

木瓜提取物预防非甾体抗炎药诱导的小鼠肠黏膜损伤

郭冲¹, 黄可可¹, 曾俊豪¹, 康佳敏¹, 邓昊¹, 魏承亮², 赵宗尧¹, 刘朝奇²

(1. 三峡大学医学院, 湖北宜昌 443002)

(2. 三峡大学肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室, 湖北宜昌 443002)

摘要: 为了研究木瓜提取物对非甾体抗炎药 (NSAID) 引起的小鼠小肠黏膜损伤的预防作用, 应用灌胃方式连续 6 d 给与木瓜提取物, 在第 5 d 给与双氯芬酸钠 5 mg/mL 连续两天灌胃, 建立 NSAID 诱导小肠黏膜损伤模型。检测小肠黏膜通透性及观察小肠黏膜病变情况, 检测葡萄糖转运蛋白 (GRP-78)、CHOP、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、Toll 受体 4 (TLR4) 及 NLRP 的表达水平。FITC-DT 测定结果显示正常组相对荧光值 (Relative fluorescence value, RFU) 为 682.7 ± 105.4 、模型组 2008.3 ± 496.1 、木瓜低剂量组为 1097.8 ± 501.1 、木瓜高剂量组为 737.5 ± 275.5 ; 与正常组相比, 模型组小鼠小肠黏膜明显损伤及通透性增加; 与模型组相比, 不同剂量木瓜提取物处理小鼠后能明显减轻小肠黏膜损伤, 其机制与木瓜提取物调节肠道组织的内质网应激 (GRP78 和 CHOP)、降低肠道炎症反应 (TLR4 和 TNF- α) 有关。提示木瓜提取物能通过调节 TLR4-内质网应激预防 NSAID 对小鼠小肠黏膜的损伤。

关键词: 非甾体抗炎药 (NSAID); 小肠黏膜损伤; 木瓜提取物; TLR 信号通路; 内质网应激

文章编号: 1673-9078(2019)11-45-51

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.11.007

Extract of *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai Prevents Intestinal Mucosal Injury Induced by Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs) in Mice

GUO Chong¹, HUANG Ke-ke¹, ZENG Jun-hao¹, KANG Jia-min¹, DEN Hao¹, WEI Cheng-liang¹, ZHAO Zong-yao¹, LIU Chao-qi²

(1. Medical College of China Three Gorges University, Yichang 443002, China) (2. Hubei Key Laboratory of Tumor Microenvironment and Immunotherapy, China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

Abstract: The preventive effect of the extract of *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai (CS) on nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID)-induced intestinal injuries in mice were investigated, mice were given the CS by intragastric administration for 6 days, and then the diclofenac sodium (5 mg/mL) was given to the stomach for 2 consecutive days on the 5th day to intestinal mucosal lesions were observed. Expression levels of glucose transporter protein 78 (GRP-78), tumor necrosis factor α (TNF- α), Toll receptor 4 (TLR4), chop and NLRP were detected. The results of FITC-DT showed that the relative fluorescence value (RFU) of the normal group was 682.7 ± 105.4 , with 2008.3 ± 496.1 , 1097.8 ± 501.1 and 737.5 ± 275.5 for the model group, low CS dose group, and high CS dose group, respectively. Compared with the normal group, the extent of the small intestinal mucosal injury and permeability for the model group significantly increased. Compared with the model group, different CS doses could significantly reduce the small intestinal mucosal injury in mice, with the mechanism associated with the regulation of the endoplasmic reticulum stress (GRP78 and CHOP) and reduction of intestinal inflammation (TLR4 and TNF- α) by CS. These findings suggest that CS can prevent the damage of the small intestinal mucosa caused by NSAID in mice through regulating the TLR4-endoplasmic reticulum stress.

Key words: NSAID; small intestine injury; extract of *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai; TLR signaling pathways; endoplasmic stress

投稿日期: 2018-11-22

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81473461)

作者简介: 郭冲 (1996-), 男, 本科在读, 研究方向: 临床肿瘤学; 共同第一作者: 黄可可 (1998-), 女, 本科在读, 研究方向: 病理学

通讯作者: 刘朝奇 (1962-), 男, 博士, 研究方向: 分子生物学与免疫药理

非甾体抗炎药 (nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs) 具有解热、镇痛、抗炎等多种药理作用, 是一类广泛应用于临床各类疼痛、发热、风湿等炎症性疾病的药物, 在临床上广泛使用。但是, 目前市场使用的 NSAIDs 所引起的不良反应很常见, 尤其是胃肠道黏膜损伤, 可出现上腹不适、隐痛、恶心、呕吐、饱胀、嗝气、食欲减退等消化不良症状。长期口服 NSAIDs 的患者中, 大约有 10%~25% 的病人发生消化性溃疡, 其中有小于 1% 的患者出现严重的并发症如出血或穿孔^[1], 大部分表现为胃黏膜充血、糜烂、水肿, 还会出现深部溃疡, 导致消化道出血。随着胶囊内镜和双气囊肠镜在消化道疾病诊疗中的应用, 发现 NSAIDs 可引起小肠损伤非常频繁和严重。双氯芬酸钠又名服他灵, 是第三代强效非甾体抗炎镇痛药, 具有良好的抗炎镇痛作用, 但同样会造成消化系统的溃疡病变, 尤其是小肠部位。基于此, 研究干预 NSAIDs 所致的消化道损伤的药物显得愈发重要。

