

海洋多肽与铁皮石斛、巴戟天多糖联用对小鼠 溃疡性结肠炎的改善作用

王艺婷¹, 董静怡¹, 杨丽美¹, 贺莲², 张湘东³, 赖小平¹, 黄松^{1*}

(1. 广州中医药大学中药学院, 广东广州 510006) (2. 广州商学院健康医学院, 广东广州 511300)
(3. 中山大学南沙研究院, 广东广州 510458)

摘要: 该研究比较了混合多肽(鱼胶肽和贻贝肽)与混合多糖(铁皮石斛多糖和巴戟天多糖)单独使用以及联合使用后对溃疡性结肠炎(UC)的干预效果。3%的葡聚糖硫酸钠(DSS)自由饮用7 d诱导C57/BL6小鼠UC模型, 40只小鼠随机分为5组, 正常组、模型组、多肽组、多糖组、联合干预组。结果显示, 在三个干预组中以联合干预组效果最好。与模型组相比, 联合干预组中小鼠体质量变化率增加了8.93%, 疾病活动指数(DAI)评分降低了57.14%, 结肠长度增加了29.64%, 脾脏肿大减轻了26.19%, 肝脏肿大减轻了20.39%。此外病理评分降低了55.43%, 血清中炎症因子如白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的含量分别降低了24.39%、20.69%、26.53%, 紧密连接蛋白ZO-1、Occludin、Claudin1相对表达量分别增加了132.61%、79.49%、112.77%, 以上所有差异均具有统计学意义($P<0.05$)。综上所述, 多糖与多肽联用可以改善DSS诱导的小鼠UC, 防止UC进一步恶化, 该研究结果可为抗溃疡性结肠炎保健食品的开发提供新思路。

关键词: 溃疡性结肠炎; 鱼胶肽; 贻贝肽; 铁皮石斛多糖; 巴戟天多糖; 联合干预

文章编号: 1673-9078(2025)06-42-51

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.6.0536

Ameliorative Effects of Marine Peptides in Combination with Polysaccharides from

Dendrobium officinale and *Morinda officinalis* on Ulcerative Colitis in Mice

WANG Yiting¹, DONG Jingyi¹, YANG Limei¹, HE Lian², ZHANG Xiangdong³, LAI Xiaoping¹, HUANG Song^{1*}

(1. School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

(2. School of Health Medicine, Guangzhou Chinese Business college, Guangzhou 511300, China)

(3. Nansha Institute of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510458, China)

Abstract: The effects of using mixed peptides (fish collagen peptides and mussel peptides) and mixed polysaccharides (*Dendrobium officinale* polysaccharides and *Morinda officinalis* polysaccharides) alone and in combination on dextran sulfate sodium (DSS)-induced ulcerative colitis (UC) were compared. UC was induced in C57/BL6 mice by allowing them to drink 3%

引文格式:

王艺婷,董静怡,杨丽美,等.海洋多肽与铁皮石斛、巴戟天多糖联用对小鼠溃疡性结肠炎的改善作用[J].现代食品科技,2025,41(6):42-51.

WANG Yiting, DONG Jingyi, YANG Limei, et al. Ameliorative effects of marine peptides in combination with polysaccharides from *Dendrobium officinale* and *Morinda officinalis* on ulcerative colitis in mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(6): 42-51.

收稿日期: 2024-04-23

基金项目: 广东省基础与应用基础研究项目(2021B1515140045); 广东省南沙区重点领域科技计划项目(2022ZD004; 2021ZD006)

作者简介: 王艺婷(2001-), 女, 硕士, 研究方向: 中药新产品研究与开发, E-mail: 1706386558@qq.com

通讯作者: 黄松(1975-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 中药新产品研究与开发, E-mail: huangnn421@163.com

DSS solution *ad libitum* for 7 days. A total of 40 mice were randomly divided into five groups: normal group, model group, peptide-treated group, polysaccharide-treated group, and combined intervention group. Combined intervention yielded the best ameliorative effect among the three types of intervention. Compared with the model group, the combined intervention group showed an 8.93% increase in body weight change rate and a 57.14% decrease in disease activity index (DAI) score. In mice in the combined intervention group, the length of the colon increased by 29.64%, while splenomegaly and hepatomegaly were reduced by 26.19% and 20.39%, respectively. The pathological score was decreased by 55.43%, and the levels of the serum inflammatory factors interleukin- 1β (IL- 1β), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) decreased by 24.39%, 20.69%, and 26.53%, respectively. Relative expression levels of tight junction proteins ZO-1, occludin, and claudin 1 increased by 132.61%, 79.49%, and 112.77%, respectively. All noted differences were found to be statistically significant ($P<0.05$). Overall, the combined use of polysaccharides and polypeptides can ameliorate DSS-induced UC in mice and prevent further deterioration due to UC. These findings provide insights into the development of health products to treat UC.

