times \text{样品初始浓度 mg/mL})$

1.2.10 数据分析

以上所有实验设 3 个平行，实验结果用平均值±标准差(mean±SD)的方式表示。采用美国 IBM 公司的 SPSS19.0 软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA)。

2 结果与讨论

2.1 DAP 黏度分析结果

由表 1 可知，当 DAP 浓度为 2.5 mg/mL 和 10 mg/mL 时，其对应的黏度分别为 4.65±0.01 cP 和 4.83±0.01 cP，表明 DAP 的黏度随着浓度升高而增大。多糖在消化器官中会以无序的螺旋形式存在，通过单个聚合物链形成一个缠结网络，水分在其中渗透，从而形成黏度。因此，增加浓度或分子量会增加黏度^[12]。研究指出，黏度会影响小肠吸收的情况^[13]，干扰小肠蠕动混合，消化道整体黏度升高，从而降低与内源酶和小肠壁接触的机会，影响养分的消化吸收，表现出抗营养作用^[14]。因此，兜唇石斛多糖的黏度升高，可能导致小肠中吸收能力下降。

表 1 DAP 的黏度

Table 1 The viscosity of DAP

浓度/(mg/mL)	黏度/cP
DAP-2.5	4.65±0.01
DAP-10	4.83±0.01

2.2 DAP 对 Caco-2 细胞增殖的影响

根据 MTT 测定结果(图 2-A)，细胞存活率在 100%±10%，在 DAP 作用下对 Caco-2 细胞正常生长干扰少。只在 100 和 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 存活率不足 100%，分别为 91.8%和 96.8%。研究指出，细胞存活率为 90%

以上时为非细胞毒性浓度^[15]。因此所有的浓度(100、200、400、800、1000 $\mu\text{g/mL}$)的 DAP 无对 Caco-2 细胞有毒性作用,表明 DAP 浓度低于 1000 $\mu\text{g/mL}$ 时可用于进一步分析。

2.3 Caco-2 细胞模型的建立的分析

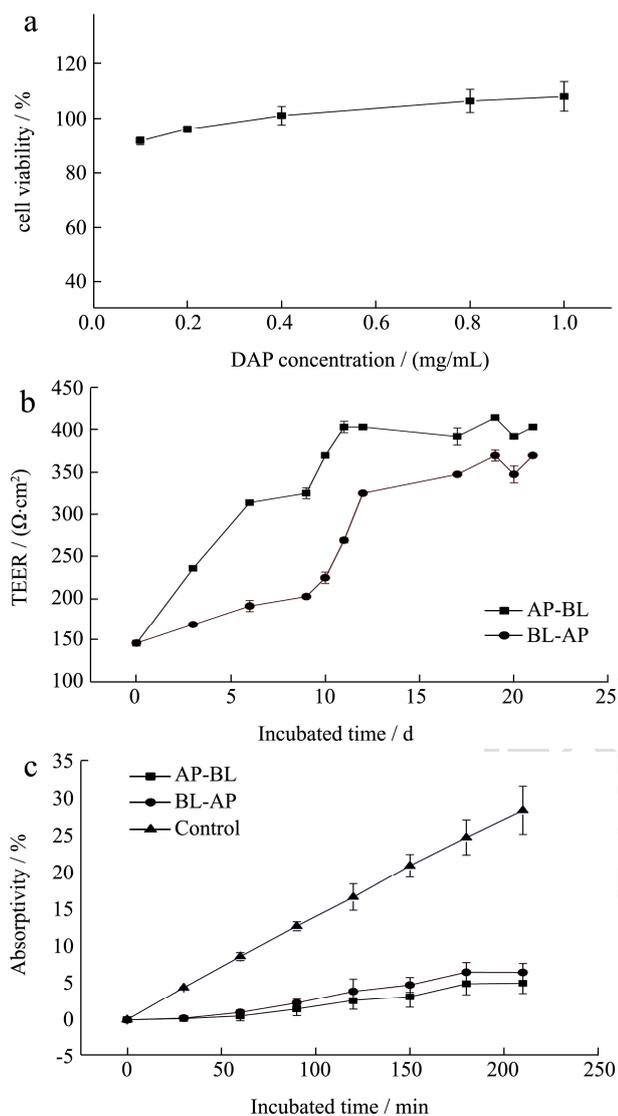


图 2 DAP 作用下 Caco-2 细胞存活情况 (a)、Caco-2 单层膜 TEER 值与培育时间的关系 (b)、荧光素钠浓度与培育时间的关系 (c)

Fig.2 Caco-2 cell survival upon DAP (a), the relationship between TEER value of Caco-2 monolayers and incubated time (b), and the relationship between fluorescein sodium concentration and incubated time (c)

