

元宝枫籽油改善脂多糖诱导的小鼠肠道炎症

梁婵华¹, 黄妍¹, 莫敏敏^{1,2}, 陈城宇^{1,3}, 宋家乐^{1,4*}

(1. 桂林医学院公共卫生学院, 广西桂林 541199) (2. 廉江市人民医院营养科, 广东廉江 524400) (3. 广西医科大学第一附属医院营养科, 广西南宁 530000) (4. 桂林医学院第二附属医院临床营养科, 广西桂林 541199)

摘要: 该研究探讨元宝枫籽油对脂多糖 (LPS, 3.5 mg/kg) 诱导雄性 ICR 小鼠肠道炎症的改善作用机制。连续 7 d 灌服元宝枫籽油后观察小鼠体重、结肠的变化, 玉米油为对照。酶联免疫法测定血清及结肠中白介素 (interleukin, IL) -1 β 、IL-6、IL-18 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平。qRT-PCR 法检测结肠内 NOD 样受体蛋白 3 (*Nlrp3*), 凋亡相关斑点样蛋白 (*Asc*), 半胱氨酸蛋白酶-1 (*Caspase-1*) 和 *Il1 β* 的 mRNA 水平。元宝枫籽油显著抑制 LPS 致小鼠体重下降, 降低小鼠结肠重量与长度比 ($p < 0.05$)。元宝枫籽油同时抑制 LPS 致损伤小鼠血清炎症因子 (L-1 β : 155.66 ng/L、IL-6: 75.42 ng/L、IL-18: 90.31 ng/L 和 TNF- α : 47.97 ng/L) 及结肠炎症因子 (IL-1 β : 188.85 ng/L、IL-6: 57.88 ng/L、IL-18: 52.29 ng/L 和 TNF- α : 85.69 ng/L) 水平; 显著降低小鼠结肠髓过氧化物酶水平至 81.53 ng/L (vs 损伤组: 113.59 ng/L, $p < 0.05$), 丙二醛水平至 1.04 $\mu\text{mol/g}$ protein (vs 损伤组: 1.60 $\mu\text{mol/g}$ protein, $p < 0.05$)。此外, 与损伤组相比, 元宝枫籽油分别抑制 *Nlrp3* (41.80%)、*Asc* (49.85%)、*Caspase-1* (31.28%) 和 *Il1 β* (39.83%) 的 mRNA 表达。综上所述, 元宝枫籽油能改善 LPS 致小鼠肠道炎症反应的机制可能与其抑制结肠内 NLRP3 小体过度活化有关。

关键词: 元宝枫籽油; 脂多糖; ICR 小鼠; 肠道炎症

文章编号: 1673-9078(2021)10-37-45

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.10.0246

Acer truncatum Bunge Seed Oil Attenuated the Lipopolysaccharide-induced Intestinal Inflammation in Mice

LIANG Chan-hua¹, HUANG Yan¹, MO Min-min^{1,2}, CHEN Cheng-yu^{1,3}, SONG Jia-le^{1,4*}

(1. School of Public Health, Guilin Medical University, Guilin 541199, China)

(2. Department of Clinical Nutrition, People's Hospital of Lianjiang City, Lianjiang 524400, China)

(3. Department of Clinical Nutrition, the First Hospital Affiliated to Guangxi Medical University, Nanning 530000, China)

(4. Department of Clinical Nutrition, the Second Hospital Affiliated to Guilin Medical University, Guilin 541199, China)

Abstract: The effect and mechanism of *Acer truncatum* Bunge seed oil on lipopolysaccharide (LPS, 3.5 mg/kg) intraperitoneal injection induced intestinal inflammation in male ICR mice were investigated. After 7 days, *Acer truncatum* Bunge seed oil was administrated by gavage, and corn oil was used as the control. The body weight and colon tissue of mice were observed. The levels of cytokines, including IL-1 β , IL-6, IL-18 and TNF- α in serum and colon were measured by ELISA assay, respectively. The mRNA levels of *Nlrp3*, *Asc*, *Caspase1* and *Il1 β* in colon were detected by qRT-PCR assay. *Acer truncatum* Bunge seed oil can significantly inhibit the weight loss and reduce the ratio of colon weight to length in LPS-treated mice ($p < 0.05$). At the same time, the levels of IL-1 β (155.66 ng/L and 188.85 ng/L), IL-6 (75.42 ng/L and 57.88 ng/L), IL-18 (90.31 ng/L and 52.29 ng/L) and TNF- α (47.97 ng/L and 85.69 ng/L) in serum and colon of the model mice were significantly reduced by the intervention of *Acer truncatum* Bunge seed oil. The levels of MPO and MDA in colon of model mice were significantly reduced to 81.53

引文格式:

梁婵华, 黄妍, 莫敏敏, 等. 元宝枫籽油改善脂多糖诱导的小鼠肠道炎症[J]. 现代食品科技, 2021, 37(10): 37-45, +6

LIANG Chan-hua, HUANG Yan, MO Min-min, et al. *Acer truncatum* Bunge seed oil attenuated the lipopolysaccharide-induced intestinal inflammation in mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(10): 37-45, +6

收稿日期: 2021-03-09

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81560530; 81760589; 81960590); 人社部“高层次留学人才回国资助计划”(人社厅函[2019]160号); 广西自然科学基金项目 (2020GXNSFAA159160); 广西高等学校千名中青年骨干教师培育计划资助项目 (桂教人[2018]18号); 桂林医学院引进人才科研启动基金项目 (04010150001)

作者简介: 梁婵华 (2000-), 女, 本科生, 研究方向: 营养与食品卫生学, E-mail: 13730619@qq.com

通讯作者: 宋家乐 (1983-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 临床营养与免疫代谢性疾病, E-mail: songjiale@glmc.edu.cn

ng/L (vs injury group: 113.59 ng/L, $p < 0.05$) and to 1.04 $\mu\text{mol/g}$ protein (vs injury group: 1.60 $\mu\text{mol/g}$ protein, $p < 0.05$). Compared with the injured group, *Acer truncatum* Bunge seed oil inhibited the mRNA expression of *Nlrp3* (41.80%), *Asc* (49.85%), *Caspase1* (31.28%) and *Il1 β* (39.83%). These results suggest that *Acer truncatum* Bunge seed oil improve the intestinal inflammation in LPS-treated mice. The mechanism may be associated with the reducing the activation of NLRP3 by *Acer truncatum* Bunge seed oil in LPS-treated mice.