Key words: ulcerative colitis; fish collagen peptides; mussel peptides; polysaccharides of *Dendrobium officinale*; polysaccharides of *Morinda officinalis*; combined intervention

慢性炎症性肠病 (Inflammatory Bowel Disease, IBD) 包括克罗恩病和溃疡性结肠炎^[1,2], 其中克罗恩病 (Crohn's Disease, CD) 病变部位不局限于结直肠, 炎症可以蔓延至小肠、胃、胰腺、食管等多个消化道器官^[3,4], 而溃疡性结肠炎 (Ulcerative Colitis, UC) 发病部位主要集中于结直肠, 以结肠黏膜的糜烂性病变为特征^[1]。

铁皮石斛是药食两用中药之一, 含有多糖、黄酮、生物碱等成分, 具有抗炎、增强免疫、调节胃肠道功能等多种药理活性^[5]。铁皮石斛缓解 UC 在动物实验上已有相关报导, Zhang 等^[6]研究发现铁皮石斛的主要活性成分铁皮石斛多糖可通过修复肠道上皮屏障, 调节肠道菌群, 改善脂肪酸代谢等缓解葡聚糖硫酸钠 (Dextran Sulfate Sodium, DSS) 诱导小鼠 UC; 巴戟天是可以用于保健食品的中药, 巴戟天主要成分有多糖、蒽醌类、环烯醚萜等, 现代药理研究发现其具有抗骨质疏松、增强生殖功能、抗抑郁等多种活性^[7]。巴戟天抗 UC 也有相关研究, Shin 等^[8]和 Chen 等^[9]研究发现巴戟天提取物能有效缓解 UC, 对于 UC 引发的肝损伤及肠纤维化也有较好的疗效; 肽作为蛋白质的构成物质、功能片段, 具有更易吸收、更安全、生物活性更高的特点^[10,11]。据报道, 食源性生物活性肽具有抗炎、延缓衰老、增强免疫力等多种药理活性^[10,12,13]。因此, 食源性生物活性肽在食品保健领域具有潜在开发价值。如 Gao 等^[14]研究发现鲟鱼蛋白肽能抑制 LPS 诱导的巨噬细胞炎症模型, Ge 等^[15]发现蛋清肽能缓解 DSS 诱导的 UC 小鼠肠物理屏障破坏, 减轻小鼠组织炎症浸润等。课题组前期研究了 4 种食源性生物活性

肽, 在鱼胶、贻贝、海参、鲍鱼肽中发现以鱼胶、贻贝在缓解 UC 病症上效果相对突出。

UC 病因病机复杂, 在中医古籍中有诸多提法如泄泻、赤沃、肠痢、大瘕泄等, 常配伍多种中药辩证治疗。在《伤寒论》中将其归为“下利”, 有关“下利”的经方多达 30 多种, 如清热燥湿的葛根芩连汤、止血止痢的桃花汤、涩肠止泻的乌梅汤等。《景岳全书》中认为凡里急后重, 病不在广肠而在脾肾, 常佐以温脾补肾药如巴戟天、淫羊藿等配伍使用^[16]。铁皮石斛主入胃经, 功效益胃生津、滋阴清热, 《神农本草经》将称其强阴, 久服厚肠胃; 巴戟天主入肝肾经, 功效补肾壮阳、祛风除湿; 鱼胶入肝肾经, 《本草纲目》中记载鳔胶, 止呕血, 散瘀血, 消肿毒^[17]; 贻贝入肝肾经, 《本草拾遗》中记载贻贝主虚羸劳损, 腹冷、肠鸣、下痢等^[18]。四种中药功效各具特点, 可能通过多成分多靶点多途径发挥作用。现代药理研究也表明, 复合物能发挥协调作用, 可能比单一产物疗效更优, 张志超等^[19]发现四种香菇复合多糖比单一的猴头菇多糖具有更好的抗氧化能力, 邓晰文等^[20]研究发现余甘子单一提取物及其四种复配物在改善大鼠功能性消化不良上各具优势。因此, 本研究将混合中药多糖与混合海洋多肽及其联用作为实验的研究对象, 探究其对溃疡性结肠炎的影响, 以期 UC 患者日常保健食品开发提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康的 SPF (Specific Pathogen Free, SPF) 级

雄性 C57BL/6 小鼠 [6~8 周龄, 体质量 18~22 g, 动物使用许可证号: SCXK (粤) 2023-0182] 购自广州锐格生物科技有限公司, 所有小鼠均饲养在广州中医药大学中药学院 SPF 级动物房, 动物房 12 h 光照/12 h 黑暗循环, 控制温度在 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$, 湿度控制在 50%~60%, 小鼠可以自由获得纯净水和食物, 所有动物试验均经广州中医药大学动物伦理委员会批准, 动物伦理证明号: ZYD-2024-013。

1.2 试剂

铁皮石斛 (批号: 20230701)、巴戟天 (批号: 20230602), 广州至信堂药业公司; 鱼胶与贻贝, 广州番禺清河海鲜农贸市场; 胰蛋白酶 (批号: T6325), 上海麦克林生化科技股份有限公司; 葡聚糖硫酸钠 (分子量 36 000~50 000 Da, 批号: HA1132), 上海惠诚生物有限公司; 粪便潜血试剂盒 (批号: BA2020B), 珠海贝索生物技术有限公司; 组织包埋盒 (批号: 80106-1100-16)、显微镜载玻片 (批号: 80313-7161-16)、显微镜盖玻片 (批号: 80340-0130), 江苏世泰实验器材有限公司; 中性树胶封固剂 (批号: BL704A), 白鲨生物科技有限公司; TO 生物透明剂 (批号: 180826), 广州捷诚生物科技有限公司; 苏木素伊红染色试剂盒 (批号: G1120)、阿利新斯蓝-过碘酸雪夫染色 (Alcian Blue-Periodic Acid-Schiff, AB-PAS) 试剂盒 (批号: G1285), 北京索莱宝科技公司; 小鼠白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β) 酶联免疫吸附测定试剂盒 (批号: MM-0040M1)、白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL6) 酶联免疫吸附测定试剂盒 (批号: MM-0163M1)、肿瘤坏死因子 α (Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α) 酶联免疫吸附测定试剂盒 (批号: MM-0132M1), 上海酶联生物科技有限公司; ZO-1 (Zonula Occludens-1, ZO-1) 抗体 (批号: #AF5145)、Occludin 抗体 (批号: #DF7504), 江苏亲科生物研究中心有限公司; Claudin1 抗体 (批号: 13050-1-AP), 武汉三鹰生物科技有限公司。

