

# 卡帕藻对 5-氟尿嘧啶所致肠粘膜损伤的保护作用

张青<sup>1</sup>, 高远<sup>1</sup>, 程泉杰<sup>1</sup>, 王志广<sup>1</sup>, 李春君<sup>1</sup>, 林碧音<sup>2</sup>, 唐庆娟<sup>1</sup>

(1. 中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266003) (2. 马来西亚大学海洋与地球科学研究所, 吉隆坡 50603)

**摘要:** 探讨两种干燥方式下卡帕藻对 5-氟尿嘧啶所致小鼠肠粘膜损伤的保护作用。将 35 只 Balb/c 小鼠随机分为 5 组: 正常组 (N)、模型组 (M)、5-氨基水杨酸组 (5-ASA)、晒干卡帕藻组 (SKA)、晾干卡帕藻组 (AKA)。采用腹腔注射 5-FU 构建肠粘膜损伤小鼠模型, 每日记录小鼠体量和摄食量。实验结束后, 统计胸腺和脾脏指数, 观察空肠组织学, 统计绒毛 (villus) 长度、隐窝 (crypt) 深度及两者比值 (V/C 值), 使用酶联免疫法检测血清中 TNF- $\alpha$  和 IL-10 的含量。研究显示, 各受试物组的体重增长率高于 M 组 (-3.30%、-6.19%、-5.09% > -7.50%), 且第三天可显著抑制小鼠体重 (16.85、16.83、16.76 > 15.75 g) 和摄食量 (2.15、2.18、2.19 > 1.54 g) 的降低。5-ASA 组 (5.92 mg/10 g b.w.) 和 AKA 组 (6.81 mg/10 g b.w.) 的胸腺指数略高于 M 组 (5.67 mg/10 g b.w.)。组织学分析表明, 与 M 组相比, 各受试物组均可改善空肠组织学变化和显著上调绒毛长度 (332.58、334.44、350.75 > 252.09  $\mu\text{m}$ ) ( $p < 0.01$ )。另外, 5-ASA 组 (6.39) 和 AKA 组 (6.35) 的 V/C 值远高于 M 组 (5.12) ( $p < 0.05$ )。炎症因子方面, 与 M 组相比, AKA 组可显著降低血清 TNF- $\alpha$  含量 (470.73 < 580.69 pg/mL) ( $p < 0.05$ ) 和提高 IL-10 含量 (306.11 > 287.41 pg/mL)。因此, 两种干燥方式下的卡帕藻均可改善 5-FU 诱导的小鼠肠粘膜损伤, 其中晾干卡帕藻的效果更好。

**关键词:** 卡帕藻; 5-氟尿嘧啶; 干燥方式; 肠黏膜屏障

文章编号: 1673-9078(2021)06-20-27

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.6.1096

## *Kappaphycus alvarezii* Prevents 5-fluorouracil-induced Intestinal Mucosal Injury in Mice

ZHANG Qing<sup>1</sup>, GAO Yuan<sup>1</sup>, CHENG Xiao-jie<sup>1</sup>, WANG Zhi-guang<sup>1</sup>, LI Chun-jun<sup>1</sup>, LIN Bi-yin<sup>2</sup>, TANG Qing-juan<sup>1</sup>

(1. College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

(2. Institute of Ocean and Earth Sciences, University of Malaya, Kuala Lumpur 50603, Malaysia)

**Abstract:** Herein, the *in vivo* protective effects of *Kappaphycus alvarezii*, dried using two different methods, over 5-fluorouracil (5-FU)-induced intestinal mucosal injury were explored. A total of 35 Balb/c mice were randomly divided into five groups: non-treated group (N), placebo treated group (M), treated with 5-aminosalicylic acid (5-ASA) group, treated with sun-dried *K. alvarezii* (SKA) group, and treated with air-dried *K. alvarezii* (AKA) group. Intestinal mucosal injury was induced by intraperitoneal injection of 5-FU, and the body weight (bw) and food intake of the mice were recorded daily. After the experiment, the thymus and spleen indexes were calculated. The jejunum histology was evaluated, including the villus length, crypt depth, and their ratio (V/C value). An enzyme-linked immunoassay was performed to detect the serum levels of the tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  and interleukin-10. Overall, the weight gain rates of all groups were higher than that of the M group (-3.30%, -6.19%, -5.09% > -7.50%). Moreover, the weight and food intake reduction was significantly suppressed by day 3 of treatment (16.85, 16.83, 16.76 > 15.75 g, and 2.15, 2.18, 2.19 > 1.54 g). The thymus index of the 5-ASA group (5.92 mg/10 g b.w.) and the AKA group (6.81 mg/10 g b.w.) were slightly higher than that of the M group (5.67 mg/10 g b.w.). Histological analysis showed that, compared with the M group, all treated groups had improved jejunum, with significantly longer villus (332.58, 334.44, 350.75 > 252.09  $\mu\text{m}$ ) ( $p < 0.01$ ). Additionally, the V/C

引文格式:

张青, 高远, 程泉杰, 等. 卡帕藻对 5-氟尿嘧啶所致肠粘膜损伤的保护作用[J]. 现代食品科技, 2021, 37(6): 20-27, +123

ZHANG Qing, GAO Yuan, CHENG Xiao-jie, et al. *Kappaphycus alvarezii* prevents 5-fluorouracil-induced intestinal mucosal injury in mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(6): 20-27, +123

收稿日期: 2020-11-26

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFC0311201); 山东省重点研发计划项目 (2019GHY112058)

作者简介: 张青 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学与人类健康

通讯作者: 唐庆娟 (1971-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品科学与人类健康

values of the 5-ASA (6.39) and AKA (6.35) groups were much higher than that of the M group (5.12) ( $p < 0.05$ ). Compared with the M group, the AKA group has significantly lower serum TNF- $\alpha$  levels (470.73 < 580.69 pg/mL) ( $p < 0.05$ ) and remarkably higher interleukin-10 (306.11 > 287.41 pg/mL). Altogether, dried *K. alvarezii*, regardless of the drying methods used, can alleviate the manifestations of 5-FU-induced intestinal mucosal injury in mice.