Key words: *Acer truncatum* Bunge seed oil; lipopolysaccharide; ICR mice; intestinal inflammation

作为人体内重要的消化器官, 肠道拥有庞大的肠道菌群并集结了人体 70%~80% 的免疫细胞。因此, 肠道也被认为是人体内最重要的内分泌及免疫器官。正常状态下肠道菌群之间相互依存并相互制约, 时刻维持着彼此间的动态平衡状态。肠道菌群失衡将导致肠道免疫系统失衡, 使得机体免疫系统异常激活, 从而导致肠道炎症甚至是全身炎症反应的发生^[1-3]。研究提示, 结直肠癌有较明确的“炎症-癌症”转化病变, 肠道系统慢性炎症与癌症风险的增加密切相关, 严重危害人类健康^[4]。临床流行病学数据显示, 炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 患者的结直肠癌发病率远高于正常人群^[5]。而在中国, 2018 年结直肠癌新发病例和死亡病例分别增至 52.1 万例和 24.5 万例, 结直肠癌在全部恶性肿瘤发病率排名由第 3 位升至第 2 位^[6]。因此, 探索具有安全性和生物活性的抗炎物质已成为结直肠肿瘤及相关疾病的防治研发热点之一。

元宝枫籽油是从无患子目槭树科槭属落叶乔木元宝枫 (*Acer truncatum* Bunge) 果实中提炼出来的纯天然木本植物油, 富含油酸、亚油酸、功能性脂肪酸-神经酸及丰富的脂溶性维生素 E^[7]。此外, 也有研究报告称元宝枫籽油具有抗菌^[8]及抗肿瘤作用^[9], 能够增强小鼠免疫力^[10], 调节肠道菌群^[11], 并能够改善力竭运动大鼠氧化应激和体内炎症反应水平的功效^[12]。此外, 元宝枫油乳液能促进新生组织生长, 对体细胞有修复作用^[13], 目前, 枫籽油已经被国家卫健委批准列为新资源食品。

脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 是革兰氏阴性菌细胞壁的组成成分, 由脂质和多糖构成。研究表明, 在实验动物腹腔内暴露低剂量 LPS 可通过紧密连接选择性地增加肠道通透性, 诱发肠道出现炎症反应, 从而模拟急性肠道功能障碍^[14]。因此, 本研究采用腹腔注射 LPS 的方式来建立小鼠肠道炎症模型。通过观察元宝枫籽油对 LPS 肠道损伤小鼠体重, 肠道炎症水平及结肠组织病理的改善情况; 评估对炎症指标物 MPO 酶活性及氧化应激损伤指标 MDA 的影响, 观察对 NLRP3 炎症小体相关因子 mRNA 表达的影响。以此探究元宝枫籽油对肠道炎症反应的改善效果并比较其效果是否与玉米油存在差异, 为元宝枫籽油这种新

资源食品将来应用于肠道炎症患者的肠内营养治疗提供一定的科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

元宝枫油 (亚油酸 $\geq 30.0\%$, 油酸 $\geq 15.0\%$, 神经酸 $\geq 5.0\%$) 由西安拓丰生物科技有限公司提供 (生产年份: 2020 年 3 月); 玉米胚芽油 (不饱和脂肪酸含量为 $\geq 80.0\%$, 亚油酸 $\geq 40.0\%$) 由山东西王食品有限公司提供 (生产年份: 2019 年 12 月); 脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS, L8880)、Trizol 法总 RNA 提取试剂盒 (R1200-50T)、TaqMan 快速 qRT-PCR 试剂盒 (T2210-200T): 北京索莱宝生物科技有限公司; 苏木素-伊红 (H&E) 染色试剂盒 (C0105): 上海碧云天生物技术有限公司; 白细胞介素 (interleukin, IL) -1 β , IL-6, IL-18, 肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO) 及丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 测定试剂盒, 均购于江苏科特生物技术有限公司; 普通啮齿类维持饲料 (AIN-93M), 购自常州鼠一鼠二生物技术有限公司。

1.2 仪器与设备

AL204 电子分析天平, 梅特勒-托利多 (上海) 有限公司; Eppendorf 5424R 冷冻离心机, 德国 Eppendorf 公司; Quant StudioTM 6 Flex PCR 仪, 美国 Thermo Scientific 科技公司; KZ-II 高速组织研磨仪, 武汉塞维尔生物科技有限公司; ELx808 酶标仪, 美国 BioTek 公司; Leica DM4B 显微镜, 德国徕卡仪器有限公司; L-600 离心机, 湖南湘仪离心机仪器有限公司。

1.3 实验动物

SPF 级健康 ICR 雄性小鼠 (总 28 只, 12 周龄, 体重 34.4 \pm 1.1 g), 由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供, 生产许可证号 SCXK (湘) 2016-0002; 所有动物均置于桂林医学院公共卫生学院实验中心 SPF 级动物房饲养, 实验单位许可证号: SYXK (桂) 2020-0005。本研究经桂林医学院实验动物伦理委员会审查通过 (GLMC201803049)。

1.4 实验方法

1.4.1 实验动物分组与给药处理

所有经小鼠 1 周适应性喂养后,以每组 7 只随机分为正常组,损伤组,玉米油组,元宝枫籽油组行后续实验。小鼠肠道损伤模型依赵晓等^[15]的方法进行操作,损伤组,玉米油组,元宝枫籽油组小鼠经腹腔注射 LPS (3.5 mg/kg) 造模,正常组注射等量生理盐水。注射 24 h 后,分别测量各组小鼠空腹体重,正常组和损伤组灌胃生理盐水 (100 μ L/d),元宝枫籽油组和玉米油组分别灌胃等量油样至第 7 天。整个实验期间以普通饲料继续喂养,自由摄食与饮水。

1.4.2 实验动物体重测量、生物样本的收集与处理

在整个实验期间内 (共 7 d),每日于固定时间点测量小鼠体重、摄食与饮水情况并记录。待 7 d 干预结束后,各组小鼠 12 h 禁食 (自由饮水),以 CO₂ 安乐死法牺牲小鼠。自腹部中央动脉采集血样,以 3500 r/min 在 4 $^{\circ}$ C 条件下离心 15 min 后制备血清后留存 -80 $^{\circ}$ C 冰箱备用。取血后,置实验动物于冰上,快速分离其心脏、肝脏、脾脏、肾脏、睾丸及结肠组织,用冰生理盐水洗去表面杂质,滤纸吸干,计算脏器指数[(脏器质量/体质量) \times 100%]。测量结肠长度后,取部分用生理盐水制成 10% 的组织匀浆液,700 r/min 条件下离心 15 min 制备上清液留存于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱用于后续指标的检测。剩余结肠组织部分用 4% 多聚甲醛固定待进行病理分析,余下组织则保存于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱用于后续 qPCR 分析。

1.4.3 血清及结肠组织中相关炎症因子水平测定

严格依照 ELISA 检测试剂盒的相关说明操作,分别检测血清和结肠组织匀浆液中的 IL-1 β 、IL-6、IL-18 和 TNF- α 水平 (单位: ng/L),及结肠组织中的 MPO 水平 (单位: ng/L) 与 MDA 水平 (单位: μ mol/g protein)。

1.4.4 结肠组织标本处理及病理染色观察

将 1.4.2 部分中所述经固定后的结肠组织进行常规石蜡包埋、切片后 (5 μ m),进行 H&E 染色,用徕卡 DM4B 光学显微镜观察组织病理学改变,并拍摄图像记录。