1.3 设备

Forma 88000 型 -80°C 超低温冰箱、Excelsior AS 型全自动组织脱水机、HistoStar 型热石蜡组织包埋机、HM340E 型手动旋转组织切片机、Multiskan FC 型全波长多功能酶标仪、Biofuge Stratos 型高速

冷冻离心机, 赛默飞世尔科技公司; DSX1000 型光学显微镜, 日本奥林巴斯株式会社; BE-3200 型涡旋仪、LX-900 型掌上离心机, 海门其林贝尔仪器制造有限公司; BSA224S 型电子分析天平, 德国赛多利斯科学仪器有限公司; Aperio VERSA 型徕卡数字切片扫描仪, 上海新振仪器设备有限公司; Daxluot-24 型匀浆机, 广州誉维生物科技仪器有限公司。

1.4 药材的提取及制备

铁皮石斛多糖提取物: 取铁皮石斛干燥茎适量, 粉碎机粉碎, 过 40 目筛, 按照料液比 1:20 加入蒸馏水, 70°C 提取 2 h, 提取液浓缩至原来体积的 1/5, 加入 4 倍量体积分数 80% 乙醇 4°C 条件下沉淀过夜, 抽滤得到沉淀, 60°C 烘箱烘干得到铁皮石斛多糖粗提物, 置于干燥皿中备用; 巴戟天多糖提取物: 取适量巴戟天, 粉碎后过筛, 按照料液比 1:10 加入蒸馏水, 60°C 条件下回流提取 2 h, 提取液用旋转蒸发仪浓缩后, 加入 5 倍量体积分数 80% 乙醇沉淀, 沉淀物 60°C 烘箱烘干得到巴戟天多糖粗提物, 置于干燥皿中备用; 鱼胶肽的制备: 黄花鱼胶用清水浸软后, 去除杂质, 切块, 放入匀浆机中搅拌均匀。取一定量的鱼胶浆, 按照料液比 1:10 加入蒸馏水, 用 NaOH/HCl 调节 pH 值为 8.0, 酶与底物质量比 5% 加入胰蛋白酶, 50°C 恒温水解 4 h, 酶解液在 100°C 条件下迅速灭酶 10 min 后冷却, 抽滤机过滤得到酶解液, 酶解液经过浓缩后冷冻干燥得到鱼胶肽粉, 于 4°C 冰箱保存; 贻贝肽的制备: 贻贝用清水清洗后, 去壳匀浆, 后续工艺同鱼胶肽提取工艺, 得到贻贝肽冻干粉。

1.5 模型的建立、分组及给药

小鼠适应性喂养一周后, 除正常对照组外, 其余各组均给予质量浓度 3% 的 DSS 自由饮用^[21]。所有小鼠按照体重随机分成 5 组, 每组 8 只。分别为正常组、模型组、多糖组、多肽组、联用组, 其中正常组与模型组灌胃质量浓度 0.9% 的生理盐水, 多肽组灌胃 100 mg/kg 鱼胶肽 + 100 mg/kg 贻贝肽, 多糖组灌胃 100 mg/kg 铁皮石斛多糖 + 100 mg/kg 巴戟天多糖, 联用组给药灌胃 50 mg/kg 铁皮石斛多糖 + 50 mg/kg 巴戟天多糖 + 50 mg/kg 鱼胶肽 + 50 mg/kg 贻贝肽。造模与给药同时进行, 一周后结束实验。具体分组及给药情况可见图 1。

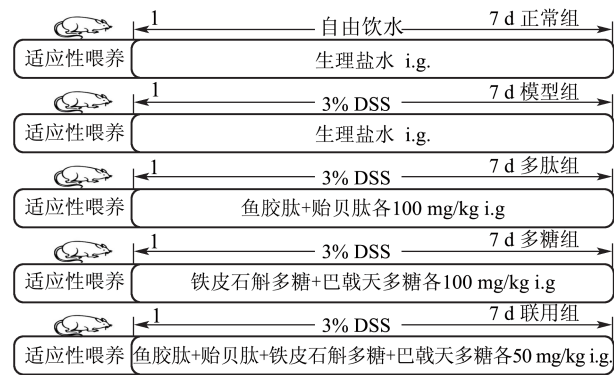


图 1 分组给药图

Fig.1 Group administration chart

1.6 小鼠体质量变化率与疾病活动指数

从造模前一天起，用电子天平每天记录小鼠体质量情况并且对小鼠疾病活动指数（Disease Activity Index, DAI）进行记分，DAI 评分是小鼠体质量下降率、大便性状、便血情况三个指标评分的均值^[22]，DAI 评分可用于评估各组 UC 小鼠的疾病严重程度，具体评分标准见表 1。