**Key words:** *Kappaphycus alvarezii*; 5-fluorouracil; drying method; intestinal mucosal injury

化疗是一种治疗恶性肿瘤常用且有效的方法,但会对肠黏膜造成损伤,进而导致肠道屏障功能障碍。而氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)是一种抗代谢药物(化疗药物),是氟化嘧啶类抗肿瘤药<sup>[1]</sup>。它主要通过竞争性抑制胸苷酸合酶来抑制DNA合成,从而发挥作用。与5-FU相关的最明显的副作用包括黏膜炎、皮炎、心脏毒性和骨髓抑制<sup>[2]</sup>。另外,5-FU还会引起肝损伤、机体免疫功能和造血功能的低下等。5-FU临床使用时,可对肿瘤细胞有杀伤作用,同时对具有快速分化能力的小肠细胞也具有杀伤作用,使得肠黏膜屏障损伤是化疗的主要毒副作用<sup>[3,4]</sup>。5-FU诱导的肠黏膜改变有5个阶段,包括化学疗法介导的信使信号的产生和上调,通过炎性介质的信号传递以及黏膜损伤的放大、溃疡和最终愈合过程的开始<sup>[5,6]</sup>。研究还发现,促炎因子(例如TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-6)的合成与5-FU所致的肠黏膜屏障损伤的发展有关<sup>[7]</sup>。据统计,在化疗过程中50%~80%的患者患有肠黏膜屏障损伤,随后出现溃疡、腹泻和腹痛的临床表现<sup>[8]</sup>。这直接增加了内腔中病原体入侵的风险,削弱了患者消化和吸收营养的能力,降低了治疗功效并影响了患者的生活质量。如今,临床上常用药物治疗化疗诱发的肠黏膜屏障损伤,包括5-氨基水杨酸、米诺环素(Minocycline)以及中药复方制剂等<sup>[9]</sup>。而这些药物治疗效果并不显著且有一定的副作用。因此,有必要研究天然产物,将其活性功能应用于化疗所致肠黏膜屏障损伤中。

在过去的十年中,海藻由于丰富的生物活性,已被医药、食品和营养保健等多个领域关注。其中,卡帕藻(*Kappaphycus alvarezii*)是一种重要经济红藻,“海燕窝”<sup>[10,11]</sup>。卡帕藻富含 $\kappa$ -卡拉胶、多酚、类黄酮以及花青素等多种海洋天然活性成分<sup>[12-14]</sup>。同时,研究表明卡帕藻或其提取物具有极好的抗氧化、抗菌、抗癌、抗炎和促进人体肠道健康等功效,在功能性食品、保健食品及药品的开发和应用方面具有巨大潜力<sup>[15,16]</sup>。通常,从海洋中采集的海藻藻体中含有大量的水份,在用于营养研究或食品加工之前要先进行干燥。同时,干燥也是海藻收获后最常用的加工贮藏方法。但是,植物材料干燥过程中去除水分的同时会发生明显的变形,从而使植物基质及其细胞壁和膜的功能退化,进而导致抗氧化化合物或多或少地暴露在氧化反

应中<sup>[17]</sup>。已有文献证明,不同干燥方式会影响卡帕藻的活性成分及其功能<sup>[17]</sup>。Ling等研究表明晾干条件下卡帕藻中的总酚、总黄酮、总花青素及总类胡萝卜素含量均高于晒干条件下,其抗氧化活性也优于晒干卡帕藻<sup>[18]</sup>。然而,目前研究都集中于体外的抗氧化研究,缺乏体内的活性研究比较。

因此,基于目前的研究现状,本研究以两种干燥加工下的卡帕藻为受试物,将其添加到标准饲料中,通过腹腔注射5-FU建立小鼠肠黏膜损伤模型,记录和测定卡帕藻对小鼠表观指标、空肠组织病理学及血清中炎症因子的影响,探讨两种干燥加工下卡帕藻对5-FU所致肠黏膜损伤的保护作用,明确其具有改善化疗患者的生活质量的潜力,为卡帕藻的加工及深入开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物、材料与试剂

雄性Balb/c小鼠(15~21 g, 6周龄, SPF级),购于北京维通利华实验动物技术有限公司(许可证号:SCXK(浙)2019-0001)。将小鼠圈养在环境可控的条件下(温度为23 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C;相对湿度为50% $\pm$ 10%;光照/黑暗周期为12 h),并且可以自由使用经认证的饲料和清洁水(矿泉水)。所有的动物实验均按照中华人民共和国的道德准则和法规进行,并得到中国海洋大学食品科学与工程学院实验动物伦理委员会的批准。

卡帕藻(*K. alvarezii*),马来西亚仙本那地区,苏拉威西海域;5-氨基水杨酸、5-氟尿嘧啶,上海源叶生物科技有限公司;AIN93标准饲料,南通特洛菲饲料科技有限公司;氯化钠,国药集团化学试剂有限公司;TNF- $\alpha$ 酶联免疫吸附试剂盒、IL-10酶联免疫吸附试剂盒,卡尔文生物科技有限公司。

### 1.2 主要仪器设备

食品研磨机,小熊电器;超低温冰箱(DW-86L486),青岛海尔特种电器有限公司;电子天平(CP224C),奥豪斯仪器(上海)有限公司;高速冷冻离心机(NEOFUGE 23R),上海力申科学仪器有限公司;微孔板恒温震荡器(BE-9008),上海坤诚