1.4.5 qRT-PCR 法测定肠黏膜组织中 NLRP3 炎性小体相关因子 mRNA 的表达

以细胞刮刀收集适量结肠组织 (200 mg) 的黏膜并按试剂盒要求提取黏膜中总 RNA 并检测其纯度。依 qPCR 试剂盒要求充分混匀各组分,即在总反应体系中加入 2 μ g 的 RNA 样品,25 \times qRT-PCR 预混液 (1

μ L),5 \times qRT-PCR 缓冲液 (5 μ L),目的引物混合物 (10 μ mol/L,2 μ L),TaqMan 探针 (0.2 μ mol/L) 并补 ddH₂O 至总体积 25 μ L 后置于 QuantStudioTM 6 Flex PCR 仪中扩增。扩增反应条件为反转录 (50 $^{\circ}$ C,20 min),变性 (95 $^{\circ}$ C,3 min),退火 (56 $^{\circ}$ C,20 s),延伸 (72 $^{\circ}$ C,30 s) 实施 30~35 个循环反应。每个基因 cDNA 样本平行扩增 3 次,取 Ct 值均数,依据以下公式计算目的基因表达水平。

$$F = \frac{2^{-(\text{检测样品中基因的 } C_t \text{ 值} - \text{检测样品中持家基因的 } C_t \text{ 值})}}{2^{-(\text{空白样品中基因的 } C_t \text{ 值} - \text{空白样品中持家基因的 } C_t \text{ 值})}}$$

本研究中 *Nlrp3*、*Asc*、*Il1 β* 、*Caspase1* 引物序列依据课题组先前研究^[16]并由 Thermo Scientific 公司负责合成。

1.5 统计学处理

数据应用 SPSS 22.0 统计软件分析,实验结果均以均数加标准差表示,且所有实验均重复 3 次。数据统计处理使用单因素方差分析 (ANOVA) 并进行多组之间均数的差异性检验, $p < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 元宝枫籽油干预对 LPS 处理后小鼠体重的影响

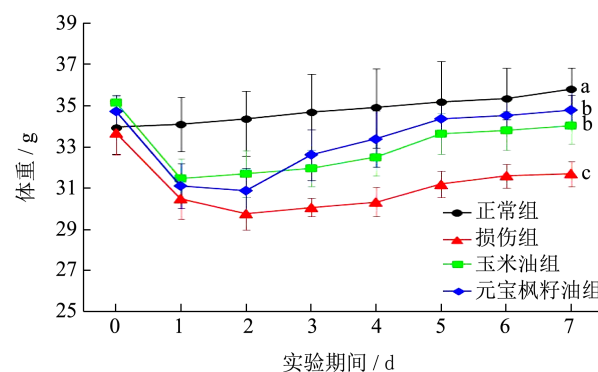


图 1 元宝枫籽油对 LPS 处理后小鼠体重变化的影响

Fig.1 Effects of *Acer truncatum* Bunge seed oil on body weight changes in LPS-treated mice

注: 不同字母表示差异显著 ($p < 0.05$)。

如图 1 所示,实验开始前各组小鼠体重均无显著性差异 ($p > 0.05$)。相比于正常组小鼠体重而言,LPS 腹腔注射处理能显著造成小鼠体重下降 ($p < 0.05$)。造模后小鼠分别进行灌胃干预,结果显示,各组小鼠体重均呈升高趋势。相较初始体重,正常组小鼠体重增长了 4.76%。观察其他另外三组小鼠体重发现,相较初始体重,玉米油组小鼠体重减轻了 3.17%,而损伤

组小鼠体重减轻了 5.20%，但这两组小鼠之间的体重变化无显著性差异 ($p>0.05$)。元宝枫籽油组小鼠体重较初始体重增长了 0.17%，其恢复初始体重程度较玉米油组和损伤组大，且具有显著性差异 ($p<0.05$)。

表 1 元宝枫籽油干预对 LPS 处理后小鼠脏器指数的影响 (%)

Table 1 Effects of *Acer truncatum* Bunge seed oil on organ index in LPS-treated mice

组别	心脏指数	肝脏指数	脾脏指数	肾脏指数	睾丸指数
正常组	0.46±0.02 ^{ns}	0.43±0.26 ^b	0.27±0.04 ^b	0.76±0.04 ^{ns}	0.45±0.04 ^a
损伤组	0.49±0.03	0.47±0.02 ^a	0.49±0.14 ^a	0.80±0.05	0.36±0.05 ^b
玉米油组	0.46±0.02	0.49±0.31 ^{ab}	0.40±0.09 ^{ab}	0.81±0.04	0.39±0.06 ^{ab}
元宝枫籽油	0.46±0.05	0.44±0.32 ^{ab}	0.42±0.11 ^a	0.81±0.09	0.39±0.09 ^{ab}

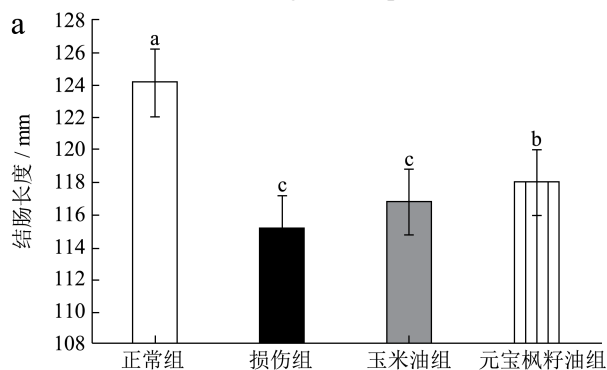
注：不同字母表示差异显著 ($p<0.05$)；ns：表示无显著性差异。

如表 1，各组之间小鼠的心脏指数及肾脏指数差异都无统计学意义 ($p>0.05$)。而 LPS 损伤组小鼠的肝脏及脾脏指数较正常组小鼠升高，睾丸指数较正常组小鼠降低，且具有显著性差异 ($p>0.05$)，这一结果提示了 LPS 处理对小鼠的肝脏、脾脏、睾丸具有潜在的毒性作用。而玉米油组和元宝枫籽油组小鼠的肝脏指数及脾脏指数较 LPS 损伤组小鼠降低，其睾丸指数较 LPS 损伤组小鼠升高，但无显著性差异 ($p>0.05$)。

2.3 元宝枫籽油干预对 LPS 处理后小鼠结肠

长度，重量与长度比的影响

结肠的重量、长度是评价肠道炎症疾病所致肠壁增厚程度和炎症强度的重要指标，特别是结肠重量与长度比能有效反映疾病发展的进程^[17]。与正常组相比而言，LPS 处理能显著造成小鼠结肠长度缩短至 11.52 cm (图 2, $p<0.05$)。同时，相比于正常组小鼠，LPS 处理还显著造成了结肠重量与长度比的升高至 4.91 mg/mm ($p<0.05$)。而元宝枫籽油干预 7 d 后肠道损伤小鼠结肠长度恢复至 11.82 cm，改善了 LPS 所致肠道炎症模型小鼠结肠缩短的情况。此外，元宝枫籽油还能有效降低模型组小鼠结肠重量 (至 508.26 mg) 和结肠重量与长度比 (4.21 mg/mm) ($p<0.05$)。