由图 2b 可知, AP-BL 和 BL-AP 的 TEER 值在培养的前 10 d 和 12 d 分别呈稳定上升趋势,在接下来的培养日保持稳定。据研究指出, TEER 值的范围 200~1000 $\Omega \cdot \text{cm}^2$ 在表示 Caco-2 细胞紧密度良好, TEER 值越高,细胞层越紧密。Caco-2 细胞模型的 TEER 值的范围 300~400 $\Omega \cdot \text{cm}^2$, 证明此时 Caco-2 细

胞覆盖整个 Transwell 孔板并形成单层,符合实验要求。

荧光素钠具有较高的水溶性,能够在细胞间运输,是评价细胞单层膜完整性^[16]的重要指标之一^[17]。根据国际药物标准, 0~20%范围内的吸收率被认定为难吸收物质。在我们的研究中,样品与标准品荧光素钠浓度和时间的关系是 $y=0.052x+0.053(R^2=0.9983)$ 。图 2c 所示, AP-BL 和 BL-AP 的吸收率分别是 $4.95\% \pm 6.42\%$ 和 $1.42\% \pm 1.22\%$, 表明 Caco-2 细胞层紧密度良好,可以进行 DAP 的吸收特性实验。

利用显微镜技术观察 Caco-2 细胞单层膜构建过程中的细胞形态,记录图像见图 3。在培养的第 0 d, Caco-2 细胞在培养基中呈不规则分布,细胞分布较为松散。如箭头 a 所示, Caco-2 细胞间致密结构在第 1 d 形成,第 3 d 明显增加,而箭头“b”指出的 Caco-2 之间的空隙也减少了,细胞单层膜更加明显。同时,从第 9 d 到第 21 d, Caco-2 细胞单层膜越来越紧密,细胞之间的空隙大幅度减少。本研究中 Caco-2 细胞形态学的趋势表明 Caco-2 细胞单层膜模型的建立良好。

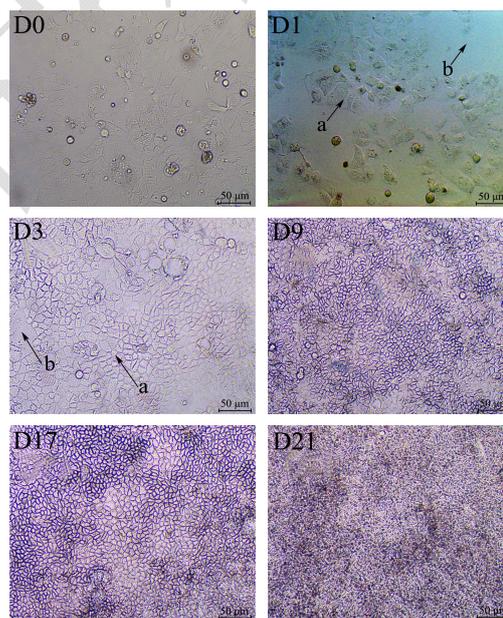


图 3 Caco-2 细胞模型在 0、1、3、9、17、21 d 培育情况的图像 (50 μm)

Fig.3 The captured microscopic images (50 μm) of Caco-2 cell model during the incubated days including the 0, 1, 3, 9, 17 and 21 day

2.4 DAP 在 Caco-2 小肠细胞转运分析

DAP 在 Caco-2 细胞单层膜模型上的转运率如表 2 所示。可以看到,尽管 AP-BL 的转移率略高于 BL-AP,证明吸收作用大于外排作用。Caco-2 细胞模型与体内吸收有着良好的相关性,吸收良好的药物的 $P_{app} > 1 \times$

10^{-6} cm/s^[18]。然而, AP-BL 和 BL-AP 的表观渗透系数都小于 1×10^{-6} cm/s。上文提到, 根据国家标准规定, 物质的吸收速率范围从 0~20%被认为是一种难吸收药物。通过此实验, DAP 在 Caco-2 细胞中较难吸收。

大分子物质可能通过胞饮途径在细胞膜表面的内吞作用向细胞内吞饮, 由胞转小囊泡进行转运, 最终由于胞外分泌作用在底端被释放出来。通过细胞旁路转运的营养物质, 其吸收速率可由细胞之间的紧密连接而调节^[19]。据报道, 食用碳水化合物的保护作用是通过受体介导的相互作用, 介导与微卷曲(M)的细胞, 因此增加了细胞因子的生产和增强抗感染, 或者被肠巨噬细胞转运, 然后运送到淋巴结, 脾和骨髓^[20]。因此, 对于 DAP 对机体的免疫调节作用, DAP 可能可以诱导 M 细胞的活性或被巨噬细胞摄取。增加小肠黏度水平会导致延缓胃排空、消化和分子吸收^[21], 因此黏度也可能一定程度上影响吸收率。此外, 还可能与分子量有关, 相对分子量与磷脂接近时, 分子穿过细