木瓜(*Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai) 为蔷薇科, 木瓜属, 落叶灌木, 是我国华南地区特有的野生果木之一^[2], 是一种药食兼用的植物, 果实中有机酸含量高, 酸味重, 口感差, 明显的酸涩感以及咀嚼时的干、柴感, 性温, 归肝、脾经, 具有和胃化湿、舒筋活络的功效。研究证明木瓜果实富含皂甙、黄酮类、木瓜酚、还原糖、蔗糖、多种氨基酸、Vc、过氧化物酶以及酚多氧化酶等多种营养成分, 其提取物具有抗氧化、抗炎抑菌、降低转氨酶、促进肝细胞再生、增强免疫功能、抑制变态反应等药理作用, 木瓜苷具有镇痛、抗炎等作用^[3-5]。本课题组先前对木瓜提取物做了广泛的研究, 并证明其有较好的抗炎活性, 因此, 本研究拟用 NSAIDs 中的双氯芬酸钠诱导小鼠肠黏膜损伤为模型, 探讨木瓜提取物的防护作用及可能机制, 为临床预防 NSAIDs 相关的肠黏膜损伤提供实验及理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料与仪器

木瓜提取物由本实验室制备, 具体方法参见文献^[6], 使用的部位为大孔树脂分离前的总提取物, 于 4 °C 保存, 羧甲基纤维素钠 (配制成 5 g/L)、水合氯醛 (配制成 100 g/L) 和多聚甲醛 (配制成 40 g/L) 购自国药集团化学试剂有限公司; 双氯芬酸钠购自石药集团欧意药业有限公司 (用 5 g/L 羧甲基纤维素钠配制成 0.5 mg/mL); 异硫氰酸荧光素标记的葡聚糖 (fluorescein isothiocyanate-dextran, FITC-DT) (PBS 溶解配制成

20 mg/mL) 和 Evans 蓝 (PBS 配制成 7.5 mg/mL) 购自 Sigma 公司; 兔多抗葡萄糖调节蛋白 78 (glucose-regulated-protein-78, GRP78) 和山羊抗肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α) 抗体购自 Abcam 公司; Bioniu PCR Master Mix (2X) 购自台州百牛生物技术有限公司 (引物于生工生物工程股份有限公司合成); 梯度 PCR 仪, Applied Biosystems 公司德国; Gene Genius 凝胶分析系统, 英国 SYNGNE 公司; Gellogig 200 凝胶成像分析系统, 美国 Kodak 公司; Confocal 共聚焦显微镜尼康 AIR+, 日本尼康公司; EG1150H 石蜡包埋机、TP1020 自动脱水机、EG1150C 超薄切片机, 德国 Leica 公司。

1.2 方法

1.2.1 肠黏膜损伤模型的建立与动物分组

40 只 6~8 周龄昆明雄性鼠, 体重 18~22 g, 由湖北省动物实验中心提供。三峡大学实验动物中心喂养, 给予标准普通饲料喂养, 自由进食进水。根据预实验结果和相关文献结果^[7], 随机分为四个组, 分别为正常组、模型组、75 mg/kg 木瓜提取物组和 300 mg/kg 木瓜提取物组。除正常组外连续 2 d 制备小肠黏膜损伤模型。在模型制备的前 4 d 开始给予木瓜提取物灌胃, 连续处理 6 d, 其余动物给予 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液灌胃处理; 第 7 d 进行下述相关的实验研究。

1.2.2 小肠黏膜通透检测性

FITC-DT 检测方法: FITC-DT 为大分子物质, 在正常情况下不能直接透过小肠黏膜进入血液循环。故可通过 FITC-DT 检测小肠黏膜的通透性。基本方法如下: 小鼠腹腔注射 10% 水合氯醛 0.2 mL, 待小鼠完全昏迷后, 剖腹, 距回盲部 2 cm 处选取 4~5 cm 小肠结扎, 用皮试针头注射 20 mg/mL 的 FITC-DT 于结扎小肠中, 保温 20 min 后取全部肝脏、冰上研磨, 按照 1 g/5 mL 稀释研磨液, 2000 r/min 离心 30 min, 取上清液用多功能荧光酶标仪测量荧光值 (激发波长 480 nm 和发射波长 530 nm)。