2.2 元宝枫籽油干预对 LPS 处理后小鼠脏器指数的影响

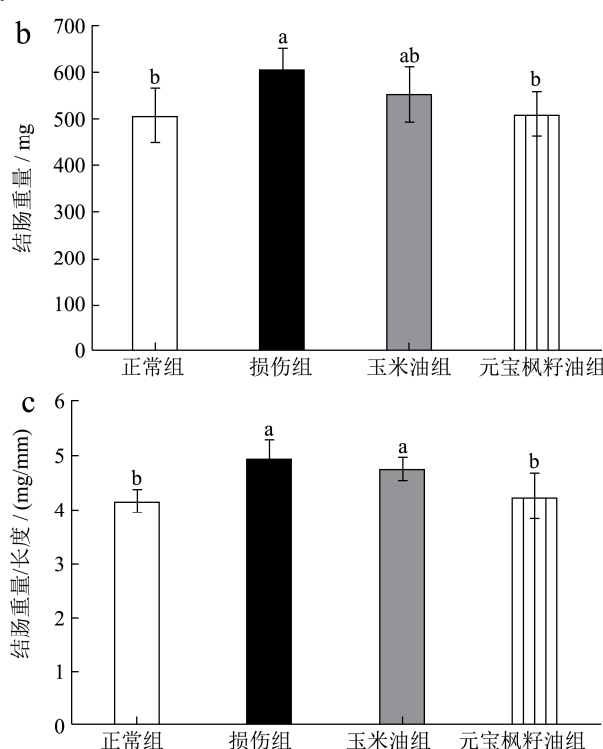


图 2 元宝枫籽油干预对 LPS 处理后小鼠结肠长度 (a)、结肠重量 (b) 及结肠重量与长度比 (c) 的影响

Fig.2 Effects of *Acer truncatum* Bunge seed oil on colon length (a), weight (b) and colon weight to length (c) in LPS-treated mice

注：字母不同表示组间差异显著 ($p<0.05$)。下图同。

2.4 元宝枫籽油干预对 LPS 处理后小鼠结肠病理改变的影响

通过观察组织切片发现 (图 3a~d)，与正常组相比，LPS 诱导损伤组小鼠结肠组织出现肠壁结构破坏，上皮细胞坏死，炎性细胞浸润严重等病理改变。玉米油干预对 LPS 肠道损伤模型小鼠结肠组织黏膜的毁

损, 炎性细胞浸润等情况没有得到较好改善。而连续灌胃元宝枫籽油 7 d 后, 小鼠结肠组织上皮结构明显恢复正常, 隐窝腺较完整, 炎性细胞浸润减少, 绒毛清晰。结果表明元宝枫籽油能够改善肠道黏膜屏障功能, 促进黏膜修复。

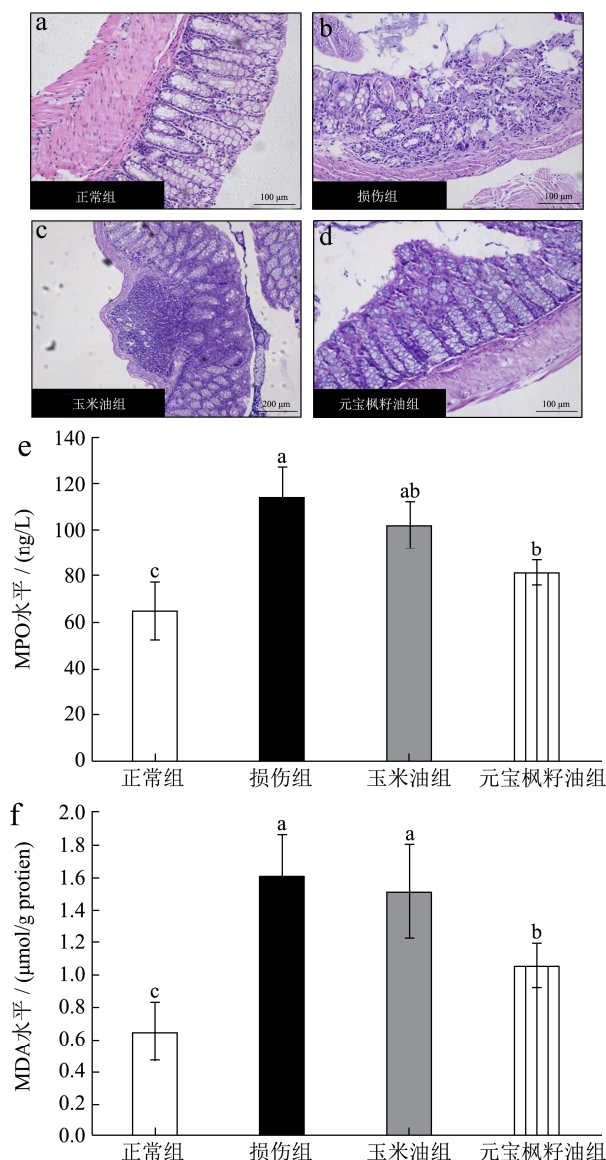


图3 枫籽油干预对 LPS 处理后小鼠结肠病理改变 (a~d) 及结肠中 MPO 与 MDA 水平 (e、f) 的影响

Fig.3 Effects of *Acer truncatum* Bunge seed oil on pathological changes, MPO and MDA in colon of LPS-treated mice

2.5 元宝枫籽油干预对 LPS 处理后小鼠结肠组织中 MPO 酶活性与 MDA 水平的影响

MPO 是嗜中性多形核白细胞 (polymorphonuclear neutrophil, PMN) 的特异性功能标志并能够反映其活化程度, 主要存在于髓系细胞的嗜苯胺蓝颗粒中。MPO 的活化状态不仅与急性或慢性炎症状态下组织

损伤有关, 还参与细胞间信号作用的各种生理过程并能作为判断肠道炎症强度的有效指标^[18]。同时, 机体组织中过度的炎性反应同时也会引发细胞的氧化应激损伤, 引发细胞膜脂质过氧化反应从而造成 MDA 与氧化/亚硝化应激生物标志物 4-羟基壬烯醛 (4-hydroxynonenal, 4-HNE) 的升高^[19]。由图 3b 可知, 腹腔注射 LPS 处理能显著引发小鼠结肠中 MPO 酶活性及 MDA 水平的升高 ($p < 0.05$)。相反, 元宝枫籽油处理则能显著抑制 LPS 诱发的炎症小鼠结肠中 MPO 活性及 MDA 水平 ($p < 0.05$), 且相较于 LPS 损伤组小鼠降低了 28.25%和 35.10%, 而较玉米油组降低了 19.63%和 30.43%。本研究结果提示元宝枫籽油可能通过调控 MPO 酶活性, 减轻中性粒细胞浸润程度; 同时减轻损伤小鼠肠道中过度氧化应激产物 MDA 的生成, 从而逆转 LPS 所造成的小鼠结肠组织的炎性反应及氧化应激损伤。此外, 研究报道神经酸干预能够增强大鼠脑组织中谷胱甘肽还原酶 (glutathione reductase, GR) 及 γ -谷氨酰半胱氨酸连接酶 (γ -glutamate cysteine ligase, γ -GCL) 活力, 升高大脑还原型谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 含量并降低 MDA 水平从而改善 1-溴丙烷染毒所造成的大鼠认知功能损伤^[20]。