科学仪器有限公司；酶标仪（SPARK 10M），帝肯（上海）贸易有限公司；电动荧光显微镜（NIKON/Ni-E），日本尼康公司。

### 1.3 实验设计

#### 1.3.1 动物饲料

先将收获的新鲜卡帕藻分为两组，第一组是将海藻放入透明的塑料袋中，在阳光下放置到卡帕藻颜色变成白色为止（2~3 d），然后从透明的塑料袋中取出，经清洗干净后再在阳光下干燥 3~4 d，此组记为晒干组；第二组是直接收获卡帕藻悬挂起来，直到它们变为紫色，风吹日晒下干燥 3~4 d，将其记为晾干

组。之后，将经干燥处理的新鲜卡帕藻在-60 ℃冷冻干燥 48 h 后，使用食品研磨机将其磨碎，并过 80 目筛。最后，将卡帕藻粉末保存在-20 ℃以备制作动物饲料使用。

动物饲料选自南通特洛菲饲料科技有限公司的 AIN93 标准饲料（产品代码 LAD3001G）。根据美国 FDA 标准规定饲料中受试物的添加量不得超过 5%，以不影响正常饮食结构为目的，将所得到的两种干燥条件的卡帕藻粉末分别以 3% 的比例分量拌入各自标准饲料中，参照 JAWAD 等<sup>[19]</sup>报道的方法，将 5-氨基水杨酸（作为阳性对照）以 0.005% 的比例分量拌入标准饲料中，最终饲料的组别见表 1。

表 1 饲料组别与标签

Table 1 Feed group and label

组别	饲料配方	饲料代码
正常组 (N)	标准饲料	LAD3001 G
模型组 (M)	标准饲料	LAD3001 G
阳性对照组 (5-ASA)	标准饲料+0.005% 5-氨基水杨酸	5-ASA
晒干卡帕藻组 (SKA)	标准饲料+3% 晒干卡帕藻粉末	SKA
晾干卡帕藻组 (AKA)	标准饲料+3% 晾干卡帕藻粉末	AKA

表 2 小鼠分组及给药情况

Table 2 Grouping and administration of mice

组别	造模	治疗物	给药剂量/%
N	1~3 d 腹腔注射生理盐水	标准饲料	
M	1~3 d 腹腔注射 5-FU	标准饲料	
5-ASA	1~3 d 腹腔注射 5-FU	5-氨基水杨酸	0.005
SKA	1~3 d 腹腔注射 5-FU	晒干卡帕藻	3
AKA	1~3 d 腹腔注射 5-FU	晾干卡帕藻	3

#### 1.3.2 动物分组与给药

将 35 只雄性 Balb/c 小鼠适应性喂养一周后，按照体重随机分成 5 组 (n=7)：正常组 (N)、模型组 (M)、阳性对照组 (5-ASA)、晒干卡帕藻组 (SKA) 和晾干卡帕藻组 (AKA)。从第 0 d 起，M 组、5-ASA 组、SKA 组和 AKA 组的小鼠腹腔注射 5-FU (50 mg/kg，溶于生理盐水) 诱导肠粘膜损伤，而 N 组的小鼠腹腔注射等体积灭菌生理盐水，连续 3 d。同时，各组小鼠喂食不同的饲料，给予 N 组和 M 组小鼠标准饲料 (LAD3001 G)，而其他三组的饲料分别为 5-ASA、SKA、和 AKA，持续 7 d (见图 1 及表 2)。小鼠在整个实验期间 (7 d) 饲养在专门动物饲养笼内，每日给予小鼠正常饮食并维持小鼠生活的卫生环境。在实验过程中，每天记录小鼠的体重和摄食量。实验结束时 (第 8 d) 麻醉小鼠并快速摘眼球取血，颈椎脱臼处死。快速分离空肠，取出相应脏器称重后放于液氮速冻，再放入-80 ℃冰箱保存备用。

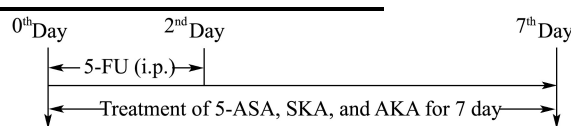


图 1 实验流程图

Fig.1 Experimental flowchart

#### 1.3.3 一般情况的观察

实验期间记录各组小鼠体重、摄食量，观察各组小鼠食欲、毛发及其整体状态。实验结束后计算小鼠体重增长指数和免疫器官指数。

$$\text{体重增长率} = \frac{\text{小鼠处死前体重(g)} - \text{小鼠初始体重(g)}}{\text{小鼠初始体重(g)}} \times 100\%$$

$$\text{免疫器官指数 (胸腺指数、脾指数)} = \frac{\text{胸腺 / 脾重量 (mg)}}{\text{体重 (g)}} \times 10$$

#### 1.3.4 组织病理学分析

为了进行组织病理学检查，将小鼠 1 cm 空肠段浸泡于 4% 多聚甲醛中，固定 48 h 以上后，每组取 3 只小鼠的空肠切片，进行苏木精-伊红染色 (hematoxylin-

eosin staining, HE)。之后,使用电动荧光显微镜在200倍下观察组织病理切片。每张照片选取5个视野统计空肠绒毛长度(villus)、隐窝深度(crypt),并计算绒毛长度/隐窝深度的比值(villus/crypt, V/C值)。

### 1.3.5 血清炎症因子测定

小鼠处死后,将血液于4℃、3500 r/min条件下离心15 min, TNF- $\alpha$ 和IL-10的检测按照酶联免疫法(ELISA)试剂盒说明书操作进行。

## 1.4 实验数据处理与统计

实验数据均以(Mean $\pm$ SEM)呈现,制图软件为GraphpadPrism8,统计学分析软件为SPSS 20。用单因素方差分析方法(One-Way ANOVA)分析,同时进行LSD组间比较。 $p < 0.05$ 视为具有统计学显著差异, $p < 0.01$ 视为具有统计学极显著差异。