Evans 蓝染料检测方法: Evans 蓝染料能与血液中的白蛋白结合成蓝色物质, 在局部出血位置可显示出蓝色。小鼠尾静脉注射 0.2 mL Evans 蓝染料, 自由活动 30 min, 脱颈处死, 分离出约 10 cm 小肠, PBS 冲洗干净, 沿肠系膜剪开肠腔, 肠绒毛朝上铺与玻片上, 缓慢吸尽 PBS, 拍照取图。

1.2.3 小肠组织 HE 染色

脱颈处死小鼠, 取适量小肠组织, PBS 清洗内容物, 4% 多聚甲醛固定 24 h。常规脱水, 石蜡包埋, 切片, 然后 HE 染色。光学显微镜下观察小肠组上皮层

细胞变性坏死, 根据 Chiu 评分标准^[8]行病理评分, 例如: 固有层裸露为 5 分; 绒毛脱落, 固有层崩解, 出血或溃疡形成 6 分。

1.2.4 小肠组织免疫组织化学检测

常规脱水包埋小鼠小肠组织连续切片, 厚度为 4 μm , 裱于经多聚赖氨酸浸泡特殊处理后的载玻片上, 60 $^{\circ}\text{C}$ 烤片 5 h; 常规脱蜡, PBS 冲洗 3 次。高压加热方式进行抗原修复, 50 g/L BSA 室温封闭 30 min; 加入兔抗 GRP78 抗体 (1:1000) 或山羊抗 TNF- α 抗体 (1:500), 湿盒中 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜; PBS 洗 10 min $\times$ 3 次, 滴加适量 HRP 标记的抗兔 (山羊) 工作液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min, PBS 冲洗, 5 min $\times$ 3 次, 加入显色剂 (DAB) 显色 3~15 min, 自来水充分冲洗, 复染, 脱水, 透明, 封片。光学显微镜下观察待检测蛋白表达情况。

1.2.5 小肠组织免疫荧光检测

常规脱水包埋小鼠小肠组织连续切片, 厚度为 4 μm , 裱于经多聚赖氨酸浸泡特殊处理后的载玻片上, 60 $^{\circ}\text{C}$ 烤片 6 h; 常规脱蜡, PBS 冲洗 3 次。高压加热方式进行抗原修复, 50 g/L BSA 室温封闭 30 min; 加入兔抗 TLR4 抗体 (1:100), 暗盒中 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜; PBS 洗 10 min $\times$ 3 次, 滴加适量 Alexa Fluor594 标记的二抗, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min, PBS 冲洗, 5 min $\times$ 3 次, 滴加适量 DAPI, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min, PBS 冲洗, 5 min $\times$ 3 次, 封片。共聚焦荧光显微镜下观察 TLR4 受体表达情况。

1.2.6 RT-PCR 检测小肠组织炎症相关基因 mRNA 表达水平

取动物小肠组织 100 mg 充分匀浆, Trizol 法抽提小肠组织 RNA, 测定浓度, 各样品取总 RNA 1 μg , 在 20 μL 逆转录反应体系合成 cDNA, 并进行 PCR 扩增。PCR 参数均为 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min, 循环条件为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s、58 $^{\circ}\text{C}$ 30 s、72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 28~38 个循环, 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。1.2% 琼脂糖凝胶电泳, 采用 Gellogic 200 凝胶成像分析系统测定平均灰度值, 以样品各基因的灰度值与其内参照 β -actin 的比值代表其 mRNA 相对表达水平。

1.2.7 数据分析与处理

应用 SPSS 20.0 统计软件, 计量资料以 $\bar{X} \pm S$ 表示, 采用 t 检验, $p < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 木瓜提取物可预防小鼠小肠黏膜通透性的改变

Evans 蓝染料在血液中与白蛋白结合形成大分子

蓝色物质, 只有在组织损伤处才能从破损的血管中漏出致局部组织蓝染, 可用于小肠黏膜组织损伤情况的观察。本实验结果见图 1。FITC-DT 为大分子荧光物质, 正常情况下不能通过正常肠黏膜屏障进入血液循环, 但当小肠黏膜发生损伤时, FITC-DT 可经受损小肠黏膜, 通过门静脉进入肝脏组织中, 因此可通过检测肝脏组织匀浆的荧光值 (relative fluorescence units, RFU) 反映肠黏膜通透性。经荧光仪测定, 随着给予双氯芬酸钠的浓度升高, 小鼠肝组织荧光值升高。结果见表 1。