2.6 元宝枫籽油干预对 LPS 处理后小鼠血清中炎性细胞因子水平的影响

在炎症反应的刺激下, 机体的免疫系统会发生紊乱, 而免疫细胞会过度分泌一系列炎性细胞因子 (如 IL-1 β , IL-6, IL-18, TNF- α)^[21]。其中, IL-1 β 与 TNF- α 具有协同作用, 能共同诱导内皮细胞表达黏附分子, 促进白细胞黏附, 从而导致肠道组织损伤加重^[22,23]。而 IL-6 和 IL-18 则是通过加强炎性细胞因子的级联反应, 造成炎症介质大量产生, 最终引起局部炎症反应^[24]。如图 4 所知, 相较于正常组, LPS 损伤组的小鼠血清中 IL-1 β 、IL-6、IL-18、TNF- α 水平均有显著提高 ($p < 0.05$)。而玉米油组小鼠血清中细胞因子水平与 LPS 损伤组小鼠相比, IL-1 β 、IL-6、IL-18 水平均有下降, TNF- α 水平则略有上升, 但差异均无统计学意义 ($p > 0.05$)。相反, 元宝枫籽油组小鼠血清中细胞因子水平与 LPS 损伤组小鼠相比, IL-1 β 水平下降 27.40%、IL-6 水平下降 24.80%、IL-18 水平下降 17.80%、TNF- α 水平下降 30.50%, 且差异均有统计学意义 ($p < 0.05$)。元宝枫籽油组小鼠血清中细胞因子含量与玉米油组相比, IL-1 β 下降 22.70%、IL-6 下降 20.40%、IL-18 下降 9.90%、TNF- α 下降 31.80%, 且差异均有统计学意义

($p < 0.05$)。结果表明, 元宝枫籽油干预能够下调小鼠血清中细胞因子水平, 控制肠道组织中炎症反应的进程。此外, 李彤与孙红伟的^[12]研究结果也提示, 元宝枫油可明显降低一次性力竭运动大鼠体内血清中炎症细胞因子 IL-1 β 和 TNF- α 的水平。

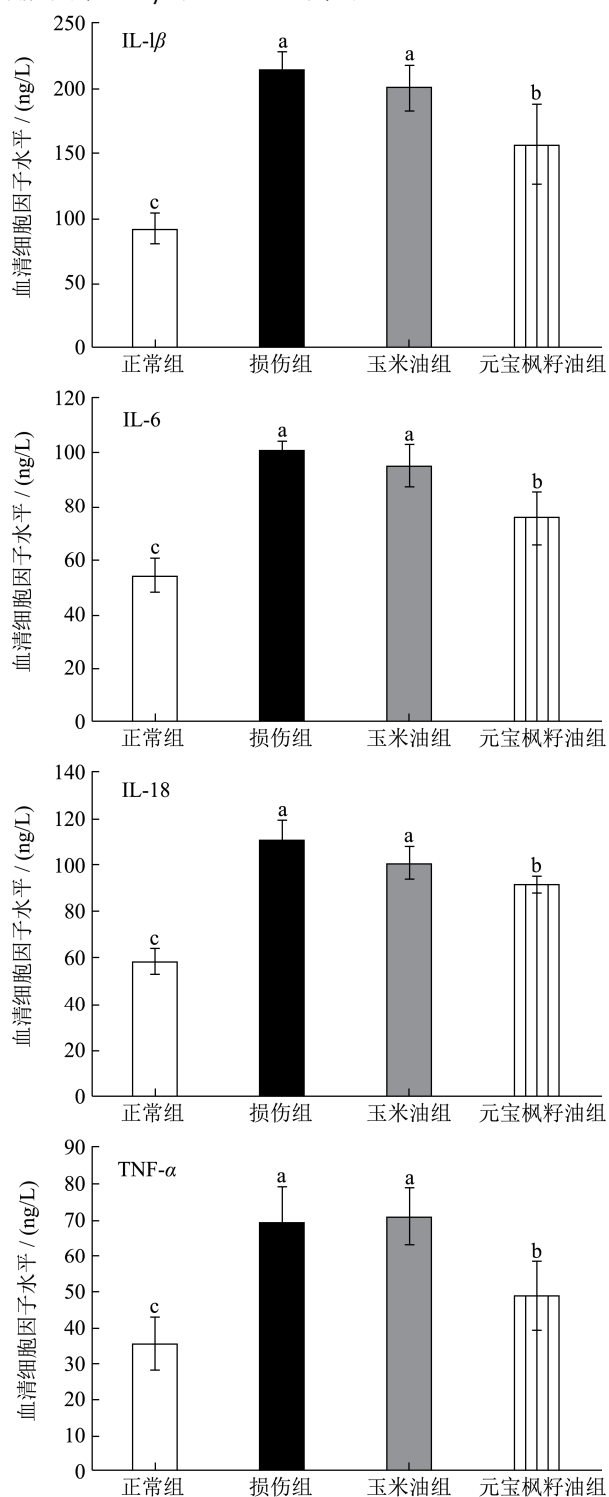


图4 元宝枫籽油对LPS损伤小鼠血清中IL-1 β 、IL-6、IL-18和TNF- α 含量的影响

Fig.4 Effects of *Acer truncatum* Bunge seed oil on serum levels of IL-1 β , IL-6, IL-18 and TNF- α in LPS-induced mice