## 2 结果与讨论

### 2.1 卡帕藻对小鼠基本情况的影响

整个实验期间观察到,N组小鼠表现出正常的昼夜节律、没有痛苦症状、绒毛正常且精神状态良好。同时,观察到注射5-FU的M组、5-ASA组、SKA组和AKA组小鼠在白天表现的异常活跃,随后出现活动减少、绒毛松弛以及背部弓形,而在第5 d得到好转,昼夜节律逐渐恢复正常。这与ATIQ等的研究一致,观察到注射5-FU的小鼠出现驼背、耸肩和毛发松弛等现象<sup>[20]</sup>。

### 2.2 卡帕藻对小鼠体重的影响

在研究广藿香醇对5-FU所致肠粘膜损伤的保护作用中发现5-FU会导致大鼠体重的降低,随后第6天体重开始恢复<sup>[21]</sup>。图2a表明N组小鼠在实验期间保持稳定增长,M组、5-ASA组、SKA组和AKA组小鼠在腹腔注射5-FU后第1 d体重出现下降,之后随着腹腔注射结束和实验时间的延长,在第5 d各组小鼠体重开始升高。至实验结束M组体重明显低于N组( $p < 0.01$ ),5-ASA组、SKA组和AKA组体重略高于M组。通过图2b发现M组(-7.50%)的体重增长率低于N组(8.32%),具有显著性差异( $p < 0.01$ ),而5-ASA组(-3.30%)、SKA组(-6.19%)和AKA组(-5.09%)比M组的体重增长率略高。而分析第三天小鼠体重发现(图2c),M组(15.75 g)体重明显低于N组(21.88 g)( $p < 0.01$ ),5-ASA组(16.85 g)、SKA组(16.83 g)和AKA组(16.76 g)体重明显高于M组。结果表明,卡帕藻对5-FU所致肠黏膜损伤

小鼠体重的降低具有抑制作用,且第3 d时,卡帕藻可显著抑制小鼠体重的降低。

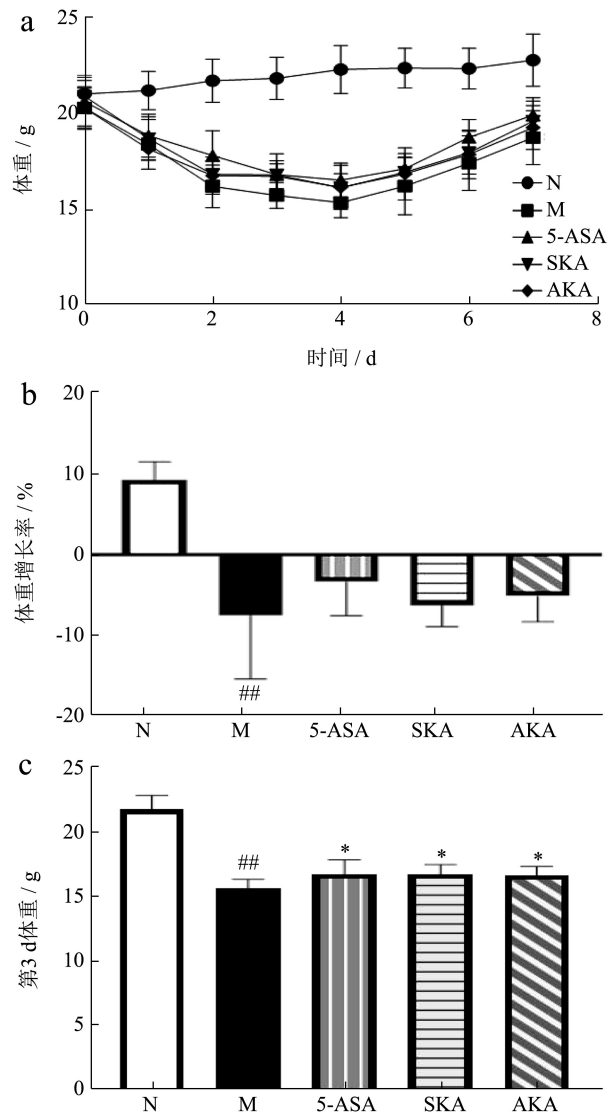


图2 小鼠体重变化

Fig.2 Changes in mouse body weight

注: a: 体重; b: 体重增长率; c: 第3 d体重。##: 与N组比较,  $p < 0.01$ ; \*: 与M组比较,  $p < 0.05$ 。

### 2.3 卡帕藻对小鼠摄食量的影响

在砂仁挥发油对5-FU诱导肠结肠炎的保护作用中发现5-FU会导致大鼠摄食量的降低,在造模结束后,模型组和各受试物组的摄食量开始恢复<sup>[22]</sup>。从图3可以看到,N组在实验期间平均摄食量在3.50 g左右,基本保持不变。M组、5-ASA组、SKA组和AKA组小鼠在腹腔注射5-FU后第1 d出现摄食量低于N组,之后随着腹腔注射结束和实验时间的延长,M组、5-ASA组、SKA组和AKA组小鼠摄食量开始逐渐升高与N组达到一致。接着,分析第三天小鼠摄食量发现(见图3b),M组摄食量(1.54 g)显著低于N组

(3.51 g) ( $p<0.01$ ), 而 5-ASA 组 (2.15 g)、SKA 组 (2.18 g) 和 AKA 组 (2.19 g) 摄食量明显高于 M 组。结果表明, 卡帕藻对 5-FU 所致肠粘膜损伤小鼠摄食量的降低具有抑制作用, 且第 3 d 时, 卡帕藻可显著抑制小鼠摄食量的降低。