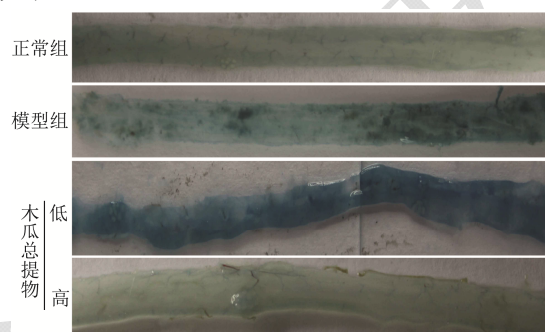


图 1 Evans 蓝染料方法检测小鼠小肠黏膜通透性

Fig.1 Small intestinal mucosal permeability was detected by

Evans dye staining in mice

注: 蓝色斑点为黏膜损伤部位。

由图 1 可知, 正常组小鼠小肠黏膜组织形态未见明显异常, 黏膜表面干净未见蓝色斑点; 与正常组相比, 模型组小肠组织可见多个大小不等的蓝色斑点并且分布较散, 但未见肠道穿孔, 这一结果与相关文献报道一致^[9,10], 本研究模型成功建立, 同时也证实了口服双氯芬酸钠可引起小肠黏膜损伤这一理论; 与模型组相比, 药物处理组可见蓝色斑点明显减少, 并且随着药物浓度增加, 肠黏膜损伤明显减轻, 无水肿现象, 溃疡数目明显减少。

由表 1 可知, 与正常组相比, 不同浓度的双氯芬酸钠组小鼠肝脏组织的 RFU 均有明显变化 (均 $p < 0.05$), 提示不同浓度的双氯芬酸钠均引起了小鼠小肠黏膜通透性的改变。但与正常组相比, 浓度为 5 mg/kg 的双氯芬酸钠引起的小鼠黏膜损伤适中; 而浓度为 2.5 mg/kg 的双氯芬酸钠引起的小鼠黏膜损伤较轻, 与正常组相比差别不明显; 浓度为 10.0 mg/kg 的双氯芬酸钠引起的小鼠黏膜损伤较严重, 易引起小肠穿孔, 同时结合梅颖等^[7]实验结果, 确定双氯芬酸钠的浓度为 5.0 mg/kg, 用于后续实验, 在此模型上用于木瓜提取物干预。

由表 2 可知, 与模型组相比, 药物组经木瓜提取物处理后, 小鼠肝组织 RFU 明显降低 (均 $p < 0.05$), 且与木瓜低剂量组 (75 mg/kg) 相比, 木瓜高剂量组

(300 mg/kg) 小鼠肝组织 RFU 明显降低 ($t=4.439$, $p<0.05$); 而与正常组相比, 模型组小鼠肝组织 RFU 显著升高 ($t=18.415$, $p<0.05$)。以上结果提示木瓜提取物可有效预防由双氯酚酸诱导的小鼠小肠黏膜通透性的改变。

表 1 不同浓度 NSAIDs 损伤小肠黏膜的影响

Table 1 The effects of different concentrations of NSAIDs on intestinal mucosal injury

项目	剂量/(mg/mL)	相对荧光值 RFU
正常组		769.7±101.4
	2.5	1551.7±106.6 ^a
双氯芬酸钠	5.0	2073.0±103.5 ^b
	10.0	3138.0±307.5 ^b

注: a 与正常组比较 $p<0.05$; b 与正常组比较 $p<0.05$ 。表 2 同。

表 2 木瓜提取物对小肠黏膜损伤的影响

Table 2 The effects of *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai extract on the intestinal mucosa injury

项目	剂量/(mg/kg)	相对荧光值 RFU
正常组		682.7±105.4
模型组		2008.3±496.1 ^a
	75	1097.8±501.1
木瓜提取物	300	737.5±275.5 ^b

2.2 木瓜提取物可保护小鼠小肠黏膜损伤

将各组肠组织固定、包埋切片及 HE 染色后, 显微镜下观察各组小肠黏膜形态, 结果见图 2。由图 2a 可知, 正常组小肠黏膜形态结构基本正常; 而模型组小肠黏膜损伤明显, 小肠黏膜结构不完整, 绒毛缩短变粗, 出现断裂、融合和脱落, 固有层不清, 且伴有大量炎性细胞浸润 (图 2b); 由图 2c 和图 2d 可知, 给药组与模型组相比, 小肠黏膜结构清晰度增加, 腺体数目明显改变, 膜下层肿胀、结构紊乱及黏膜层炎性细胞浸润均明显改善, 且随着给药剂量增加, 上述变化也越明显。根据 Chiu 评分标准, 模型病理评分为 3.7 ± 0.5 , 正常组为 0.5 ± 0.6 , 木瓜低剂量组为 2.5 ± 0.6 , 木瓜高剂量组为 2.2 ± 0.8 。模型组高于正常组, 也显著高于药物组, 差异有统计学意义 ($p<0.05$)。因此, 木瓜提取物对小肠黏膜有一定的保护作用, 可以预防 NSAID 引起小肠黏膜损伤。

