

铁皮石斛多糖对小肠上皮细胞肠道屏障的保护作用

张雅欣¹, 李拥军^{2*}, 梁嘉熹¹, 刘祎帆^{1*}

(1. 仲恺农业工程学院轻工食品学院, 广东广州 510550)

(2. 广东江门中医药职业学院南药学院, 广东江门 529000)

摘要: 该研究用铁皮石斛多糖 (*Dendrobium officinale* Polysaccharide, DOP) 诱导 IEC-6 肠上皮细胞分泌的外泌体探讨对 TNF- α 诱导的小肠上皮细胞肠道屏障保护作用。超速离心提取外泌体, 透射电观察外泌体形态, Western blot 检测标志蛋白 HSP70、TSG101 和 CD63, 纳米颗粒跟踪分析 (Nanoparticle Tracking Analysis, NTA) 检测外泌体粒径; Western blot 检测铁皮石斛多糖对肠上皮组织紧密连接蛋白表达的影响, 测谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathione Peroxidase, GSH-PX)、超氧化物歧化酶 (Superoxide Dismutase, SOD) 和过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 的活性。结果表明: 超速离心法获得的颗粒形状呈圆盘状, 粒径为 30~150 nm, 含标志性蛋白 TSG101、HSP70 和 CD63, 鉴定为外泌体; DOP 孵育产生的外泌体 DE 可被 IEC-6 细胞摄取, DOP 组小鼠 IEC-6 上皮细胞 ZO-1、Occludin 和 MUC1 蛋白的表达量分别增加了 104.63%、70.09% 和 52.34%, 抗氧化酶 SOD、CAT 和 GSH-PX 活性分别提高了 52.16%、43.40%、122.89%。综上所述, 铁皮石斛多糖通过外泌体提高小肠上皮细胞抗氧化酶活性, 增强紧密连接蛋白表达来修护肠道屏障功能损伤, 为炎症性肠病的治疗提供参考。

关键词: 外泌体; 铁皮石斛多糖; 肠道屏障; 紧密连接蛋白; 抗氧化酶

文章编号: 1673-9078(2025)05-28-35

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.5.0399

Protective Effect of *Dendrobium officinale* Polysaccharide on Small Intestinal Epithelial Barrier

ZHANG Yaxin¹, LI Yongjun^{2*}, LIANG Jiayi¹, LIU Huifan^{1*}

(1. College of Light Industry and Food, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510550, China) (2. School of Lingnan Chinese Medicine and Pharmacy, Guangdong Jiangmen Chinese Medical College, Jiangmen 529000, China)

Abstract: Exosome secretion by IEC-6 intestinal epithelial cells was induced by *Dendrobium officinale* polysaccharide (DOP) to investigate the TNF- α -induced protective effect of the small intestinal epithelial barrier. The secreted exosomes were extracted by ultracentrifugation. The morphology of exosomes was observed by transmission electron microscopy, the marker proteins HSP70, TSG101, and CD63 were detected by western blot, and the particle sizes of exosomes were determined by nanoparticle tracking analysis. The effects of DOP on the expression of tight junction proteins in intestinal epithelial tissues

引文格式:

张雅欣,李拥军,梁嘉熹,等.铁皮石斛多糖对小肠上皮细胞肠道屏障的保护作用[J].现代食品科技,2025,41(5):28-35.

ZHANG Yaxin, LI Yongjun, LIANG Jiayi, et al. Protective effect of *Dendrobium officinale* polysaccharide on small intestinal epithelial barrier [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(5): 28-35.

收稿日期: 2024-03-28

基金项目: 江门市基础与应用基础研究重点项目 (2021030103330007214); 广东省普通高校特色创新项目 (自然科学) (KA21031F8)

作者简介: 张雅欣 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: 1261685664@qq.com

通讯作者: 刘祎帆 (1990-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物开发, E-mail: lm_zkng@163.com; 共同通讯作者: 李拥军 (1980-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品营养与安全检测, E-mail: scaulyj@163.com

were clarified by western blot. The activities of glutathione peroxidase (GSH-PX), superoxide dismutase (SOD), and catalase (CAT) were measured. The effects of DOP on the expression of tight junction proteins in the intestinal epithelium were detected by Western blot, and the activities of oxidative stress kinase GSH-PX, SOD, and CAT were determined. The results showed that the particles were disc-shaped (diameter: 30~150 nm) and contained the signature proteins TSG101, HSP70, and CD63. The particles were identified as exosomes. The exosome DE produced by DOP incubation can be taken up by IEC-6 cells. The expression of ZO-1, Occludin, and MUC1 proteins in IEC-6 cells of mice in the DOP group increased by 104.63%, 70.09%, and 52.34%, respectively. The activities of antioxidant enzymes SOD, CAT, and GSH-PX were increased by 52.16%, 43.40%, and 122.89%, respectively. In summary, DOP can improve the antioxidant enzyme activity and enhance the expression of tight junction proteins in intestinal epithelial cells through exosomes to repair intestinal barrier damage.