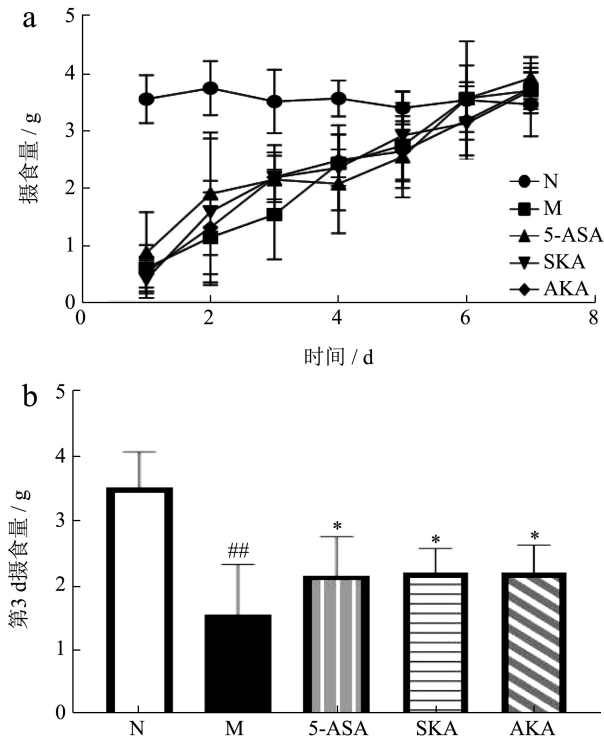


图3 小鼠摄食量变化

Fig.3 Changes in food intake of mice

注: a: 摄食量; b: 第 3 d 摄食量。##: 与 N 组比较,  $p<0.01$ ;

\*: 与 M 组比较,  $p<0.05$ 。

#### 2.4 卡帕藻对小鼠免疫器官的影响

5-FU 是一种细胞毒性药物, 持续使用可以靶向快速的分裂细胞, 使具有快速增殖潜能的正常细胞 (如骨髓) 和胃肠道粘膜细胞与癌细胞一样, 受到损害, 进而造成肠粘膜屏障损伤。而胸腺和脾脏是机体重要的免疫器官, 其质量与所含的免疫细胞数量及免疫功能密切相关, 脏器指数可在一定程度上反映机体免疫功能的强弱<sup>[23]</sup>。由图 4 及表 3 所示, 与 N 组小鼠相比, M 组小鼠的胸腺指数和脾脏指数均降低, 呈现极显著性差异 ( $p<0.01$ )。与 M 组小鼠相比, 各受试物组小鼠的免疫器官指数有所改善, 但无显著性差异。结果

表 3 小鼠免疫器官指数

Table 3 Mouse immune organ index

组别/(mg/10 g b.w.)	N	M	5-ASA	SKA	AKA
胸腺指数	20.01±3.11	5.67±1.90 <sup>##</sup>	5.92±2.20	5.30±3.01	6.81±2.54
脾脏指数	34.72±4.65	24.87±5.01 <sup>##</sup>	24.41±3.65	27.34±4.11	23.79±1.88

注: ##: 与 N 组比较,  $p<0.01$ 。

说明, 注射 5-FU 会使小鼠免疫器官受损, 免疫力降低, 本实验造模成功, 而卡帕藻可改善免疫器官受损情况, 进而缓解 5-FU 的细胞毒性。

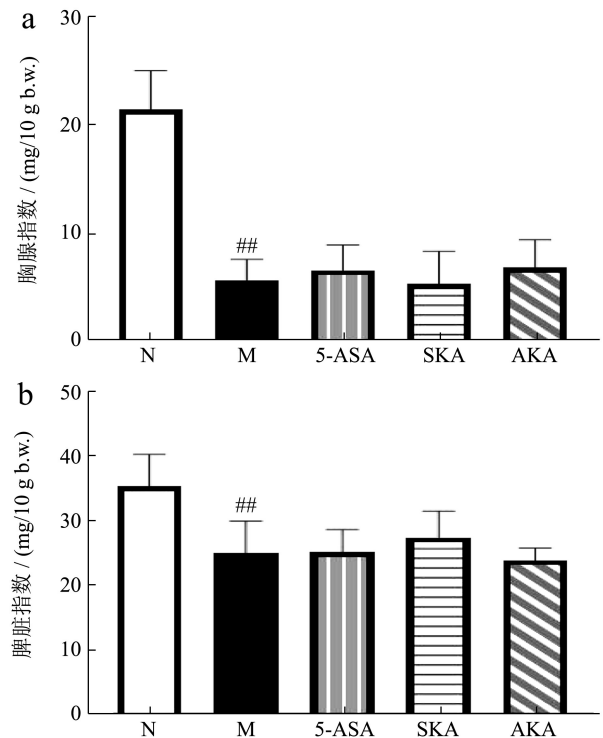


图4 小鼠免疫器官指数

Fig.4 Mouse immune organ index

注: a: 胸腺指数; b: 脾脏指数。##: 与 N 组比较,  $p<0.01$ 。

#### 2.5 卡帕藻对小鼠空肠组织病理学的影响

形态学分析表明, 注射 5-FU 会导致小肠巨大的组织学损伤, 包括绒毛长度缩短、绒毛结构丧失、隐窝变形以及炎性细胞浸润等<sup>[24]</sup>。组织学分析显示 (见图 5a), N 组小鼠的空肠无组织形态变化, 绒毛与完整的隐窝对齐, 细长且排列紧密, 肠粘膜结构清晰。观察到 M 组空肠黏膜明显的组织病理学改变, 引起肠粘膜结构破坏, 表现为隐窝结构明显丧失, 严重萎缩的迹象, 绒毛的缩短和杂乱无章, 大量炎性细胞浸润, 黏膜和囊肿均出现空泡和水肿, 这与 YU 等研究一致<sup>[25]</sup>。而各受试物组可显著逆转 5-FU 所致的空肠组织病理学改变, 表现为绒毛细长, 排列紧密, 肠粘膜结构相对完整。