表 1 小鼠疾病活动指数评分表

Table 1 Scoring criteria for disease activity index			
评分	体质量下降率/%	大便性状	便血情况
0	无	正常	正常
1	1~5	成型但易粘附	潜血弱阳性
2	5~10	半成型	潜血阳性
3	10~15	稀浆状，不黏附于肛门	潜血强阳性
4	15 以下	黏附于肛门	可见便血

1.7 结肠长度、肝脾系数

小鼠剖开腹部后取出从回盲部至肛门处的所有肠段，小心剔除肠壁外脂肪，组织放入预先配置好的生理盐水中冲洗干净，吸水纸充分吸干水分。每组小鼠结肠需拍照，并且记录每只小鼠结肠自然长度，此外解剖小鼠后，取出脾脏与肝脏，观察脾脏与肝脏的状态并且记录脾脏与肝脏的质量。实验结束后根据此前的记录计算脾脏系数与肝脏系数，计算公式如下所示。

$$W_1=\frac{m_1}{m_0}\times100\%$$
 (1)

$$W_2=\frac{m_2}{m_0}\times100\%$$
 (2)

式中：

W_1 ——脾脏系数，%；

W_2 ——肝脏系数，%；

m_1 ——小鼠脾脏质量，g；

m_2 ——小鼠肝脏质量，g；

m_0 ——小鼠质量，g。

1.8 横切面HE染色

取末端 0.5 cm 左右结肠组织于多聚甲醛中固定 48 h，组织脱水机脱水，石蜡包埋、切片，根据苏木素伊红试染色剂盒相关说明书逐步染色，中性树胶封片后在显微镜下观察各组小鼠结肠组织病理变化情况。对结肠 HE 染色进行组织病理学评分^[23]，病理评分由三名与实验无关人员进行客观评价，病理评分为黏膜损伤程度与黏膜损伤范围的均值，具体评分细则见表 2。

表 2 组织评分标准

Table 2 Histological scoring criteria		
得分	黏膜损伤程度	黏膜损伤范围
1	正常结肠粘膜	正常的结肠黏膜
2	隐窝腺体丢失 1/3	局部黏膜损伤
3	隐窝腺体丢失 2/3	损伤累及 1/3 肠道
4	隐窝腺体全部丢失	损伤累及 2/3 肠道
5	黏膜上皮有明显炎症浸润	损伤累及整个肠道

1.9 横切面AB-PAS染色

包埋好的组织切片后，根据试剂盒说明书操作进行 AB-PAS 染色，观察各组小鼠结肠组织杯状细胞中黏蛋白的表达情况。

1.10 检测血清中炎症因子

小鼠取血后，3 500 r/min 条件下离心 15 min 取得上层血清，分装后于 -80 ℃ 超低温冰箱中存储样品。按照酶联免疫吸附测定试剂盒的相关说明书操作，检测小鼠血清中 IL-1β、IL-6、TNF-α 炎症因子的含量。

1.11 检测肠道相关紧密连接蛋白

解剖后余下结肠组织冻存于 -80 ℃ 冰箱中备用，取 20 mg 结肠组织提取蛋白质，BCA 法测定蛋白浓度，并将样品蛋白浓度归一化处理。根据目的蛋白分子量大小选用 6% 和 8% 的分离胶，配置好分离胶浓缩胶后，使用十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳（Sodium Dodecyl Sulfate/Polyacryl Amide Gel Electrophoresis, SDS/PAGE）分离蛋白质，电泳结束后使用半干转仪将目的蛋白转移到膜上。用 5% 脱脂牛奶在封闭 2 h 后，加入一抗在 4 ℃ 摇床孵育一晚，再用辣根过氧化物酶标记二抗孵育 60 min。显影液

显影, Image J 软件计算灰度值。

1.12 数据处理与分析

两组间差异采用 t 检验, 两组以上的比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。所有统计分析均使用 SPSS 26.0 软件处理, 结果以均值 $\pm$ 均值的标准差表示。

2 结果与讨论

2.1 对小鼠体质量变化率的影响

由于炎症累及消化道, 患者往往伴随食欲不振、营养吸收不充分的现象, 因此 UC 患者常常表现出形体消瘦、贫血萎靡等营养不良状况^[24]。在试验期间, 正常组小鼠毛发乌黑有光泽, 行动自如、精神状态良好, 进食量饮水量在正常范围内无明显异常现象。与正常组相比, 随着 DSS 造模天数的增加, 模型组小鼠进食量饮水量均减少, 食欲明显下降, 精神愈加萎靡、行动变得迟缓, 体质量逐步下降。至实验第 8 天, 与正常小鼠相比, 模型组小鼠平均体质量变化率下降了 13.03%, 差异具有显著性 ($P < 0.001$); 与模型组相比, 多肽组体质量变化率提高了 5.08% ($P < 0.05$), 多糖组体质量变化率提高了 5.77% ($P < 0.05$), 联合干预组体质量变化率提高了 8.93% ($P < 0.01$)。实验结果表明, 每个干预组均能不同程度的改善小鼠体质量下降, 其中联用组效果最突出, 多肽组与多糖组效果相当, 具体结果可见图 2。