Key words: exosome; *Dendrobium officinale* polysaccharide; intestinal barrier; tight junction protein; antioxidant enzyme

炎症性肠病 (Inflammatory Bowel Diseases, IBDs), 包括克罗恩病 (Crohn Disease, CD) 和溃疡性结肠炎 (Ulcerative Colitis, UC)^[1]。IBD 发病率逐年上升, 死亡率高, 不仅在欧美的西方国家高发, 而且在南美、亚洲、非洲和东欧的发展中国也是如此^[2]。肠上皮细胞由单层细胞组成, 对保存肠道至关重要。内稳态既是一个物理屏障, 也是免疫防御和细菌之间相互干扰的协调枢。肠上皮是先天免疫的一个组成部分, 通过各种机制保护粘膜屏障, 积极响应以保护宿主。IEC 提供了抵御有害腔内刺激的第一道防线, 只有当这些防线被克服时, 专业免疫细胞才会被激活。肠上皮的组成是多样的, 由多种类型的细胞组成, 这些上皮细胞通过各种功能共同作用, 以维持肠道稳态并促进宿主防御。上皮细胞间的紧密连接是肠粘膜屏障的重要组成部分, 可以防止毒素或细菌等有害物质通过肠黏膜进入体内其他组织器官和血液循环, 各种原因引起的肠粘膜屏障的损害是导致机体内环境紊乱和全身性感染的触发因素^[3]。上皮细胞上的 TLRs 受体可以识别微生物配体、与致病相关的内源性信号或肠腔内存在的饮食成分, 导致一系列的细胞反应, IEC 分泌多种趋化因子和细胞因子 (IL-6、IL-18、IL-7) 等, 能够触发促炎性和抗炎性免疫反应。口服途径是植物天然多糖的传统给药途径, 肠道可能是这些多糖功能性能的最重要的位点之一。越来越多的证据表明, 不可消化多糖首先通过多糖和肠黏膜免疫系统之间的相互作用表现出其肠道免疫调节作用^[4]。铁皮石斛为兰科石斛属的传统药材, 石斛多肽对巨噬细胞有抗炎作用^[5]。近年来研究发现, 铁皮石斛多糖是其活性成分, 有消炎、保湿、抗氧化、抗衰老等多种功效, 具有很好的食药和护肤品市场开

发前景^[6]。Xing 等^[4]提取得到分级多糖质量分数最高含量为 28.38%。本课题组之前的研究表明, 铁皮石斛多糖由 1,4 β -D-吡喃葡萄糖基组成^[7]。外泌体 (Exosome) 是有双层膜结构的细胞分泌的具胞外囊泡, 是细胞间通讯的重要介质, 具有调节免疫、炎症反应等功能^[8]。有研究证明, 肠上皮细胞之间可以通过外泌体作为信号传导的媒介^[9]。TNF- α 能诱导 IL-1、IL-6、IL-8 等促炎因子的分泌, 增强中性粒细胞、淋巴细胞、巨噬细胞等免疫细胞活性, 增强炎症反应^[10]。因此, DOP 干预下的肠外泌体对肠道屏障功能损伤和炎症反应的影响及可能作用机制有待进一步探究和完善。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

多糖样品来源于本课题组经鉴定后的铁皮石斛多糖 (DOP)。IEC-6 和 RAW264.7 细胞的培养来自中国科学院上海细胞库。

DMEM 高糖培养基、胎牛血清、链霉素与青霉素, 美国 Gibco 公司; 肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 美国 Sigma-Aldrich 公司; 磷酸缓冲液, 生工生物工程公司; PVDF 膜 Millipore、anti-CD9 Abcam、anti-HSP70、anti-GAPDH PROTEINTECH、ECL 试剂盒, 上海碧云天生物有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞实验

IEC-6 和 RAW264.7 细胞在 37 °C 的环境中培养。DEME 培养基配比为 10% (V/V) 胎牛血清、1% 链霉素与青霉素。

1.2.2 外泌体的分离和鉴定

1.2.2.1 外泌体的提取

IEC-6 细胞定植后, 加入 TNF- α 诱导 IEC-6 细胞模拟肠道炎症环境。加入 0.5 mg/mL 的 DOP 进行孵育, 模拟 DOP 干预炎症肠道。收集细胞液, 2 200 g 离心 15 min, 11 000 g 离心 35 min, 0.22 mm 过滤器过滤, 110 000 g 离心 100 min 制备外泌体, 进行后续实验。用 DOP 孵育的细胞中提取的外泌体标记为 DE, 而非 DOP 组的外泌体则标记为 NDE。

1.2.2.2 粒径检测

用无钙镁离子的 PBS 缓冲液将上述提取的外泌体稀释 40 倍, 通过 0.22 μ m 膜过滤, 并通过 NTA 评估颗粒尺寸。

1.2.2.3 电镜检测

用 1 mL PBS 洗涤并静置 15 min; 通过加入质量分数 2% 锇酸溶液来固定外泌体原来的状态; 用 PBS 清洗除去过量的固定剂; 用体积分数为 50%~100% 乙醇逐步除去样品中的水分, 并用 1 mL 丙酮置换两次, 每次静置 15 min; 用 0.5 mL 体积比为 2:1 (丙酮:包埋剂) 的浸渍液浸渍 2 h; 再用体积比为 1:1 (丙酮:包埋剂) 的浸渍液浸渍 2 h; 然后用 0.5 mL 体积比为 1:2 (丙酮:包埋剂) 的渍液浸渍过夜; 最后, 在 0.5 mL 纯包埋剂中浸渍两次, 每次 24 h; 将浸透的样品置于含有纯包埋剂的包埋板中; 将包埋板置于 65 $^{\circ}$ C 条件下进行固化 48 h; 醋酸双氧铀和醋酸铅先后各染色 10 min 再分别清洗; 使用透射电子显微镜 (Transmission Electron Microscope, TEM) 拍摄外泌体的图像。