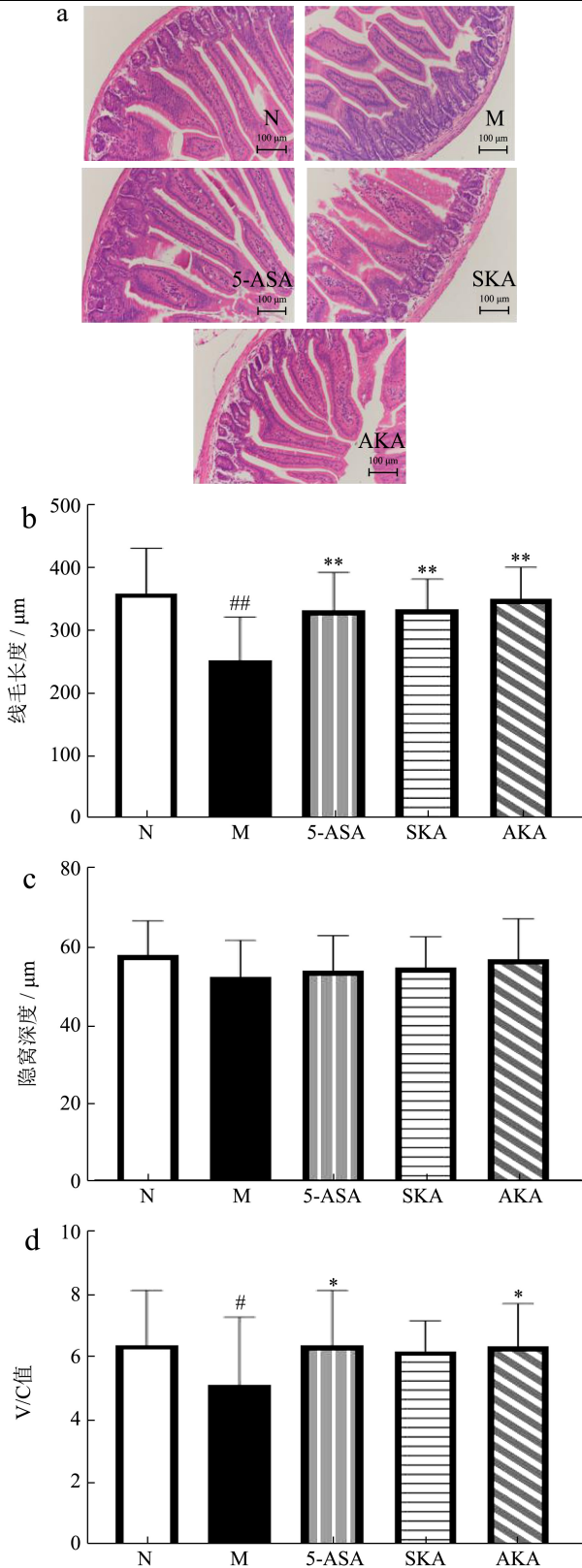


图5 小鼠空肠形态学结构

Fig.5 Morphological structure of mouse jejunum

注: a: HE 染色切片; b: 绒毛长度; c: 隐窝深度; d: 绒毛长度/隐窝深度值 (V/C 值)。#: 与 N 组比较,  $p < 0.05$ ; ##: 与 N 组比较,  $p < 0.01$ ; \*: 与 M 组比较,  $p < 0.05$ , \*\*: 与 M 组比较,  $p < 0.01$ 。

小肠的隐窝和绒毛功能单元是肠上皮持续更新的基础,并参与消化吸收功能,进而维持肠粘膜功能的正常<sup>[26]</sup>。对空肠的绒毛长度和隐窝深度统计分析发现(见图 5b 和图 5c),与 N 组(360.22 μm)相比, M 组(252.09 μm)绒毛长度显著降低;而 5-ASA 组(332.58 μm)、SKA 组(334.44 μm)和 AKA 组(350.75 μm)与 M 组相比,绒毛长度显著增加( $p < 0.01$ )。隐窝深度也表现为同样的趋势。V/C 值表明,与 N 组(6.40)相比, M 组(5.12)小鼠的 V/C 值明显下降,而 5-ASA 组(6.39)和 AKA 组(6.35)的 V/C 值显著优于 M 组( $p < 0.05$ )。这与 JAWAD 等的研究结果一致,经 5-FU 处理的小鼠在小肠中表现出明显的绒毛长度和隐窝深度改变,而阳性组和皂苷 A 组可以减弱这种现象<sup>[19]</sup>。以上发现表明,卡帕藻显著保护了 5-FU 所致小鼠肠粘膜损伤,其中晾干卡帕藻具有更好的保护作用。

### 2.6 卡帕藻对小鼠血清炎症因子的影响

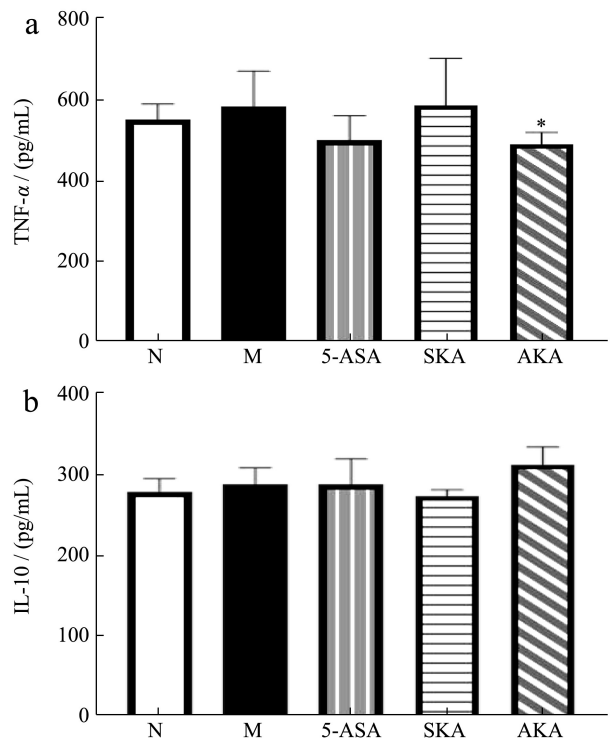


图6 小鼠血清炎症因子指标

Fig.6 Mouse serum inflammatory factor indicators

注: \*: 与 M 组比较,  $p < 0.05$ 。

炎症标志物的过量产生主要与肠粘膜屏障损伤有关,5-FU 诱发小鼠肠粘膜屏障损伤后,促炎因子表达显著增加,抗炎因子显著降低<sup>[27]</sup>。由图 6 所示,检测小鼠血清中炎症因子,发现 M 组小鼠有炎症反应。其中,AKA 组(470.43 pg/mL)与 M 组(580.69 pg/mL)相比,显著降低了促炎因子 TNF-α 的含量( $p < 0.05$ ),