胞膜会受到能量上的限制。由于膜上的微孔孔径为 0.4~0.8 nm, 限制了能够通过膜孔的分子的大小。因此, 相对分子量较小的药物透过细胞膜的概率更大^[22]。根据我们之前的研究, 分子量为 471.586 ku, 分子量较大, 在体外消化系统中不易吸收。小肠吸收率还可能与亲脂性强弱有关, 分子量中心与亲水、疏水中心存在比较高的不平衡, 分子内存在较大的疏水区域。分子内只含有少量的氢键给体以及亲水-亲脂平衡比较低, 对 Caco-2 单细胞层渗透性高的分子必须具有合适的氢键给体和受体, 即疏水性在分子中占主导地位有利于小肠吸收^[23], 因此 DAP 的疏水性强弱值得探讨。虽然 DAP 的吸收率很低, 但仍有可能少量部分被吸收, 因此对血糖相关评价具有一定的研究意义。同时, DAP 可能作为肠道腔内未被吸收的大分子量碳水化合物来源, 可以被肠道菌群的发酵代谢^[24], 对调节结肠健康有较好的影响。

表 2 Caco-2 细胞单层膜上的转化率

Table 2 Conversion rate of caco-2 cells on monolayer membrane

Project	TEER/($\Omega \cdot \text{cm}^2$)		Concentration/(mg/mL)	Transfer Index/%	$P_{APP}/(\times 10^{-6} \text{ cm/s})$
	Before	After			
Control	145±2	142±5	ND	ND	-
AP-BL(UP)	403±5	399±7	0.749±0.029	0.35±0.02	0.42±0.02
AP-BL(Down)			0.018±0.001		
BL-AP(Up)	369±4	371±3	0.002±0.011	0.32±0.02	0.19±0.18
BL-AP(Down)			1.492±0.275		

3 结论

本研究借助 Caco-2 单层细胞模型, 测定出 DAP 在不同单边层转移率为 0.35%±0.02% 和 0.32%±0.02%, 表明其在 Caco-2 小肠细胞模型中转移率偏低, 初步探究了 DAP 在 Caco-2 小肠细胞模型中的吸收转运机制。DAP 分子量为 471.586 ku, 属于大分子物质因此在体内不容易被降解, 从而影响了 DAP 在 Caco-2 小肠细胞模型中吸收能力。DAP 的黏度某程度上会影响 Caco-2 小肠细胞转运效果。因此, 通过体外模拟实验中, 可以推断出 DAP 在小肠中难以吸收, 可能有利于肠道菌群发酵代谢, 从而调整肠道菌群平衡。对进一步研究 DAP 在肠道中的消化机制具有一定的理论指导意义。

参考文献

[1] Li S. Study on chemical constituents from stem of *Dendrobium aphyllum* [J]. China Journal of Chinese Materia Medical, 2008, 33(14): 1693-1695

[2] Ng T B. Review of research on *Dendrobium*, a prized folk medicine [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2012, 93(5): 1795-1803

[3] 杨丹,程忠泉,丁中涛,等.兜唇石斛的酚类化学成分研究[J].中草药,2017,8(14):2839-2842

YANG Dan, CHENG Zhong-quan, DING Zhong-tao, et al. Study on phenolic chemical constituents of *Dendrobium biloba* [J]. Chinese Herbal Medicine, 2017, 48(14): 2839-2842

[4] Zhang M, Wang G, Lai F, et al. Structural characterization and immunomodulatory activity of a novel polysaccharide from *Lepidium meyenii* [J]. J Agric Food Chem, 2016, 64(9): 1921-1931

[5] Kirschning A, G Dräger, N Dibbert. Chemical functionalization of polysaccharides-towards biocompatible hydrogels for biomedical applications [J]. Chemistry European Journal, 2018, 24(6): 1231-1240