1.2.2.4 Western blot 测外泌体标志蛋白

用 RIPA 重悬外泌体, 冰上孵育 30 min, 4 $^{\circ}$ C 13 000 g 离心 30 min, 吸取上清液, 加入 5 \times 上样缓冲液, 100 $^{\circ}$ C 加热 10 min, 冷却后分装保存。收集共培养系统的基底上端的细胞, 利用 Western blot 检测紧密蛋白表达情况。使用 BCA 蛋白分析试剂盒测定其蛋白浓度。等量蛋白的样品用 SDS-PAGE 凝胶分离, 转移到 PVDF 膜上, 用一抗孵育 24 h。第二天取出膜, PBST 洗涤 3 次 \times 10 min。按说明书用封闭液稀释二抗后孵育。避光现配现用 ECL 显影液在暗室内显影, 最后拍照记录。

1.2.3 外泌体的示踪

1.2.3.1 外泌体标记

收集包含外泌体的细胞培养上清液, 同时根据外泌体体积将 500 μ L 标记液和 2 μ L PKH67 添加到

无菌的 1.5 mL Ep 管中并作为 B 管充分混合, 将细胞培养上清液与 PKH67 染色液混合, 充分混合后在室温孵育 5 min, 使荧光染料与外泌体表面结合。加入 1 000 μ L 质量分数为 1% 的缓冲液 BSA 以停止着色 1 min, 用 BSA 缓冲液洗涤混合物, 并以 100 000 g 的超高速离心 60 min 以去除未结合的染料。离心结束后, 弃去上清, 用无菌磷酸盐缓冲盐水溶解 PKH67 标记的外泌体沉淀。

1.2.3.2 IEC-6 细胞与 PKH67 标记的外泌体摄取实验

将 IEC-6 肠上皮细胞以每孔 1×10^5 细胞的密度接种 24 孔板, 培养 24 h。除去细胞与培养上清液, 用无胎牛血清的培养基润洗细胞 3 次加入无外泌体胎牛血清 (质量分数 10%) 的培养基, 用 TNF- α 刺激 IEC-6 细胞产生炎症, 在孔中加入适量 PKH67 标记的外泌体混匀后, 置于含有 CO₂ (体积分数 5%) 的细胞培养箱中在 37 $^{\circ}$ C 下培养 24 h。将细胞培养基弃掉, 使用 PBS 洗 2~3 遍 (除去培养基中血清成分), 用质量分数为 4% 的多聚甲醛固定细胞, 用无菌 PBS 润洗 3 次, 用质量分数为 1% BSA 的 PBS 缓冲液预孵育固定的细胞爬片 30 min。孵育结束后使用 PBS 清洗 2~3 遍, 将游离染料去除, 最后使用质量分数为 4% PFA 固定液固定 30 min, 后续进行细胞核染色、共聚焦拍照等处理。

1.2.4 外泌体对巨噬细胞的炎症因子水平调控作用

1.2.4.1 外泌体与 IEC-6 细胞孵育

将 IEC-6 肠上皮细胞以每孔 1×10^5 个细胞的密度接种于 24 孔板中, 培养 24 h。加入 TNF- α 孵育, 再加入 10 μ g/mL 外泌体于含有 CO₂ (体积分数 5%) 的细胞培养箱中与其在 37 $^{\circ}$ C 下培养 24 h。收集上清液进行测定。

1.2.4.2 Western blot 检测肠上皮细胞紧密连接蛋白表达

根据蛋白提取试剂盒的说明沉淀细胞并提取蛋白质。Western blot 法检测 IEC-6 细胞中 ZO-1、Occludin、Claudin-1 和 MUC1 蛋白的表达。

1.2.4.3 抗氧化酶测定

取部分冷冻于 -80 $^{\circ}$ C 的小肠, 以生理盐水为匀浆介质制备质量分数 10% 的组织匀浆, 质量体积比为 1:9。取适量组织匀浆, 按照各试剂盒说明书步骤测定小鼠小肠组织中 GSH-PX、CAT 和 SOD 抗氧化酶的活性。

1.2.4.4 ZO-1 免疫荧光的测定

洗去细胞培养液后, 加入适量 4 wt.% 多聚甲醛,

细胞在室温下孵育 20 min。加入质量分数为 0.1% Triton-X 100 穿孔处理 10 min。用 PBS 润洗细胞 3 次。用质量分数为 3% BSA 封闭细胞 1 h。用质量分数为 3% BSA 按照 1:1 000 的比例稀释 ZO-1，移除封闭液后，加上稀释后的抗体后，4 °C 孵育 24 h。用 PBS 润洗细胞 3 次，按照 1:1 000 的稀释比例，用 3% BSA 稀释，加入抗体，室温避光孵育 2 h。用含 DAPI 的封片剂将玻片盖到载玻片上，固定好后，保存于 -20 °C 冰箱后，使用共聚焦显微镜进行拍摄。

1.3 数据分析

使用 SPSS 25.0 对实验数据进行单因素方差分析，实验表示为平均值 ± 标准差 (mean ± SD)，以 Duncan 多边检验对实验均值进行差异显著分析 **P* < 0.05，***P* < 0.01，****P* < 0.001，*****P* < 0.000 1，NS 为不显著。用 Origin 2018 对分析数据作图。