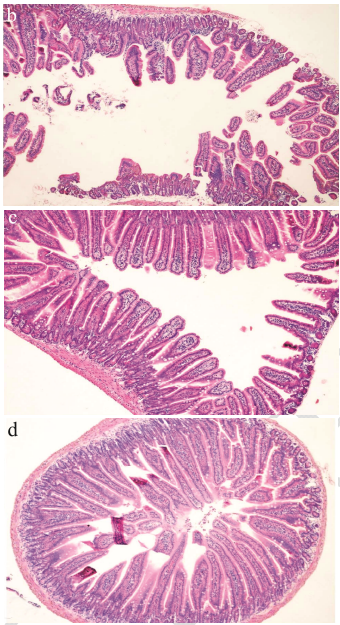
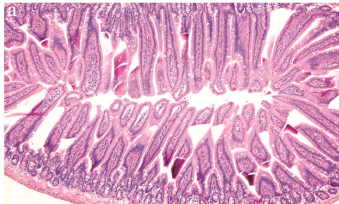


图 2 小肠组织形态变化 (HE 染色, X100)

Fig.2 Morphological changes of small intestine (HE staining, X100)

注: a 正常组; b: 模型组; c: 木瓜低剂量组; d: 木瓜高剂量组。

2.3 木瓜提取物降低内质网应激介导的小鼠小肠黏膜炎症反应

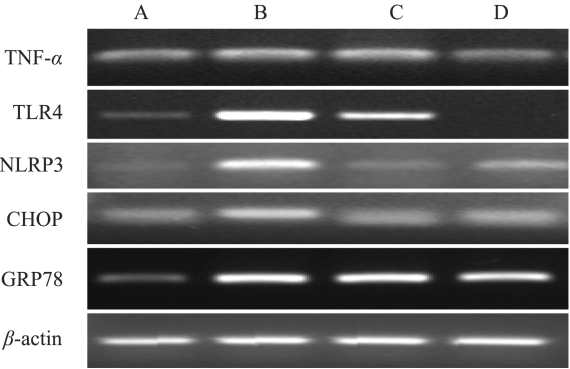


图 3 木瓜提取物降低炎症基因 mRNA 表达量

Fig.3 *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai extract reduces the expression of inflammatory gene Mrna

注: A: 正常组; B: 模型组; C: 木瓜低剂量组; D: 木瓜高剂量组。

内质网是真核细胞中蛋白质合成、折叠与分泌的重要场所, 当内质网内稳态失衡时会导致蛋白折叠能力、内质网钙代谢及卵磷脂合成等多种功能的异常, 引发内质网应激。GRP78 作为内质网分子伴侣, 在蛋白质合成及正确折叠等方面发挥重要作用^[11], NSAID 诱导肠上皮细胞发生内质网应激反应后, 一方面可以通过 GRP78 的高表达来维持内质网内环境的稳定; 另

一方面可以通过诱导凋亡转录因子CHOP表达量的增加^[12-15],引起粘膜上皮细胞凋亡进而引起肠黏膜的损伤。同时内质网的应激还会导致黏膜上皮细胞TLR4的活化从而诱导炎症因子TNF- α 的过量表达^[16,17]。因此我们应用RT-PCR法检测相关基因表达,结果如图3显示,与正常组相比,模型组内质网应激相关基因GRP78和CHOP表达量增加;而与模型组相比,药物组经木瓜提取物处理后,GRP78和CHOP基因表达量

显著降低。同样,与炎症反应相关的信号分子TNF- α 、TLR4和NLRP3在模型组中表达量最高,这一结果与文献报道的结果一致^[18,19]。经过木瓜提取物药物组的干预,其表达量降低,且随着木瓜提取物浓度的增加其表达量越低,但高于正常组。提示木瓜提取物可以通过内质网应激反应的调节对非甾体药物引起的小肠黏膜的损伤起保护作用。