2.7 元宝枫籽油干预对LPS处理后小鼠结肠组织中炎性细胞因子水平的影响

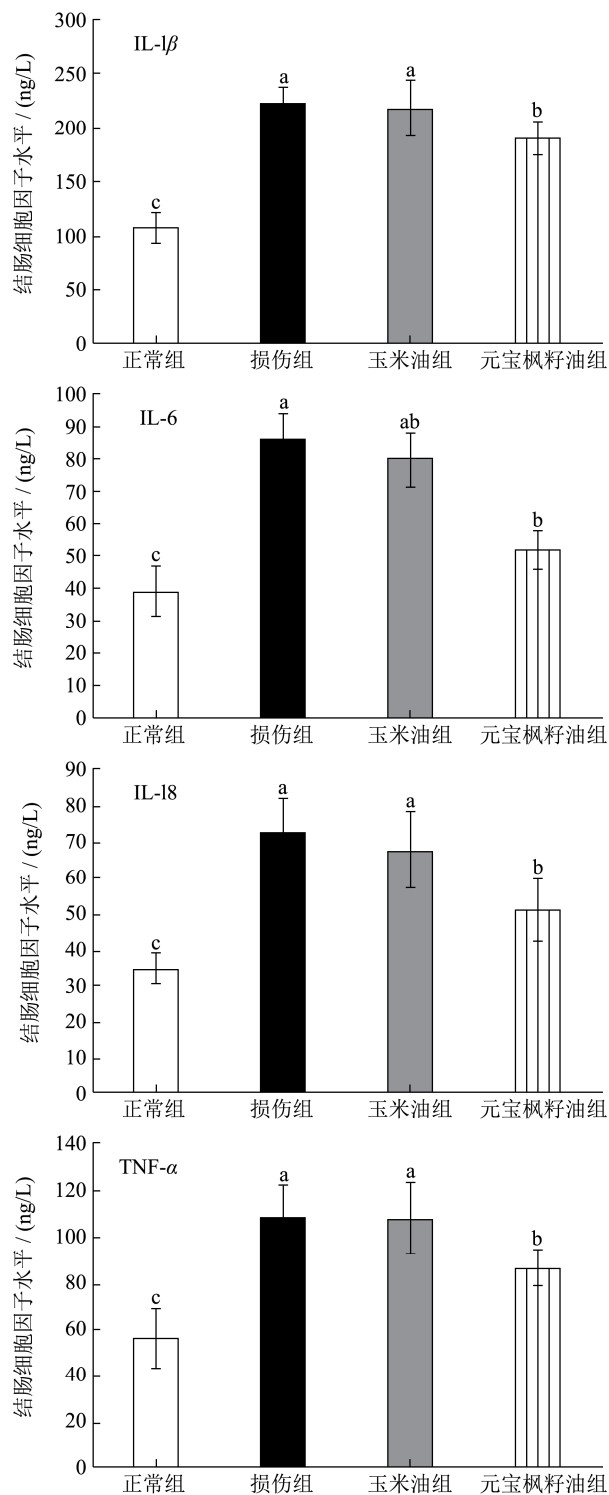


图5 元宝枫籽油对LPS损伤小鼠结肠组织中的IL-1 β 、IL-6、IL-18和TNF- α 含量的影响

Fig.5 Effects of *Acer truncatum* Bunge seed oil on the colon levels of IL-1 β , IL-6, IL-18 and TNF- α in LPS-induced mice
结肠组织中IL-1 β 、IL-6、IL-18、TNF- α 水平的升

高是肠道炎症的重要特征之一^[25]。由于免疫系统处于紊乱状态,异常激活的 TNF- α 通过诱导杯状细胞丢失,破坏结肠黏膜结构,减薄结肠黏膜层厚度,促使炎性细胞因子侵袭,进而加速炎症发展^[26]。元宝枫籽油含有大量的神经酸,神经酸不仅有助于脑部疾病治疗,还具有增强机体免疫力的作用^[27]。王熙才等^[10]研究结果也提示,元宝枫籽油处理能够有效促进小鼠体内淋巴细胞增殖,增强小鼠免疫系统。如图 5 所示, LPS 损伤组的小鼠结肠组织中 IL-1 β 、IL-6、IL-18、TNF- α 水平相较于正常组均有显著提高 ($p < 0.05$)。玉米油组小鼠结肠组织中细胞因子水平与损伤组相比, IL-6 与 IL-18 水平略有下降,而 IL-1 β 、TNF- α 水平略有上升,但差异都无统计学意义 ($p > 0.05$); 元宝枫籽油组小鼠结肠组织中细胞因子水平与 LPS 损伤组相比, IL-1 β 下降 14.50%、IL-6 下降 23.10%、IL-18 下降 27.40%、TNF- α 下降 20.90%,且差异具有统计学意义 ($p < 0.05$)。元宝枫籽油组小鼠结肠组织中细胞因子水平与较玉米油组相比, IL-1 β 下降 12.80%、IL-6 下降 18.30%、IL-18 下降 19.80%、TNF- α 下降 20.30%,且差异具有统计学意义 ($p < 0.05$)。结果提示元宝枫籽油可能通过纠正肠道免疫系统,抑制免疫细胞异常分泌炎性细胞因子,进而改善肠道炎症疾病。

2.8 元宝枫籽油干预对 LPS 处理后小鼠结肠组织中 Nlrp3, Asc, Caspase1 和 Il1 β 的 mRNA 转录影响

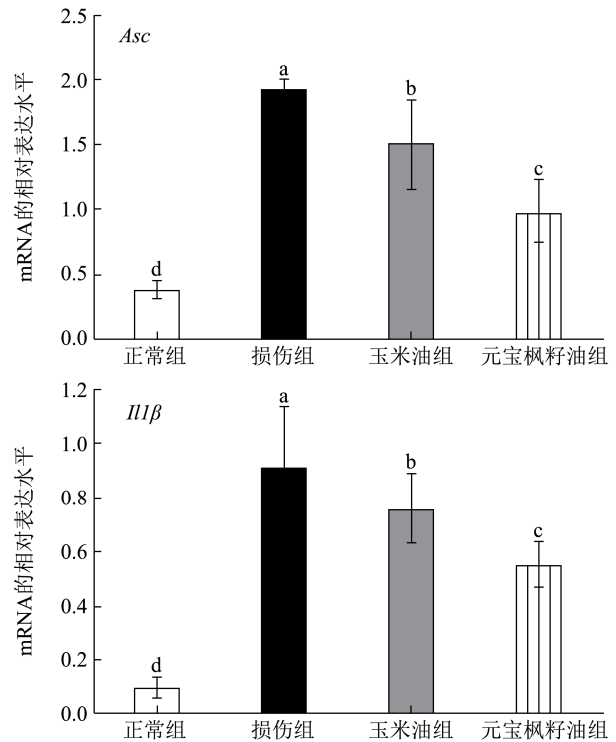
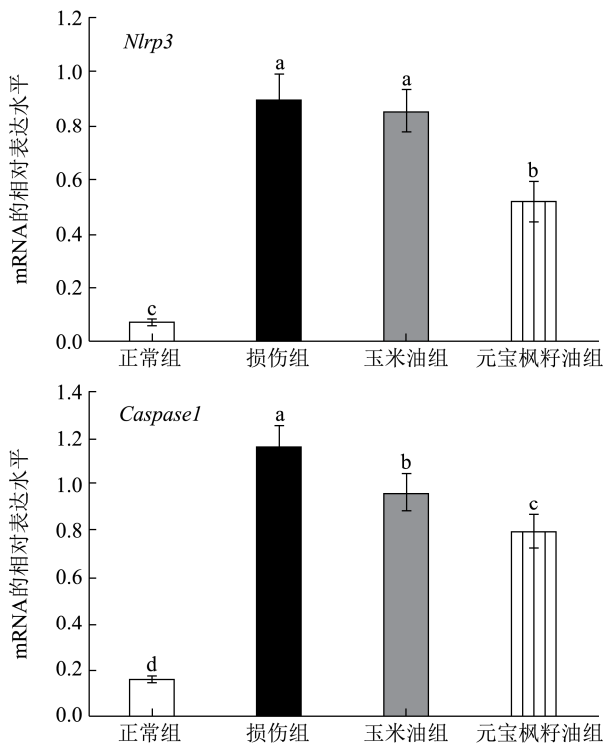