2 结果与分析

2.1 外泌体鉴定

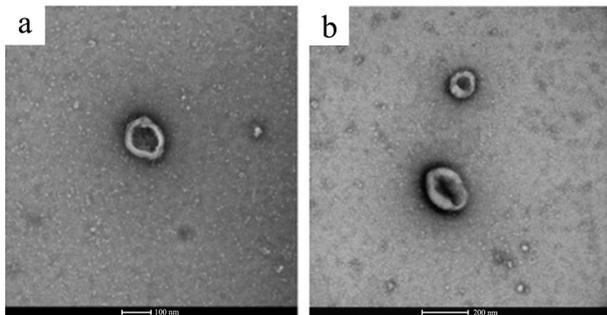


图 1 NTA 分析测量的外泌体颗粒大小

Fig.1 Exosome particle size measured by NTA analysis

注：(a) 外泌体对照组的电镜结果 60 000 ×；(b) 外泌体实验组的电镜结果 50 000 ×。

IECs 细胞被广泛用于体外模型，为了探究 DOP 作用下的肠上皮细胞 IEC-6 是否产生外泌体。当颗粒在透射电镜下观察时，它们显示为环状形态 (图 1)。用 DOP 孵育 IEC-6 细胞 24 h 后，通过超速离心法分离提取外泌体。通过粒径分析 (NTA) 鉴定外泌体的大小，结果表明外泌体的直径范围为 30~200 nm (图 2)，与 Watanabe 等^[10]报道的一致。外泌体生物标志物 CD 63 和 HSP 70^[11]采用 Western Blotting 检测，外泌体表面携带蛋白标记物如 CD63 和 HSP70 (图 3)，进一步证实成功分离得到外泌体。HSP70 在蛋白稳态中起核心作用，对蛋白质毒性胁迫起保护作用，它不仅调节在压力条件下的蛋白质的折叠状态，也参与调节基本的细胞过程如信号转

导，细胞周期调控，细胞凋亡与天然免疫^[12]。Wang 等^[13]发现 HSP70 可通过与紧密连接相关蛋白 (如 ZO-1) 相互作用以维持肠上皮屏障结构和功能的完整性。综上所述，外泌体直径为 30~200 nm 的环状囊泡，高速离心法可获得较高的纯度。外泌体含有蛋白质，参与炎症的细胞分泌的外泌体具有很高的炎症亲和性和靶向性，通过表面抗体和细胞表面受体的相互作用，将物质运送到炎症细胞，从而达到较好的抗炎^[14]。

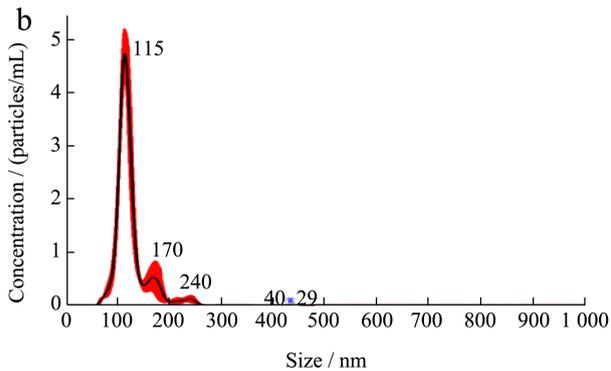
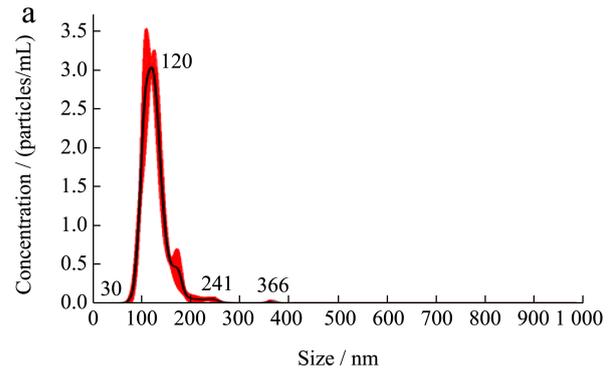


图 2 对照组 (a) 和实验组 (b) 的电子显微镜分析

Fig.2 Electron microscope analysis of the control group (a) and the experimental group (b)

注：比例尺为 50 nm。

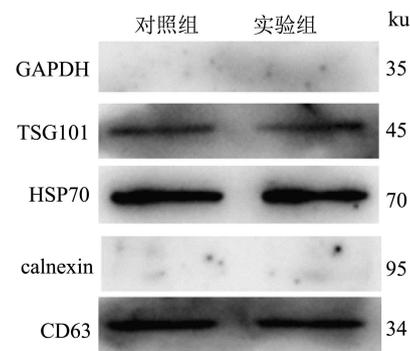


图 3 wb 检测外泌体特异性标志物 TSG101、HSP70 和 CD63

Fig.3 Exosome specific markers TSG101, HSP70 and CD63 were detected by wb

2.2 外泌体在RAW264.7巨噬细胞的摄取实验

PKH 亲脂性染料通过将其脂肪族部分插入暴露的脂质双层，具有高度荧光性和染色性。他们已经建立了在体内和体外的细胞的标记和跟踪使用，PKH 标记的细胞外囊泡在细胞靶向和功能研究中被广泛使用^[15]。为了观察 DE 被 IEC-6 细胞摄取情况，将 DE 在 TNF- α 诱导的 IEC-6 细胞中孵育。DE 和 IEC-6 细胞的荧光标记用于确定 DE 是否被 IEC-6 细胞摄取。如图 4 所示，激光扫描共聚焦成像显示，摄入 PKH67 标记的外泌体（绿色荧光）后，用 DAPI 标记的 IEC-6 细胞（蓝色荧光）内出现了绿色荧光，表明外泌体被 IEC-6 细胞摄取。Wang 等^[14]研究表明，外泌体可在肝细胞中被摄取。Linnerdal 等^[16]表明母乳外泌体能够在消化中存活并被肠细胞吸收。Mou 等^[17]用 PHK-26 标记提取的外泌体，表明外泌可被递送到小胶质细胞。