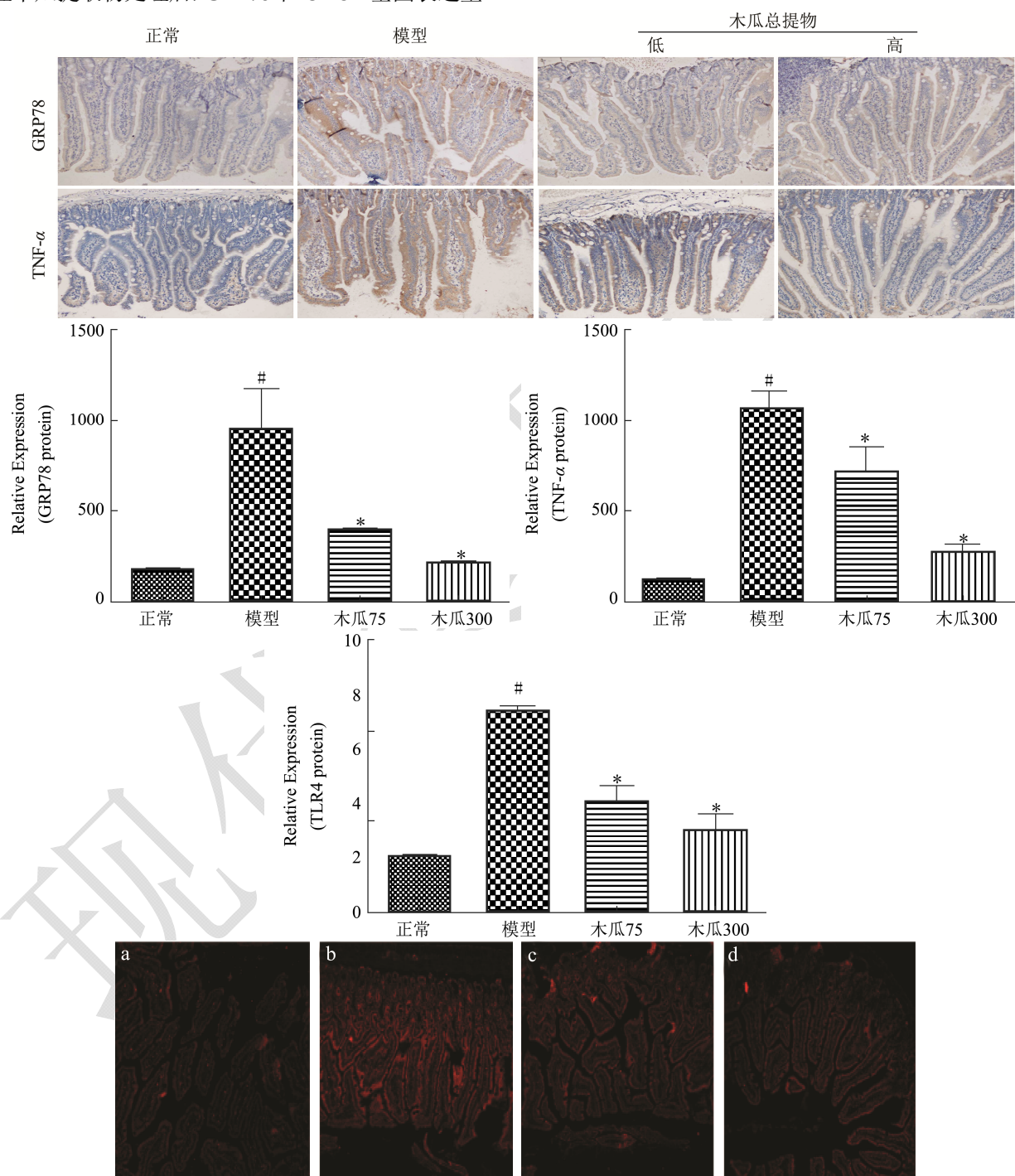


图4 木瓜提物降低 GRP-78、TNF- α 和 TLR4 表达量

Fig.4 *Chaenomeles speciose* (Sweet) Nakai extract reduces the expression of GRP-78, TNF- α and TLR4

注: a 正常组; b: 模型组; c: 木瓜低剂量组; d: 木瓜高剂量组。#与正常组比较 $p < 0.05$; *与模型组比较 $p < 0.05$ 。

为了进一步验证木瓜提取物对小肠黏膜损伤的改善作用,通过免疫组织化学(荧光)染色法观察肠黏膜组织内质网应激蛋白 GRP78 和 TLR4、TNF- α 的蛋白表达。结果如图 4。

由图 4 可知,与正常组相比,模型组小肠组织中 GRP78 和 TLR4、TNF- α 的表达均显著高于正常组;而与模型组相比,药物组中 GRP78 和 TLR4、TNF- α 的表达均明显降低,且与木瓜提取物呈剂量依赖性关系。以上结果提示 NSAIDs 可以通过激活内质网应激及炎性相关 TLR4-TNF- α 的产生诱导小鼠小肠的损伤,这一结果与相关文献结果一致^[20]。在 Watanabe 等人的研究中,NSAIDs 通常以 TLR4 依赖的方式损伤肠道^[21],同样的,当小肠受到 NSAID 的刺激时,内质网应激启动,CHOP、GRP78 和 TNF- α 在 ERS 诱导的细胞凋亡中起重要作用,在小肠损伤时 CHOP、GRP78 和 TNF- α 表达快速上升,细胞凋亡被激活,TNF- α 主要是由巨噬细胞和单核细胞产生的促炎分子,既可以导致 ERS 的产生,同时 ERS 也能促进产生 TNF- α ^[22,23]。GRP78 是一种钙结合蛋白,在蛋白质合成及正确折叠等方面发挥重要作用,在 ERS 时,GRP78 高表达来维持内质网内环境的稳定,并能与机体内 GRP 激活剂活化转录因子 6 (activating transcription factor 6, ATF6) 结合,以激活 GRP78 启动子中 ERS 片段,从而恢复内质网的正常功能,但是当这种功能不足以维持内质网的稳定时,便通过 CHOP 和 caspase 途径介导细胞凋亡。而木瓜的乙酸乙酯部位主要含齐墩果酸、 β -谷甾醇、胡萝卜苷以及儿茶素等,正丁醇部位主要含齐墩果酸和乌苏酸的混合物、 β -胡萝卜苷、奎尼内酯、葡萄糖苷以及莽草酸等提取物^[24],这些木瓜提取物则可以通过抑制内质网应激及炎性因子的产生从而对 NSAIDs 诱导的小鼠小肠的损伤起预防作用。