提高了抗炎因子 IL-10 的含量。ZHANG 等的研究也发现, 经 5-FU 处理的小鼠血清检测发现促炎因子 TNF- $\alpha$  升高和抗炎因子 IL-10 降低, 而清结扶正颗粒组可以显著改变这一现象<sup>[28]</sup>。此外, 本研究还发现 AKA 组与 SKA 组相比, AKA 组可显著降低 TNF- $\alpha$  含量和升高 IL-10 含量。结果表明, 卡帕藻能够降低小鼠血清 TNF- $\alpha$  的释放和提高 IL-10 的释放, 进而对肠粘膜损伤起到保护作用, 其中晾干卡帕藻可更好地保护卡帕藻的这一活性。

本研究表明, 卡帕藻对由 5-FU 引起的胃肠道毒性具有强大的预防潜力, 可有效改善相关的临床症状。这可能是卡帕藻含有多糖、多酚以及黄酮等多种活性物质, 其中的一种成分或是几种成分协同发挥了抗炎、抗氧化、抗癌、提高免疫力及调节肠道菌群等多种功效<sup>[29-31]</sup>。此外, 研究证明不同干燥方式下的卡帕藻对 5-FU 引起肠粘膜损伤的保护作用具有不同的影响。其中, 晾干卡帕藻的活性更好。这可能是由于不同干燥条件对生物活性化合物的含量、活性和生物利用度都有不同程度的影响。Tomaino 等研究表明干燥过程通常会导致植物原料中天然抗氧化剂的消耗<sup>[32]</sup>。这是因为温度, 过长干燥时间, 阳光中的紫外线以及干燥过程中样品的脱水可能会破坏某些活性化合物, 包括抗坏血酸、生育酚和类胡萝卜素等, 进而导致植物化学含量和抗氧化活性受到不同程度的影响<sup>[33]</sup>。而本研究中的干燥条件在很大程度上取决于天气和白天的时间, 这导致了干燥时间长(在阳光直射下需要 3~4 d), 干燥速度慢, 延长了海藻在空气中的暴露时间, 进而不同程度的影响了活性成分的氧化并降低了其活性。研究已证明, 晾干条件下卡帕藻中的总酚(41.33>26.67 mg 没食子酸/100 g)、总黄酮(16.17>9.83 mg/儿茶素 100 g)、总花青素(1.05>0.53 mg 氰化物-3-葡萄糖苷/g)及总类胡萝卜素(0.10>0.03 mg  $\beta$ -胡萝卜素/g)含量均高于晒干条件下, 其清除 2,2-二苯基-1-吡啶基肼基能力的 IC<sub>50</sub> 值(22.93>48.73 mg/mL)、清除 2,2-叠氨基双-(3-乙基-苯并噻唑啉-6-磺酸)能力(0.34>0.20 mg 抗坏血酸/g)等也高于晒干卡帕藻<sup>[18]</sup>。Vairappan 等研究显示晾干条件下卡帕藻中的卡拉胶含量(58.3>42.8%)和质量(粘度 57.8>42.4 cPs, 凝胶强度 1424.6>898.2 g/cm<sup>2</sup>)均优于晒干条件下的卡拉胶<sup>[17]</sup>。因此, 与晒干相比, 晾干干燥可更好的保护卡帕藻的活性, 在改善化疗所致肠粘膜损伤中表现出更强的健肠功效。

### 3 结论

本研究通过 5-FU 构建肠粘膜损伤模型来比较研

究两种干燥方式下卡帕藻的保护作用。观察到两种干燥方式下卡帕藻均可抑制 5-FU 导致的小鼠体重和摄食量的降低。对免疫器官指数的统计分析也发现卡帕藻可改善胸腺和脾脏免受损伤, 进而减轻 5-FU 对机体造成的细胞毒性。通过组织学分析, 卡帕藻的干预可改善 5-FU 引起的组织病理学变化和显著上调绒毛长度。另外, 与模型组相比, 晾干卡帕藻可显著上调 V/C 值, 更好地保护粘膜的结构和组织。在炎症方面, 施用 5-FU 后, 在血清中观察到促炎因子(TNF- $\alpha$ )升高和抗炎因子(IL-10)降低, 而晾干卡帕藻可显著逆转这一现象, 支持了卡帕藻的干预抑制了肠粘膜损伤模型中炎性介质的产生。此外, 研究结果还表明, 不同干燥方式影响了卡帕藻活性的发挥, 通过 V/C 值和血清炎症因子可分析到, 晾干卡帕藻的效果优于晒干卡帕藻。综上所述, 卡帕藻干预可以通过缓解相关的临床症状、减缓 5-FU 的细胞毒性、改善肠道形态学损伤和调节炎症稳态来预防 5-FU 诱导的肠粘膜损伤, 其中, 晾干卡帕藻的效果优于晒干卡帕藻。这说明卡帕藻可作为理想的功能性食品原料, 有望为卡帕藻的精深加工提供科技支撑。