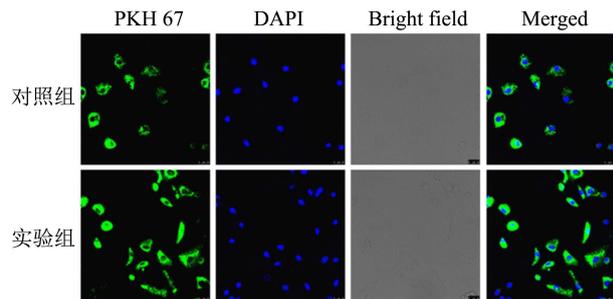


图 4 激光扫描共聚焦显微镜对 DOP 在 IEC-6 细胞中的摄取

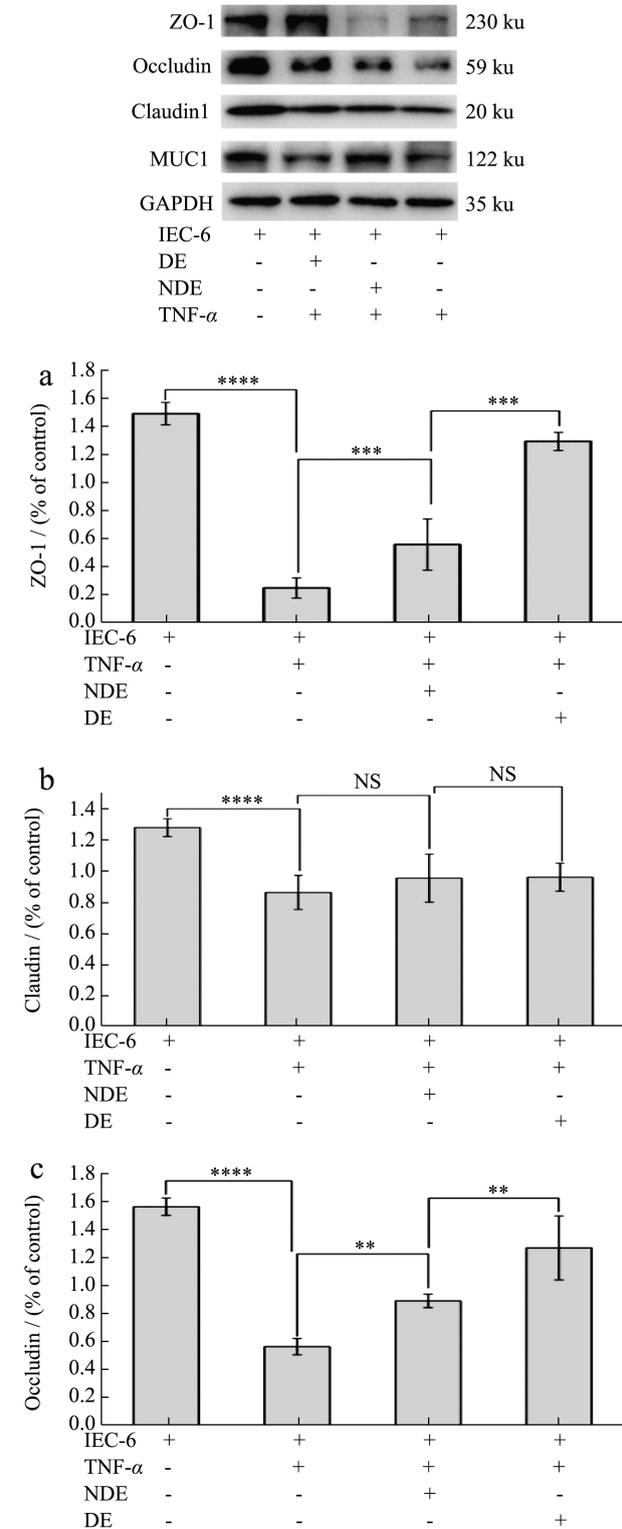
Fig.4 Uptake of DOP in IEC-6 cells by laser scanning confocal microscopy

注：PKH67 标记的 DE（绿色），DAPI 标记的 IEC-6 细胞核（蓝色）。

2.3 DOP 对小鼠 IEC-6 细胞紧密连接蛋白表达的影响

紧密连接蛋白是构成细胞紧密连接结构的一类蛋白质，主要包括跨膜蛋白和闭合小环蛋白，它们参与紧密连接的组成和功能，紧密连接蛋白在肠道组织中表达广泛，在肠道机械屏障中发挥重要作用^[18]。小鼠 IEC-6 上皮细胞间紧密连接蛋白表达如图 5 所示，TNF- α 可直接作用于肠上皮细胞，破坏紧密连接蛋白结构，降低紧密连接蛋白 ZO-1、Occludin、Claudin-1 和 MUC1 的表达。与对照组相比，DOP 组小鼠 IEC-6 上皮细胞 ZO-1、Occludin 和 MUC1 蛋白的表达量分别增加了 104.63%、70.09% 和 52.34%，差异呈极显著，表明 DOP 能够通过上调肠上皮细胞间紧密连接蛋白表达来保护 TNF- α 引