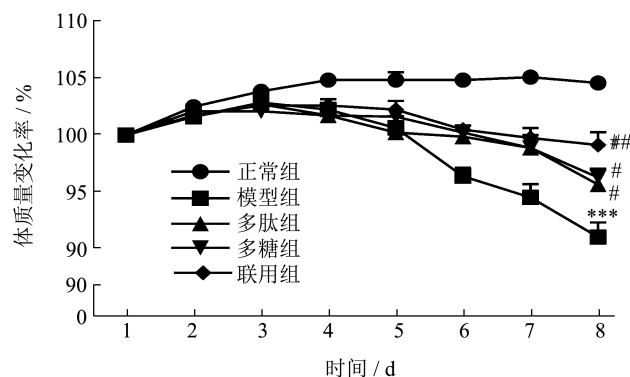


图 2 多肽、多糖及其联用对小鼠体质量变化率的影响

Fig.2 Effects of peptides, polysaccharides and their combination on weight loss in mice ($n=8$)

注: * 表示与正常组相比 $P < 0.05$, ** 表示与正常组相比 $P < 0.01$, *** 表示与正常组相比 $P < 0.001$; # 表示与模型组相比 $P < 0.05$, ## 表示与模型组相比 $P < 0.01$, ### 表示与模型组相比 $P < 0.001$ 。下同。

2.2 对小鼠疾病活动指数的影响

UC 不易根治, 溃疡性结肠炎患者常出现体质量减轻、腹痛腹泻、便血等多种不良症状, 给许多患者的生活造成了巨大困扰^[25]。因此, DAI 评分是评价 UC 的重要指标。实验期间, 模型组小鼠体质量下降明显, 小鼠粪便不成形并且黏附肛门, 粪便潜血严重, 个别小鼠便血肉眼可见, 说明 UC 模型构建成功。实验结束时, 与正常组相比, 模型组总体 DAI 评分升高, 差异具有显著性 ($P < 0.001$); 与模型组相比, 其中多肽组总体 DAI 评分下降了 28.24% ($P < 0.05$), 多糖组总体 DAI 评分下降了 33.55% ($P < 0.05$), 联用组 DAI 评分下降了 57.14% ($P < 0.01$)。试验结果表明, 多肽与多糖合用后降低 DAI 评分效果增强, 各组小鼠 DAI 评分情况可见图 3。

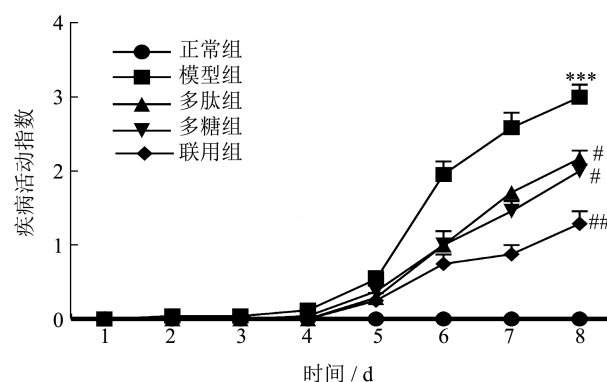


图 3 多肽、多糖及其联用对小鼠疾病活动指数的影响

Fig.3 Effects of peptides, polysaccharides and their combination on disease activity index in mice ($n=8$)

2.3 对小鼠结肠长度的影响

结肠形态与长度的变化可以直观的评价 UC 具体情况, 一般而言 UC 会导致小鼠结肠充血、变短、变脆等^[22]。取出各组小鼠结肠进行观察, 如图 4a 所示, 正常组小鼠结肠形态正常, 肠道内粪便成形, 颜色棕黄色。模型组小鼠结肠肿胀充血, 细看肠道内容物发黑呈脓液状, 结肠组织脆弱易被破坏, 内容物流出。多肽组、多糖组及联用组中小鼠结肠肿胀充血均有所缓解。

如图 4b 所示, 对各组小鼠结肠长度进行统计, 与正常组小鼠结肠长度 (8.24 ± 0.26 cm) 相比, 模型组小鼠结肠长度 (6.31 ± 0.36 cm) 缩短了 23.42%, 差异具有显著性 ($P < 0.001$); 与模型组相比, 多肽组与多糖组对结肠长度缩短有一定抑制作用, 其中多肽组结肠长度 (7.55 ± 0.25 cm) 增加了 19.65% ($P < 0.05$), 多糖组结肠长度 (7.77 ± 0.31 cm)

增加了 23.14% ($P < 0.05$), 联用组小鼠结肠长度 (8.18 ± 0.37 cm) 增加了 29.64% ($P < 0.01$)。实验结果提示, 多糖与多肽联用后能更有效的缓解 UC 充血水肿、结肠缩短等, 表明其对 DSS 诱导的 UC 有一定的缓解作用。