### 参考文献

- [1] 李幼生,黎介寿.化疗对肠屏障功能的影响及其防治[J].医学研究生学报,2005,9:845-848  
LI You-sheng, LI Jie-shou. Effect of chemotherapy on intestinal barrier function and its prevention [J]. Journal of Medical Postgraduates, 2005, 9: 845-848
- [2] 周玲娜.5-氟尿嘧啶联合吉美嘧啶对肠癌细胞恶性表型的影响及机制研究[D].南京:东南大学,2018  
ZHOU Ling-na. The effect of 5-fluorouracil combined with gemacil on malignant phenotype of intestinal cancer cells and its mechanism [D]. Nanjing: Southeast University, 2018
- [3] 姜福全.5-氟尿嘧啶腹腔内缓释化疗的实验研究[D].上海:第二军医大学,2006  
JIANG Fu-quan. Experimental study of 5-fluorouracil sustained-release intraperitoneal chemotherapy [D]. Shanghai: Second Military Medical University, 2006
- [4] 王艳,王英,梁秀艳,等.猪苓多糖与 5-氟尿嘧啶伍用对小鼠抗肿瘤及免疫功能的影响[J].中国中医药科技,2002,6: 349-350  
WANG Yan, WANG Ying, LIANG Xiu-yan, et al. Effect of *Polyporus umbellatus* polysaccharide and 5-fluorouracil on anti-tumor and immune function in mice [J]. Chinese Medicine Technology, 2002, 6: 349-350
- [5] 王灿红,何晓山,张丽静,等.羧甲基茯苓多糖对氟尿嘧啶致



- 肠炎小鼠的保护作用[J].中国药理学通报,2016,32(4):484-489
- WANG Can-hong, HE Xiao-shan, ZHANG Li-jing, et al. Protective effect of carboxymethyl tuckahoe polysaccharide on fluorouracil-induced enteritis in mice [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2016, 32(4): 484-489
- [6] 刘伟志,王波.十全大补汤对化疗药物治疗小鼠移植性大肠癌减毒增效作用实验研究[J].辽宁中医药大学学报,2013, 15(12):70-72
- LIU Wei-zhi, WANG Bo. Experimental study of shiquan dabu decoction on attenuating and synergistic effects of chemotherapy on transplanted colon cancer in mice [J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2013, 15(12): 70-72
- [7] Chen H T, Zhan F, Li R R et al. Berberine regulates fecal metabolites to ameliorate 5-fluorouracil induced intestinal mucositis through modulating gut microbiota [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2020, 124: 109829
- [8] Si Z, Yanan L, Daochun X, et al. Assessment of dose-response relationship of 5-fluorouracil to murine intestinal injury [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018, 106: 910-916
- [9] Kumar K S, Ganesan K, Rao P V S. Antioxidant potential of solvent extract of *K. alvarezii* (Doty) Doty - an edible seaweed [J]. Food Chemistry, 2008, 107(1): 289-295
- [10] Hurtado A Q, Neish I C, Critchley A T. Developments in production technology of *Kappaphycus* in the Philippines: more than four decades of farming [J]. Journal of Applied Phycology, 2015, 27(5): 1945-1961
- [11] Porse H, Rudolph B. The seaweed hydrocolloid industry: 2016 updates, requirements, and outlook [J]. Journal of Applied Phycology, 2017, 29(5): 2187-2200
- [12] Hayashi L, Reis R P. Cultivation of the red algae *K. alvarezii* in Brazil and its pharmacological potential [J]. Revista Brasileira de Farmacognosia-Brazilian Journal of Pharmacognosy, 2012, 22(4): 748-752
- [13] Nagarani N, Kumaraguru A K. Investigation of the effect of *K. alvarezii* on antioxidant enzymes, cell viability and DNA damage in male rats [J]. Frontiers in Life Science, 2012, 6(3-4): 97-105
- [14] Mayakrishnan A, Sivakumari K, Srinivasan P, et al. Antimycobacterial activity of *Kappaphycus alvarezii* against mycobacterium tuberculosis and in silico molecular docking of kappa-carrageenan against InhA enzyme [J]. International Journal of Drug Research and Technology, 2015, 5(1): 35-46
- [15] Makkar F, Chakraborty K. Antioxidant and anti-inflammatory oxygenated meroterpenoids from the thalli of red seaweed *Kappaphycus alvarezii* [J]. Medicinal Chemistry Research, 2018, 27(8): 2016-2026
- [16] Dousip A, Maanjan P, Sulaiman M R, et al. Effect of seaweed mixture intake on plasma lipid and antioxidant profile of hypercholesterolaemic rats [J]. Journal of Applied Phycology, 2014, 26(2): 999-1088
- [17] Varappan C S, Razalie R, Elias U M, et al. Effects of improved post-harvest handling on the chemical constituents and quality of carrageenan in red alga, *Kappaphycus alvarezii* Doty [J]. Journal of Applied Phycology, 2014, 26(2): 909-916
- [18] Ling A L M, Yasir S, Matanjun P, et al. Effect of different drying techniques on the phytochemical content and antioxidant activity of *Kappaphycus alvarezii* [J]. Journal of Applied Phycology, 2015, 27(4): 1717-1723
- [19] Jawad A, Ashraf U K, Fawad A S, et al. Mucoprotective effects of saikosaponin-A in 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in mice model [J]. Life Sciences, 2019, 239: 116888
- [20] Atiq A, Shal B, Naveed M, et al. Diadzein ameliorates 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis by suppressing oxidative stress and inflammatory mediators in rodents [J]. European Journal of Pharmacology, 2014, 843: 292-306
- [21] 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
- WU Jia-zhen. Study on the mechanism of patchouli alcohol in treating intestinal mucositis caused by 5-fluorouracil [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2019
- [22] 张婷.砂仁挥发油对药源性肠黏膜炎的保护作用及机制研究[D].昆明:云南中医学院,2017
- ZHANG Ting. The protective effect and mechanism of *Amomum villosum* volatile oil on drug-induced intestinal mucositis [D]. Kunming: Yunnan College of Traditional Chinese Medicine, 2017
- [23] Zheng H, Gao J, Man S L, et al. The protective effects of *Aquilaria Lignum Resinatum* extract on 5-Fluorouracil-induced intestinal mucositis in mice [J]. Phytomedicine, 2019, 54: 308-317

(下转第 123 页)