起的肠道屏障损伤。研究表明，膳食多糖在促进紧密连接蛋白表达、调节肠道免疫系统和保护肠道屏障完整性方面发挥了重要作用^[19]。DOP 能在体外显著抑制 NLRP3 炎症体和 β -arrestin1 的激活，对实验急性 UC 小鼠有明显的治疗作用^[20]。辣木多肽可上调细胞内紧密连接相关因子的 mRNA 转录显著来改善 LPS 所致 Caco-2 细胞间高通透性的发生^[21]。



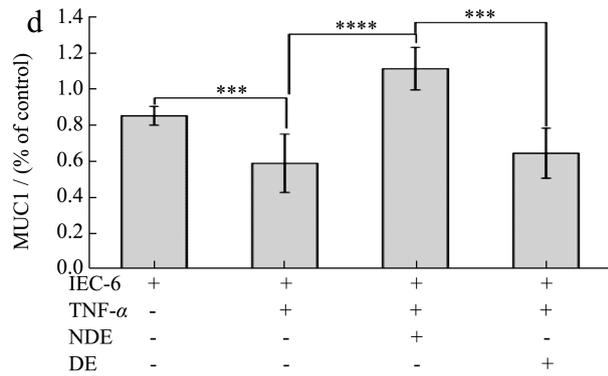


图5 铁皮石斛多糖对 TNF- α 诱导的 IEC-6 细胞 ZO-1、Occludin、Claudin-1 和 MUC1 蛋白表达的影响

Fig.5 Effect of *Dendrobium officinale* polysaccharide on the expression of ZO-1, Occludin, Claudin-1 and MUC1 proteins in IEC-6 cells induced by TNF- α

注: ** 表示 $P < 0.01$; *** 表示 $P < 0.001$; **** 表示 $P < 0.0001$ 。NS 表示不显著。

2.4 DOP对小鼠IEC-6细胞ZO-1的免疫荧光

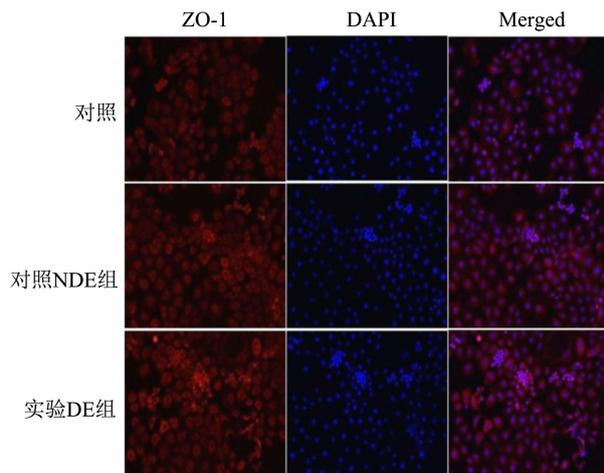


图6 免疫荧光分析结果

Fig.6 Results of immunofluorescence analysis

注: 紧密连接蛋白染色为红色, 核染色为蓝色。

免疫荧光实验可以帮助确定特定抗原在细胞或组织中的定位。荧光免疫检测竹节参总提取物对脂多糖刺激所致的 BV2 小胶质细胞 NF- κ B 表达及定位^[22]。ZO-1 免疫荧光分析结果如图 6 所示。ZO-1 染为红色, 细胞核染为蓝色, 在显微镜下可以看到, DE 处理的细胞红色区域显著高于对照组, 即与对照组相比 DE 处理组 ZO-1 蛋白的含量显著增加。结果表明, DOP 在蛋白水平上促进肠道屏障功能。研究表明, 通过免疫荧光染色实验发现, DOP 能够显著回调细胞内紧密连接蛋白 ZO-1 的表达水平, 同时部分恢复 TNF- α 诱导的 ZO-1 在细胞中的

异常分布, 证实 DOP 通过维持紧密连接功能, 缓解 TNF- α 刺激引起的肠上皮屏障损伤^[23]。Xie 等^[24]采用荧光免疫探究磁性颗粒对神经细胞的分化情况。