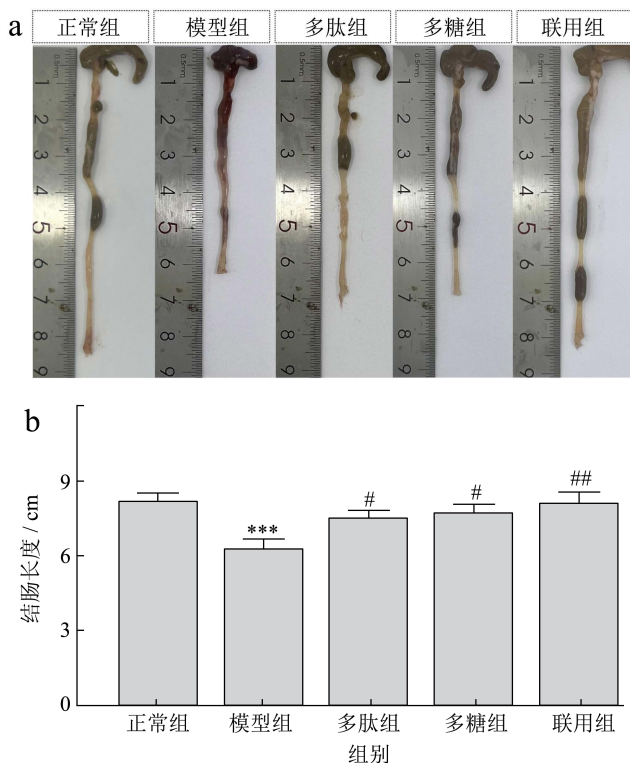


图 4 多肽、多糖及其联用对小鼠结肠形态与长度的影响

Fig.4 Effects of peptides, polysaccharides and their combination on colon morphology and length in mice ($n=6$)

注: a. 小鼠结肠形态图; b. 小鼠结肠长度柱状图。

2.4 对小鼠脾脏、肝脏系数影响

脾脏、肝脏系数是一组常用的指标, 脾脏和肝脏系数能反应身体炎症状况, 当机体炎症严重时, 脾脏与肝脏会肿大, 系数增加^[26,27]。比较各组小鼠脾脏系数, 如图 5a 所示, 与正常组相比, 模型组小鼠脾脏系数增加了 50.00% ($P < 0.01$); 与模型组相比, 多肽组脾脏系数降低了 19.04% ($P < 0.05$), 多糖组脾脏系数降低了 21.43% ($P < 0.05$), 联用组脾脏系数降低了 26.19%。比较各组小鼠肝脏系数, 如图 5b 所示, 与正常组相比, 模型组肝脏系数增加了 31.41% ($P < 0.001$); 与模型组相比, 多肽组肝脏系数降低了 18.63% ($P < 0.01$), 多糖组肝脏系数降低了 16.52% ($P < 0.05$), 联用组肝脏系数降低了 20.39% ($P < 0.01$)。实验结果显示, 多肽、多糖及

其联合干预均能减轻肝脾肿大, 其中以联合干预后对肝脾肿大的抑制效果最好, 表明其对 DSS 诱导的 UC 小鼠免疫器官损伤有一定的缓解效果。

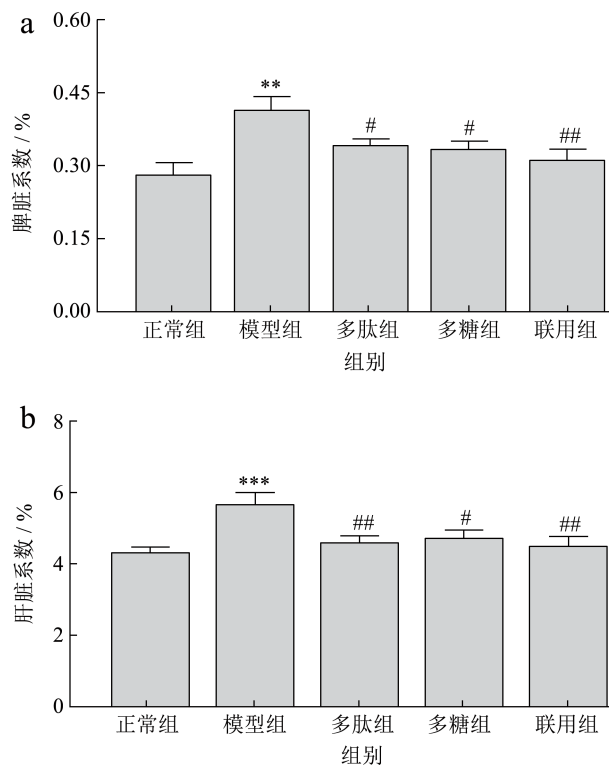


图 5 多肽、多糖及其联用对小鼠脾脏系数与肝脏系数的影响

Fig.5 Effects of peptides, polysaccharides and their combination on spleen index and liver index in mice ($n=8$)

2.5 结肠横切面HE染色结果分析

由图 6 可见, 黑色虚线所示区域为黏膜上层, 正常组小鼠结肠黏膜上皮细胞排列整齐, 边缘可区分, 模型组小鼠结肠上皮细胞排列紊乱, 呈锯齿状; 黄色虚线所示区域为隐窝, 正常组小鼠黏膜固有层隐窝数量丰富, 形态清晰, 排列紧密, 而模型组小鼠固有层肠腺被破坏, 隐窝萎缩、空泡甚至消失不见, 隐窝间距增大; 黑色箭头所指为炎性浸润, 正常组结肠组织并无明显炎性浸润, 模型组中大量炎性细胞从黏膜上层浸润直至黏膜下层, 此外模型组小鼠黏膜肌层与黏膜下层分离, 且黏膜肌层和黏膜下层均明显肿胀, 细胞排列无规律, 可见图中黄色虚线双箭头所示。与模型组不同, 多肽组、多糖组上皮细胞排列较为整齐, 肠腺结构得到恢复, 炎性浸润范围缩小, 炎性灶主要集中黏膜固有层, 黏膜肿胀也得以缓解。而联合干预组上皮完整, 隐窝结构恢复得更好, 几乎未见炎症浸润。