3 结论

综上所述,药物组木瓜提取物可改善由 NSAIDs 诱导的小肠黏膜通透性的改变及黏膜的损伤;同时还能降低小鼠体内的 GRP78、TLR4 及 TNF- α 的表达水平。因此,本研究认为木瓜提取物可以预防 NSAID 引起的肠黏膜损伤,其机制可能与降低黏膜上皮内质网应激-炎症反应 (GRP78、TLR4 和 TNF- α) 通路相关。本实验为临床上非甾体抗炎药的毒副作用的预防提供新的思路。

参考文献

[1] Moore N, Duong M, Gulmez S E, et al.

Pharmacoevidence of non-steroidal anti-inflammatory drugs [J]. Therapie, 2019, 74(2): 271-277

[2] 李云志,江洪波.皱皮木瓜化学成分与药理作用研究进展[J].化工技术与开发,2018,6:35-38

LI Yun-zhi, JIANG Hong-bo. Study advance in chemical constituents from plants of *Chaenomeles speciosa* and their bioactivities [J]. Technology & Development of Chemical Industry. 2018, 6: 35-38

[3] 冯协和,陈科力,刘义梅.木瓜抗氧化活性研究进展[J].医药导报,2016,5:491-495

FENG Xie-he, CHEN Ke-li, LIU Yi-mei. Advances in research on antioxidant activity of papaya [J]. Herald of Medicine, 2016, 5: 491-495

[4] 周晓丽,邵震,李婷婷,等.木瓜黄酮的提取及抗氧化性研究[J].食品工业科技,2007,8:170-172

ZOU Xiao-li, SHAO Zhen, LI Ting-ting, et al. Extraction and antioxidant activity of papaya flavonoids [J]. Science and Technology of Food Industry, 2007, 8: 170-172.

[5] 覃慧林,王爱玲,邓为,等.木瓜乙酸乙酯部位对小鼠急性胃溃疡的保护作用[J].中药药理与临床,2015,2:45-49

QIN Hui-lin, WANG Ai-ling, DENG Wei, et al. Study of protective effect of ethyl acetate extract from *Chaenomeles speciosa* on mice acute gastric ulcer [J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2015, 2: 45-49

[6] 吴利春,涂浩,段丽,等.木瓜提取物对高糖高脂诱导的小鼠非酒精性脂肪性肝病的影响[J].中国中医药信息杂志,2017,24(5):48-51

WU Li-chun, TU Hao, DUAN Li, et al. Effects of extracted active components of *Chaenomeles speciosa* on non-alcoholic fatty liver disease in model mice induced by high-fat-high-fructose diet [J]. Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine, 2017, 24(5): 48-51

[7] 梅颖,肖朝朝,冯进武,等.竹节参总皂苷预防非甾体抗炎药引起肠黏膜损伤[J].细胞与分子免疫学杂志,2016,6:734-738

MEI Ying, XIAO Zhao-zhao FENG Jin-wu, et al. The preventive effect of total saponins of *Panax japonicus* on nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced enteropathy [J]. Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology, 2016, 6: 734-738

[8] Zhao L, Luo L, Jia W, et al. Serum diamine oxidase as a hemorrhagic shock biomarker in a rabbit model [J]. Plos One, 2014, 9(8): e102285