[6] 张在强,邓晓东,石莹,等.夹江石斛多糖提取物对小鼠肠道菌群的影响研究[J].现代预防医学, 2017(1):57-59

- ZHANG Zai-qiang, DENG Xiao-dong, SHI Ying, et al. Effect of *Dendrobium officinale* polysaccharide extract on intestinal flora of mice [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2017, 1: 57-59
- [7] Liu H. Structural characterisation and immunomodulatory effects of polysaccharides isolated from *Dendrobium aphyllum* [J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2017, 53(5): 1185-1194
- [8] Hidalgo I J, T J Raub, R T Borchardt. Characterization of the human colon carcinoma cell line (Caco-2) as a model system for intestinal epithelial permeability [J]. *Gastroenterology*, 1989, 96(3): 736-749
- [9] Liu H. Artificial simulated gastrointestinal digestion of four carbohydrates containing beta-d-1 → 4 linkages and new GC-TQ/MS-MS method for characterising released monosaccharides [J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2018, 53: 1992-2005
- [10] 么晨,贺森,曹冠华,等.铁皮石斛多糖的研究进展[J].*中国民族民间医药*,2015,27(15):6-7
- YAO Chen, HE Sen, CAO Guan-hua, et al. Research progress of polysaccharide from *Dendrobium candidum* [J]. *Chinese Folk Medicine*, 2015, 27(15): 6-7
- [11] 慈小燕,夏媛媛,曾勇,等.3-乙酰基-11-羧基-β-乙酰乳香酸在 Caco-2 和 MDCK 细胞模型中的吸收研究[J].*中草药*,2013, 44(9):1162-1167
- CI Xiao-yan, XIA Yuan-yuan, ZENG Yong, et al. Absorption of 3-acetyl-11-carboxyl-lactate in caco-2 and MDCK cell models [J]. *Chinese herbal Medicine*, 2013, 44(9): 1162-1167
- [12] Rebello C J, C E O'Neil, F L Greenway. Dietary fiber and satiety: the effects of oats on satiety [J]. *Nutrition Reviews*, 2016, 74(2): 131-147
- [13] 高月琴,王伟兰,张亚伟,等.不同来源纤维在生长猪消化道内的食糜理化特性和养分消化率[J].*南京农业大学学报*, 2015,38(3):471-477
- GAO Yue-qin, WANG Wei-lan, ZHANG Ya-wei, et al. Physicochemical characteristics and nutrient digestibility of chyme from different sources in the digestive tract of growing pigs [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2015, 38(3): 471-477
- [14] 唐茂妍,刘俊奇,陈旭东,等.食糜黏度的形成及其抗营养机理的研究进展[J].*饲料博览*,2010,9:16-18
- TANG Mao-yan, LIU Jun-qi, CHEN Xu-dong, et al. The formation of chyme viscosity and its anti-nutrition mechanism [J]. *Feed Review*, 2010, 9: 16-18
- [15] 何丹,甘草提取物及其三种主要成分对 Caco-2 细胞膜上 P-gp 功能和表达的影响[D].长沙:中南大学,2010
- HE Dan. Effects of liquorice extract and its three main components on the function and expression of p-gp on caco-2 cell membrane [D]. Changsha: University of Zhongnan, 2010
- [16] 马博,孙桂波,杨志宏,等.肠上皮细胞模型不同培养条件的优化及适应性研究[J].*中国实验方剂学杂志*,2011,17(11): 205-210
- MA Bo, SUN Gui-bo, YANG Zhi-hong, et al. Optimization and adaptability of different culture conditions of intestinal epithelial cell model [J]. *Chinese Journal of Experimental Formulae*, 2011, 17(11): 205-210
- [17] Hurni M A. Permeability enhancement in Caco-2 cell monolayers by sodium salicylate and sodium taurodihydrofusidate: Assessment of effect-reversibility and imaging of transepithelial transport routes by confocal laser scanning microscopy [J]. *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics*, 1993, 267(2): 942-950
- [18] 杨秀伟.中药化学成分肠吸收研究中 Caco-2 细胞模型和标准操作规程的建立[J]. *Journal of Integrative Medicine*, 2007,5(6):634-641
- YANG Xiu-wei. Establishment of caco-2 cell model and standard operating procedure in intestinal absorption study of chemical components of traditional Chinese medicine [J]. *Journal of Integrative Medicine*, 2007, 5(6): 634-641
- [19] Shimizu M. Modulation of intestinal functions by food substances [J]. *Die Nahrung*, 1999, 43(3): 154-158
- [20] Volman J J, J D Ramakers, J Plat. Dietary modulation of immune function by beta-glucans [J]. *Physiology & Behavior*, 2008, 94(2): 276-284
- [21] 吴晖,何平伟,赖富饶,等.谷物可溶性(1→3)(1→4)-β-D-葡聚糖结构与生理活性的研究进展[J].*现代食品科技*,2016, 32(7):283-294
- WU Hui, HE Ping-wei, LAI Fu-rao, et al. Research progress on structure and physiological activity of soluble (1→3)(1→4)-β-D-glucan in cereal [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2016, 32(7): 283-294
- [22] Pidgeon C. IAM chromatography: An *in vitro* screen for predicting drug membrane permeability [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1995, 38(4): 590-594
- [23] 胡桂香.药物吸收与代谢的理论化学研究[D].杭州:浙江大学,2003
- HU Gui-xiang. Theoretical chemistry of drug absorption and metabolism [D]. Hangzhou: University of Zhejiang, 2003

(下转第 15 页)