2.5 DOP对经TNF- α 处理小鼠小肠氧化应激的影响

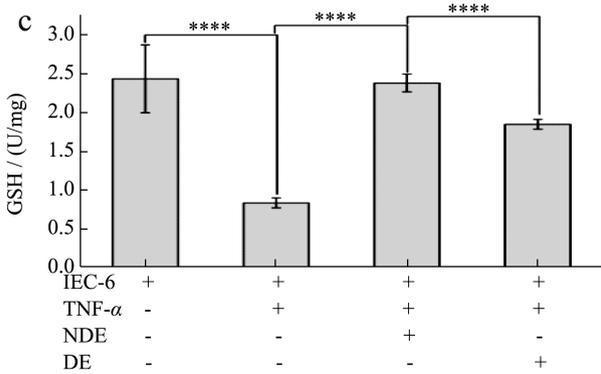
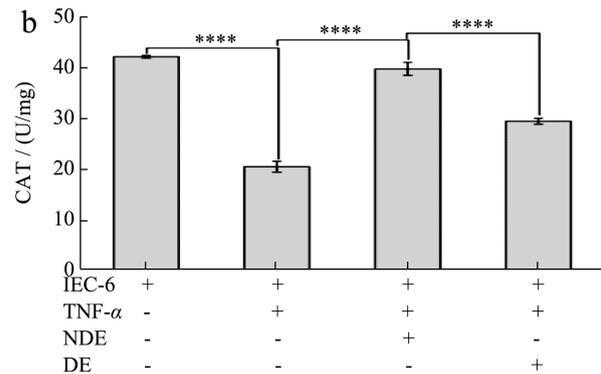
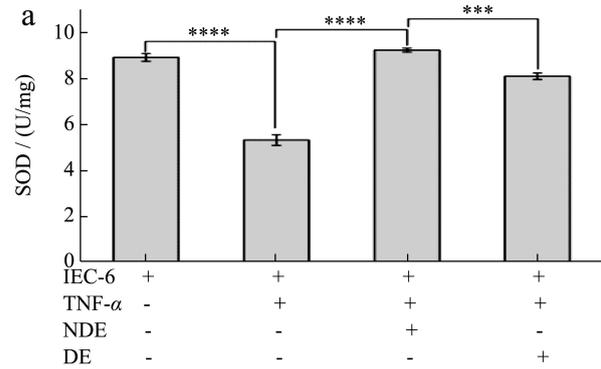


图7 铁皮石斛多糖对 TNF- α 诱导的 IEC-6 细胞抗氧化酶 CAT、SOD 和 GSH-PX 活性的影响

Fig.7 Effects of *Dendrobium officinale* polysaccharide on the activities of CAT, SOD and GSH-PX in TNF- α -induced IEC 6 cells

注: *** 表示 $P < 0.001$; **** 表示 $P < 0.0001$ 。

抗氧化酶如超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 和过氧化氢酶 (CAT) 等活性是抗氧化防御机制的关键指标^[25]。本研究观

观察到 TNF- α 诱导下, IEC-6 是否存在对细胞的氧化损伤。如图 7 所示, 与对照组相比, TNF- α 处理显著抑制抗氧化酶 CAT、SOD 和 GSH-PX 活性。与 TNF- α 组相比, DE 干预显著提高了小肠组织 CAT、SOD 和 GSH-PX 活性。有研究指出, 多糖能调节肠细胞或组织中异常的 CAT 和 SOD 及 GSH-PX 的活性。黑沙蒿多糖可提高小肠组织中 T-AOC、GSH-PX、CAT 和 SOD 活性^[26]。Hu 等^[27]研究表明, 副孢子虫胞外多糖处理显著提高了 SOD、GSH 和 GSH-PX 水平, 有抑制小肠损伤和调节肠道屏障功能的作用。桃胶多糖通过激活 Nrf2 信号通路发挥抗氧化作用, 使 MDA、SOD 和 GSH 水平正常化^[28]。枸杞子多糖显示其抗氧化潜力, 减少活性氧的产生和丙二醛 (MDA) 的水平, 同时提高超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 水平, 显示出抗氧化潜力^[29]。甜菜碱 (BET) 对 LO2 细胞中 SOD、GPx 和 CAT 的 mRNA 水平显著提高^[30]。

3 结论与展望

IBD 发病率呈逐年上升的趋势, 药物治疗过程中有诸多不良反应。DOP 具有多种生物活性, 且是大分子物质不易被消化, 其对 IBD 的缓解作用和机制尚不清楚。本文以通过建立 TNF- α 所致肠道粘膜损伤 IEC-6 肠上皮细胞的模型, 能观察到 DE 能被 IEC-6 肠上皮细胞摄取。与炎症组相比, DOP 组小鼠 IEC-6 上皮细胞 ZO-1、Occludin 和 MUC1 蛋白的表达量分别增加了 104.63%、70.09% 和 52.34%, 抗氧化酶 SOD、CAT 和 GSH-PX 活性提高了 52.16%、43.40%、122.89%。我们推测, DOP 可能通过外泌体抑制肠上皮细胞紧密蛋白的表达和提高抗氧化酶的活性来缓解 IEC-6 肠上皮细胞肠道屏障的损伤。因此, 对 DOP 保护肠道屏障作用机制提供新的见解。