图 6 元宝枫籽油对 LPS 损伤小鼠结肠组织中 *Nlrp3*、*Asc*、*Caspase1* 和 *Il1 β* 的 mRNA 转录影响

Fig.6 Effects of *Acer truncatum* Bunge seed oil on mRNA levels of *Nlrp3*, *Asc*, *caspase-1* and *Il1 β* in colon of LPS-treated mice

亚油酸是一种重要的功能性多不饱和脂肪酸,具有降血脂,抗癌,预防动脉粥样硬化等生理功能,同时还参与机体免疫调节^[28]。有研究认为亚油酸对炎症反应具有积极作用,能够抑制 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和 caspase-1 等相关因子的表达,促进伤口愈合,缓解炎症水平^[29,30]。但是,亚油酸的氧化产物能增加炎症介质生成,改变免疫细胞功能,从而加速诱导炎症反应的发生^[31,32]。乔谦等^[7]调查了我国天然分布区内 14 个种源的元宝枫籽油后发现,元宝枫籽油中富含约 91.47% 的不饱和脂肪酸[其中,亚油酸 (32.97%)、油酸 (25.19%)、神经酸 (5.76%)、亚麻酸 (2.76%)]及丰富的维生素 E,具有良好的抗氧化作用。而玉米油则是以 ω -6 脂肪酸亚油酸为主的一类食用植物油,亚油酸含量高达 51.7%^[33]。如图 6 示, LPS 处理显著造成小鼠结肠组织中 *Nlrp3*、*Asc*、*Caspase1* 和 *Il1 β* 的 mRNA 表达水平增加 ($p < 0.05$)。与正常组小鼠相比, LPS 处理的模型组小鼠结肠中 *Nlrp3* 表达水平上升约 11.49 倍, *Asc* 表达水平上升 5.16 倍, *Caspase1* 表达水平升高 7.17 倍和 *Il1 β* 表达水平升高 10.23 倍。而分别经玉米油和元宝枫籽油处理后, LPS 处理后小鼠结肠组织中 *Nlrp3*、*Asc*、*Caspase-1* 和 *Il-1 β* 的 mRNA 转录水平均明显低于 LPS 模型小鼠 ($p < 0.05$)。与 LPS 损伤组相比,元宝枫籽油干预能够分别抑制 *Nlrp3*

(41.80%)、*Asc* (49.85%)、*Caspase-1* (31.28%) 和 *Il-1 β* (39.83%) 的 mRNA 表达。Xie 等^[27]研究结果也同时提示经 18 周饲喂富含亚油酸 (7%玉米油提供) 的新鲜饲料能有效下调自发结肠炎模型鼠 (IL-10^{-/-}小鼠) 结肠组织中 *Il-1 β* 等炎症因子的表达水平。

3 结论

本研究发现,元宝枫籽油能有效缓解 LPS 诱导肠道损伤小鼠体重减轻和结肠缩短,抑制结肠组织上皮细胞凋亡,修复炎症反应所致肠黏膜损伤,进而恢复肠道屏障功能。能通过下调 NLRP3 炎症小体相关分子 *Nlrp3*、*Asc*、*Caspase1* 和 *Il1 β* 的 mRNA 表达来改善肠道炎症反应。此外,元宝枫籽油还能减少结肠炎小鼠血清与结肠组织中炎症细胞因子 (TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-18) 的生成,降低结肠中 MPO 活性及 MDA 生产水平。综上所述,元宝枫籽油对肠道炎症损伤小鼠具有较好的组织修复和抗炎作用。

参考文献

- [1] O'Keefe S J. Diet, microorganisms and their metabolites, and colon cancer [J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2016, 13(12): 691-706
- [2] Pérez J C. Fungi of the human gut microbiota: roles and significance [J]. *International Journal Medical Microbiol*, 2021, 311(3): 151490
- [3] Marzano M, Fosso B, Piancone E, et al. Stem cell impairment at the host-microbiota interface in colorectal cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(5): 996
- [4] 程芮,张澍田.早期结直肠癌与癌前病变的精准筛查方法[J]. *中华内科杂志*,2020,59(2):145-147
CHENG Rui, ZHANG Shu-tian. Accurate diagnosis of colorectal cancer and precancerous diseases [J]. *China Journal of Internal Medicine*, 2020, 59(2): 145-147
- [5] 朱红艳,邢文婧,任欢.慢性炎症与结直肠癌发生发展相关性的研究进展[J]. *国际免疫学杂志*,2015,38(1):24-26
ZHU Hong-yan, XING Wen-jing, REN Huan. The latest progress in the development of the correlation between chronic inflammation and colorectal cancer [J]. *International Journal of Immunology*, 2015, 38(1): 24-26
- [6] 李延青.我国现阶段结直肠癌筛查新模式:机会性筛查[J]. *中华医学信息导报*,2020,35(22):18-19
LI Yan-qing. A new model of colorectal cancer screening in China: opportunistic screening [J]. *China Medical News*, 2020, 35(22): 18-19
- [7] 乔谦,司芬芬,叶美静,等.元宝枫种子含油率与脂肪酸组分多样性分析[J]. *中国粮油学报*,2018,33(4):56-63
- [8] QIAO Qian, SI Fen-fen, YE Mei-jing, et al. Diversity analysis on seed oil content and fatty acids composition of *Acer truncatum* [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2018, 33(4): 56-63
- [9] Wu D, Wu X D, You X F, et al. Inhibitory effects on bacterial growth and beta-ketoacyl-ACP reductase by different species of maple leaf extracts and tannic acid [J]. *Phytotherapy Research*, 2010, 24 Suppl 1: S35-41
- [10] Zhao W H, Zhang J F, Zhe Wang, et al. The extract of leaves of *Acer truncatum* Bunge: a natural inhibitor of fatty acid synthase with antitumor activity [J]. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2006, 21(5): 589-596
- [11] 王熙才,左曙光,邱宗海,等.艾舍尔软胶囊增强小鼠免疫力的实验研究[J]. *昆明医学院学报*,2008,29(6):71-75,89
WANG Xi-cai, ZUO Shu-guang, QIU Zong-hai, et al. Investigation of the immunity-enhancement capability of the *Acer* capsule in mice [J]. *Journal of Kunming Medical University*, 2008, 29(6): 71-75, 89
- [12] 孙朋浩,薛玉环,吴永继,等.元宝枫籽对小鼠肠道菌群生态的影响[J]. *食品科学*,2020,41(11):184-193
SUN Peng-hao, XUE Yu-huan, WU Yong-ji, et al. Effect of *Acer truncatum* seeds on intestinal flora of mice [J]. *Food Science*, 2020, 41(11): 184-193
- [13] 李彤,孙红伟.元宝枫油对一次性力竭运动大鼠氧化应激和炎症反应的影响[J]. *重庆医学*,2017,46(22):3043-3045
LI Tong, SUN Hong-wei. Effects of *Acer truncatum* oil on oxidative stress and inflammatory reaction in rats undergoing one-time exhaustive exercise [J]. *Chongqing Medicine*, 2017, 46(22): 3043-3045
- [14] 王性炎,谢胜菊,王高红.中国富含神经酸的元宝枫籽油应用研究现状及前景[J]. *中国油脂*,2018,43(12):93-95,104
WANG Xing-yan, XIE Sheng-ju, WANG Gao-hong. Application research status and prospect of *Acer truncatum* Bunge seed oil rich in nervonic acid in China [J]. *China Oils and Fats*, 2018, 43(12): 93-95, 104
- [15] Gil-Cardoso K, Comitato R, Ginés I, et al. Protective effect of proanthocyanidins in a rat model of mild intestinal inflammation and impaired intestinal permeability induced by LPS [J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2019, 63(8): e1800720
- [16] 赵晓,张永,张新胜,等.不同脂肪酸组成的油脂对 LPS 诱导的小鼠肠道炎症的影响[J]. *中国食物与营养*,2017,23(1):60-63
ZHAO Xiao, ZHANG Yong, ZHANG Xin-sheng, et al.