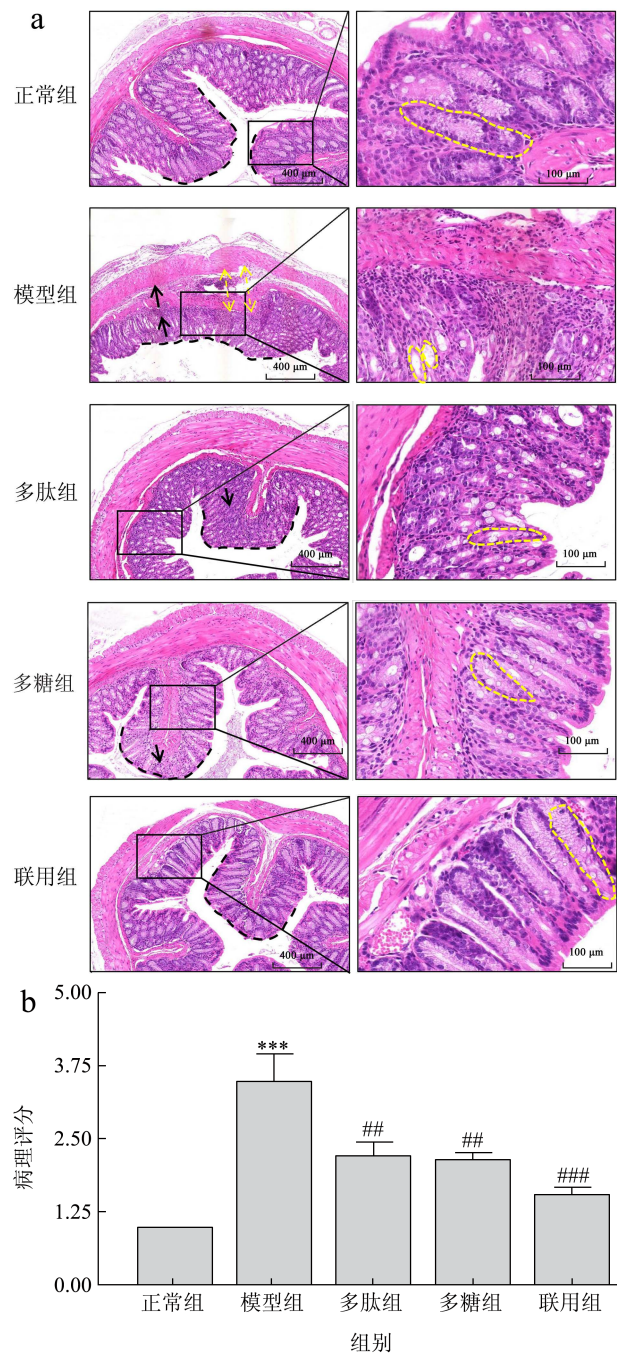


图6 多肽、多糖及其联用对小鼠结肠组织 HE 染色及病理评分的影响

Fig.6 Effects of peptides, polysaccharides and their combination on HE staining and pathological scores of colonic tissues in mice (n=3)

注：a 为 HE 病理染色，其中黑色虚线所示区域为黏膜上层，黄色虚线所示区域为隐窝，黑色箭头所指部位代表炎症细胞浸润区域，黄色虚线双箭头所示为黏膜下层肿胀。b 为病理评分柱状图。

评分结果显示，与正常组相比，模型组病理评分显著升高 ($P<0.001$)；与模型组相比，多肽组病理评分降低了 36.57% ($P<0.01$)，多糖组病理评分

降低了 38.00% ($P<0.01$)，而联用组病理评分下降了 55.43% ($P<0.001$)。实验结果表明，干预后无论是多肽组还是多糖组病理评分均下降，其中多糖与多肽联合使用可以更好修复 DSS 所致结肠组织损伤。