[9] Fujita T, Kutsumi H, Sanuki T, et al. Adherence to the

- preventive strategies for nonsteroidal anti-inflammatory drug-or low-dose aspirin-induced gastrointestinal injuries [J]. *Gastroenterol*, 2013, 48(5): 559-573
- [10] Zhu Y, Zhang Q Y. Role of Intestinal cytochrome P450 enzymes in diclofenac-induced toxicity in the small intestine [J]. *Pharmacol Exp Ther*, 2012, 343(2): 362-370
- [11] Nakajima S, Hiramatsu N, Hayakawa K, et al. Selective abrogation of BiP/GRP78 blunts activation of NF-kappa B through the ATF6 branch of the UPR: Involvement of C/EBPbeta and mTOR-dependent dephosphorylation of Akt [J]. *Mol Cell Biol*, 2011, 31(8): 1710-1718
- [12] Trychta K A, Back S, Henderson M J, et al. KDEL receptors are differentially regulated to maintain the er proteome under calcium deficiency [J]. *Cell Rep*, 2018, 25(7): 1829-1840
- [13] Tan Z, Zhang W, Sun J, et al. ZIKV infection activates the IRE1-XBP1 and ATF6 pathways of unfolded protein response in neural cells [J]. *J Neuroinflammation*, 2018, 15(1): 275
- [14] Zhang P, Su C, Jiang Z, et al. Herpes simplex virus 1 UL41 protein suppresses the IRE1/XBP1 signal pathway of the unfolded protein response *via* its mase activity [J]. *J Virol*, 2017, 91(4): e02056
- [15] Ock C Y, Park J M, Han Y M, et al. Genetic ablation or pharmacologic inhibition of autophagy mitigated NSAID-associated gastric damages [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2017, 95(4): 405-416
- [16] Rozpedek W, Pytel D, Mucha B, et al. The role of the PERK/eIF2alpha/ATF4/CHOP signaling pathway in tumor progression during endoplasmic reticulum stress [J]. *Curr Mol Med*, 2016, 16(6): 533-544
- [17] Li Y, Guo Y, Tang J, et al. New insights into the roles of CHOP-induced apoptosis in ER stress [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2015, 47(2): 146-147
- [18] Nadatani Y, Watanabe T, Tanigawa T, et al. High mobility group box 1 promotes small intestinal damage induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs through Toll-like receptor 4 [J]. *Am J Pathol*, 2012, 181(1): 98-110
- [19] Higashimori A, Watanabe T, Nadatani Y, et al. Mechanisms of NLRP3 inflammasome activation and its role in NSAID-induced enteropathy [J]. *Mucosal Immunol*, 2016, 9(3): 659-668
- [20] Fukumoto K, Naito Y, Takagi T, et al. Role of tumor necrosis factor-alpha in the pathogenesis of indomethacin-induced small intestinal injury in mice [J]. *Int J Mol Med*, 2011, 27(3): 353-359
- [21] Watanabe T, Higuchi K, Kobata A, et al. Non-steroidal anti-inflammatory drug-induced small intestinal damage is Toll-like receptor 4 dependent [J]. *Gut*, 2008, 57(2): 181-187
- [22] Han J, Back S H, Hur J, et al. ER-stress-induced transcriptional regulation increases protein synthesis leading to cell death [J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(5): 481-490
- [23] Liu J, Fan C, Yu L, et al. Pterostilbene exerts an anti-inflammatory effect *via* regulating endoplasmic reticulum stress in endothelial cells [J]. *Cytokine*, 2016, 77(3): 88-97
- [24] 田慧群,崔倩倩,任东明,等.木瓜提取物的抗炎活性研究[J]. *华西药理学杂志*.2015,30(3):287-288
- TIAN Hui-qun, CUI Qian-qian, REN Dong-ming, et al. Study on anti-inflammatory activity of the extracts of *Chaenomeles speciosa* [J]. *West China Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2015, 30(3): 287-288

(上接第 113 页)

- [17] 王琪,Paulina Simo,刘锦钰,等.滇池中溶藻细菌的分离鉴定及其溶藻效应[J].*微生物学通报*,2018,45(12):2614-2623
- WANG Qi, Paulina Simo, LIU Jing-yu, et al. Identification of algicidal bacterium Sp37 [J]. *Microbiology China*, 2018, 45(12): 2614-2623
- [18] 颜小丹.一株溶藻细菌的分离鉴定及其对虾池两种蓝藻溶藻效果的研究[D].湛江:广东海洋大学,2011
- YAN Xiao-dan. Isolation and identification of one algae-lying bacteria and the lytic effects on two blue-green algae in prawn pond [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2011
- [19] Reifel K M, McCoy M P, Rocke T E, et al. Possible importance of algal toxins in the salton sea, California [J]. *Hydrobiologia*, 2002, 473(1-3):275-292
- [20] 熊青山.对铜绿微囊藻具有溶藻作用的一组细菌群落研究[D].重庆:重庆师范大学,2016
- XIONG Qing-shan. Research of a group bacterial community that lyse *Microcystis aeruginosa* [D]. Chongqing: Chongqing Normal University, 2016
- [21] Lemonnier H, Courties C, Mugnier C, et al. Nutrient and microbial dynamics in eutrophying shrimp ponds affected or unaffected by vibriosis [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2010, 60(3): 402-411