- Effect of oil composed of different fatty acids on intestinal inflammation induced by LPS in C57BL/6J mice [J]. *Food and Nutrition in China*, 2017, 23(1): 60-63
- [16] 吴铭,宋家乐,任源,等.芸薹属紫菜蔬乙醇提取物对葡聚糖硫酸钠致小鼠结肠炎的预防作用[J].*现代食品科技*,2019, 35(9):153-162
WU Ming, SONG Jia-le, REN Yuan, et al. Preventive effects of purple brassica vegetables ethanolic extracts in DSS induced mice colitis [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2019, 35(9): 153-162
- [17] 陈颖,周仁民,陈欣涛,等.1,25-二羟维生素D3对小鼠急性结肠炎模型的干预研究[J].*医学综述*,2020,26(3):607-612
CHEN Ying, ZHOU Ren-min, CHEN Xin-tao, et al. Study on Intervention of 1,25-Dihydroxyvitamin D3 on acute colitis model in mice [J]. *Medical Recapitulate*, 2020, 26(3): 607-612
- [18] Lee J Y. Anti-inflammatory effects of sinapic acid on 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitis in mice [J]. *Archives of Pharmacal Research*, 2018, 41(2): 243-250
- [19] Wu L, Xiong X, Wu X, et al. Targeting oxidative stress and inflammation to prevent ischemia-reperfusion injury [J]. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2020, 13: 28
- [20] 袁华,王清华,王韵阳,等.二十二碳六烯酸和神经酸对1-溴丙烷染毒大鼠学习记忆的影响[J].*中华劳动卫生职业病杂志*,2013,31(11):806-810
YUAN Hua, WANG Qing-hua, WANG Yun-yang, et al. Effect of docosahexaenoic acid and nervonic acid on the damage of learning and memory abilities in rats induced by 1-bromopropane [J]. *Chinese Journal of Industrial Hygiene and Occupational Diseases*, 2013, 31(11): 806-810
- [21] Wang Z, Liang Y, Yu J, et al. Guchang Zhixie Wan protects mice against dextran sulfate sodium-induced colitis through modulating the gut microbiota in colon [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2020, 260: 112991
- [22] Wang L, An J, Song S, et al. Electroacupuncture preserves intestinal barrier integrity through modulating the gut microbiota in DSS-induced chronic colitis [J]. *Life Science*, 2020, 261: 118473
- [23] Shi L, Dai Y, Jia B, et al. The inhibitory effects of Qingchang Wenzhong granule on the interactive network of inflammation, oxidative stress, and apoptosis in rats with dextran sulfate sodium-induced colitis [J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2019, 120(6): 9979-9991
- [24] Chu H, Tao X, Sun Z, et al. Galactooligosaccharides protects against DSS-induced murine colitis through regulating intestinal flora and inhibiting NF- κ B pathway [J]. *Life Science*, 2020, 242: 117220
- [25] Guo G, Shi F, Zhu J, et al. Piperine, a functional food alkaloid, exhibits inhibitory potential against TNBS-induced colitis via the inhibition of I κ B- α /NF- κ B and induces tight junction protein (claudin-1, occludin, and ZO-1) signaling pathway in experimental mice [J]. *Human & Experimental Toxicology*, 2020, 39(4): 477-491
- [26] Sun J, Chen H, Kan J, et al. Anti-inflammatory properties and gut microbiota modulation of an alkali-soluble polysaccharide from purple sweet potato in DSS-induced colitis mice [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 153: 708-722
- [27] 刘速速,周庆礼,孙华,等.神经酸的功能及提纯工艺研究进展[J].*中国油脂*,2019,44(10):142-146
LIU Su-su, ZHOU Qing-li, SUN Hua, et al. Advance in function and purification technology of nervonic acid [J]. *China Oils and Fats*, 2019, 44(10): 142-146
- [28] 刘丽娜,缪锦来,郑洲.共轭亚油酸的生理功能综述[J].*食品安全质量检测学报*,2020,11(8):2552-2557
LIU Li-na, MIAO Jin-lai, ZHENG Zhou. Review on the physiological function of conjugated linoleic acid [J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2020, 11(8): 2552-2557
- [29] Xie M, Yang J, Zhang J, et al. Effects of linoleic acid-rich diet on plasma profiles of eicosanoids and development of colitis in Il-10^{-/-} mice [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(29): 7641-7647
- [30] Kim H Y, Rho S H, Lim J H, et al. Protective effect of linoleic acid against inflammatory reactions by mast cell via caspase-1 cascade pathways [J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2019, 43(8): e12932
- [31] 姜春姣,江芸,耿志明,等.亚油酸氧化产物-羟基十八碳二烯酸的研究进展[J].*食品科学*,2018,39(7):278-284
JIANG Chun-jiao, JIANG Yun, GENG Zhi-ming, et al. Progress in research on hydroxyoctadecaenoic acids as oxidation products of linoleic acid [J]. *Food Science*, 2018, 39(7): 278-284
- [32] Tang Q, Cang S, Jiao J, et al. Integrated study of metabolomics and gut metabolic activity from ulcerative colitis to colorectal cancer: the combined action of disordered gut microbiota and linoleic acid metabolic pathway might fuel cancer [J]. *Journal of Chromatography A*, 2020, 1629: 461503