参考文献

- [1] 禹蓉,张吉翔,王婷,等.炎症标志物对炎症性肠病活动性的诊断价值研究进展[J].中国临床医生杂志,2022,50(4): 404-407.
- [2] 文友飞.膳食纤维与炎症性肠病的Meta分析[D].重庆:重庆医科大学,2021.
- [3] 刘玉林.HO-1基因促进紧密连接蛋白Claudin-4表达增强肠粘膜屏障抗损伤与修复的作用初步研究[D].济南:山东大学,2014.
- [4] XING S P, ZHANG X F, KE H N, et al. Physicochemical properties of polysaccharides from *Dendrobium officinale* by fractional precipitation and their preliminary antioxidant and anti-HepG2 cells activities *in vitro* [J]. Chemistry Central Journal, 2018, 12(1): 1-10.
- [5] 梁楚容,王琴,肖更生,等.兜唇石斛发酵多肽Asp-Asp-Asp-Tyr和Asp-Tyr-Asp-Asp对LPS诱导RAW264.7细胞的抗炎作用[J].现代食品科技,2023,39(1):31-40.
- [6] 周金平,王自凡,卢永仲,等.铁皮石斛多糖分级制备及理化活性研究[J].日用化学品科学,2022,45(8):17-21.
- [7] LIU H F, GONG F, WEI F S, et al. Artificial simulated gastrointestinal digestion of four carbohydrates containing beta-d-1 \rightarrow 4 linkages and new GC-TQ/MS-MS method for characterising released monosaccharides [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2018, 53(8): 1992-2005.
- [8] 郑文青,李优鑫.外泌体在糖尿病治疗中的研究进展[J].分析实验室,2024,43(2):229-237.
- [9] 李木生.人肥大细胞来源外泌体中miR-223对肠道屏障功能影响的研究[D].广州:广州医科大学,2020.
- [10] WATANABE A. Development and characterization of a novel microfluidic chip for exosome isolation and its application in neuroscience [D]. Hongkong: City University of Hong Kong, 2017.
- [11] WANG Y W, LIN F F, ZHU X R, et al. Distinct roles of intracellular heat shock protein 70 in maintaining gastrointestinal homeostasis [J]. American Journal of Physiology, Gastrointestinal and Liver Physiology, 2018, 314(2): G164-G178.
- [12] LIU J, BAI J, ZHANG L L, et al. Hsp70 positively regulates porcine circovirus type 2 replication *in vitro* [J]. Virology, 2013, 447(1-2): 52-62.
- [13] WANG G Z, JIN S Y, LING X G, et al. Proteomic profiling of LPS-induced macrophage-derived exosomes indicates their involvement in acute liver injury [J]. Proteomics, 2018, 19(3): e1800274.
- [14] WANG C L, XU M C, FAN Q Z, et al. Therapeutic potential of exosome-based personalized delivery platform in chronic inflammatory diseases [J]. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2023, 18(1): 100772.
- [15] DOMINKUŠ P P, STENOVEC M, SITAR S, et al. PKH26 labeling of extracellular vesicles: Characterization and cellular internalization of contaminating PKH26 nanoparticles [J]. BBA-Biomembranes, 2018, 1860(6): 1350-1361.
- [16] LINNERDAL B, DU X G, LIAO Y L, et al. Human milk exosomes resist digestion *in vitro* and are internalized by human intestinal cells [J]. FASEB Journal, 2015, 29 (1 supplement): 121-123.
- [17] MOU C L, LI Z N, LIU N, et al. Low level TGF- β 1-treated Umbilical mesenchymal stem cells attenuates microgliosis

- and neuropathic pain in chronic constriction injury by exosomes/lncRNA UCA1/miR-96-5p/FOXO3a [J]. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 2023, 34: 101477.
- [18] 吴雪芹,陈秀梅,王桂芹,等.紧密连接蛋白在鱼类肠道屏障损伤中的研究进展[J].*饲料工业*,2023,44(6):56-62.
- [19] 谢红兵,邹云,刘丽莉,等.植物多糖对断奶仔猪小肠黏膜形态及肠黏膜屏障功能的影响[J].*中国兽医学报*,2019, 39(1):150-157.
- [20] LIANG J, CHEN S X, CHEN J H, et al. Therapeutic roles of polysaccharides from *Dendrobium officinale* colitis and its underlying mechanisms [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 185: 159-168.
- [21] 宋家乐,钱波,王程强,等.辣木多肽对LPS所致Caco-2细胞间高通透性的保护作用[J].*现代食品科技*,2018,34(12): 12-18.
- [22] 郑杰,赵晴晴,望金欣,等.竹节参总提取物对LPS诱导BV2小胶质细胞炎症反应的保护作用[J].*现代食品科技*,2019, 35(12):8-13.
- [23] 张娇娇.乳杆菌表层蛋白对肠上皮屏障的免疫保护作用[D].无锡:江南大学,2022.
- [24] XIE Y, WANG X Y, WANG Z H, et al. Exosomes from magnetic particles-primed mesenchymal stem cells enhance neural differentiation of PC12 cells [J]. *Heliyon*, 2023, 9(10): e21075.
- [25] AFSANEH M, LATIFEH P, SINA S M. Effects of malic acid and EDTA on oxidative stress and antioxidant enzymes of okra (*Abelmoschus esculentus* L.) exposed to cadmium stress [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 248: 114320.
- [26] 杜海东.黑沙蒿多糖对肉仔鸡免疫和抗氧化功能的影响[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2021.
- [27] HU B, JIANG W H, YANG Y, et al. Gut-Liver Axis reveals the protective effect of exopolysaccharides isolated from *Sporidiobolus pararoseus* on alcohol-induced liver injury [J]. *Journal of Functional Foods*, 2021, 87: 104737.
- [28] LI S G, LI G P, LIU D J, et al. Peach gum polysaccharide protects intestinal barrier function, reduces inflammation and oxidative stress, and alleviates pulmonary inflammation induced by *Enterococcus faecium* E745 [J]. *Journal of Functional Foods*, 2024, 115: 106098.
- [29] YANG Y, YU L, ZHU T Y, et al. Neuroprotective effects of *Lycium barbarum* polysaccharide on light-induced oxidative stress and mitochondrial damage via the Nrf2/HO-1 pathway in mouse hippocampal neurons [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 251: 126315.
- [30] 张猛猛,辛璇,赖富饶,等.甜菜碱提高LO2细胞中抗氧化酶的表达水平[J].*现代食品科技*,2022,38(2):28-35.