2.6 结肠横切面AB-PAS染色结果分析

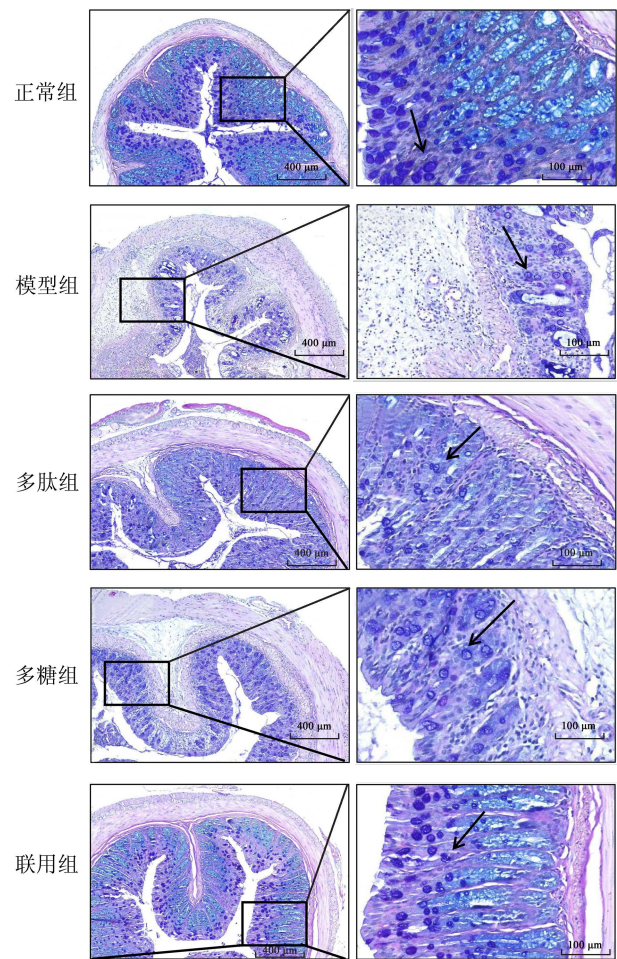


图7 多肽、多糖及其联用小鼠结肠组织 AB-PAS 染色的影响

Fig.7 Effects of peptides, polysaccharides and their combination on AB-PAS staining of colon tissues in mice (n=3)

注：黑色箭头所指被染成蓝色的为杯状细胞。

黏液屏障是肠道化学屏障的一个重要组成部分，杯状细胞分泌的黏液蛋白构成了黏液屏障的主要成分。黏液层覆盖在肠上皮可以将肠道内容物、肠道微生物以及有害成分与肠上皮细胞分隔开，是肠道屏障的第一道防线^[28]。当杯状细胞数量减少黏液层厚度变薄时，黏液屏障变脆弱，UC 会进一步加剧。AB-PAS 染色可以将含有黏性蛋白的细胞或组织染成不同程度的蓝色，其中杯状细胞作为一种特殊的肠上皮细胞可被染成深蓝色，图中黑色箭头所指。如图 7 所示，正常组小鼠黏液层结构清晰，

黏蛋白分布均匀,杯状细胞数量可观;模型组经过DSS造模后,黏液层变薄,黏蛋白含量明显减少,杯状细胞几乎不可见,黏膜屏障被破坏;经过多肽、多糖干预后,黏液层厚度有所增加,杯状细胞减少状况较模型组有所改善,但杯状细胞较之正常组变小萎缩;多糖与多肽联用后,黏液层厚度与杯状细胞数量与正常组较为接近,且杯状细胞体积变大黏蛋白分泌更多。实验结果表明,多糖与多肽可以通过改善黏膜屏障发挥效果,其中多糖与多肽联合使用后效果更优。

2.7 对血清中炎症因子的影响

实验结果见图8所示,与正常组相比,模型组小鼠血清促炎因子IL-1 β 含量升高了32.26% ($P<0.01$)、IL-6含量升高了32.56% ($P<0.001$)、TNF- α 含量升高了63.75% ($P<0.001$);与模型组相比,多肽组血清中IL-1 β 含量下降了8.07%、IL-6含量下降了20.96% ($P<0.001$)、TNF- α 含量下降了20.87% ($P<0.05$);与模型组相比,多糖组血清IL-1 β 含量下降了15.92% ($P<0.05$)、IL-6含量下降了14.21% ($P<0.01$)、TNF- α 含量下降了23.11% ($P<0.05$);与模型组相比,联用组IL-1 β 含量下降了24.39% ($P<0.001$)、IL-6含量下降了20.69% ($P<0.001$)、TNF- α 含量下降了26.53% ($P<0.01$)。实验结果提示,多肽及多糖均具有抑制炎症因子效果,联用后抑制效果更佳。

与实验结果类似,不少研究发现海洋来源的生物活性肽与植物来源的多糖具有显著的抗炎活性,孙东方^[29]研究发现贻贝提取物能降低血清中炎症因子至正常组水平,改善由食物诱导的机体低度炎症。Stefany等^[30]发现来源于巴戟天中的多糖能够显著降低由角叉菜胶、组胺和缓激肽引起的小鼠足跖水肿炎症参数,Liang等^[31]研究发现铁皮石斛多糖能降低促炎因子含量,并通过抑制NLRP3 (Nod-Like Receptor Family Pyrin Domain Containing 3, NLRP3)炎症小体和 β -arrestin1信号通路等缓解UC。也有相当多的研究表明,多糖类成分能提高机体免疫力,其主要机制涉及激活TLR4/NF- κ B (Toll-Like Receptor 4/Nuclear Factor Kappa-B, TLR4/NF- κ B)信号通路,上调促炎因子IL-6、IL-1 β 、TNF- α 等的表达^[32]。两者似乎矛盾,这可能与多糖类成分的双向调节机制相关,当机体免疫反应过度,引发炎症风暴时,多糖又能抑制炎症因子表达,重塑促炎因子与抗炎因子平衡。此外,本次实验提取物是粗多糖,并未进一步纯化,也可能与铁皮石斛与巴戟天

中其他成分如黄酮类、蒽醌类、萜类等发挥作用有关^[33,34],其具体机制还有待进一步研究。

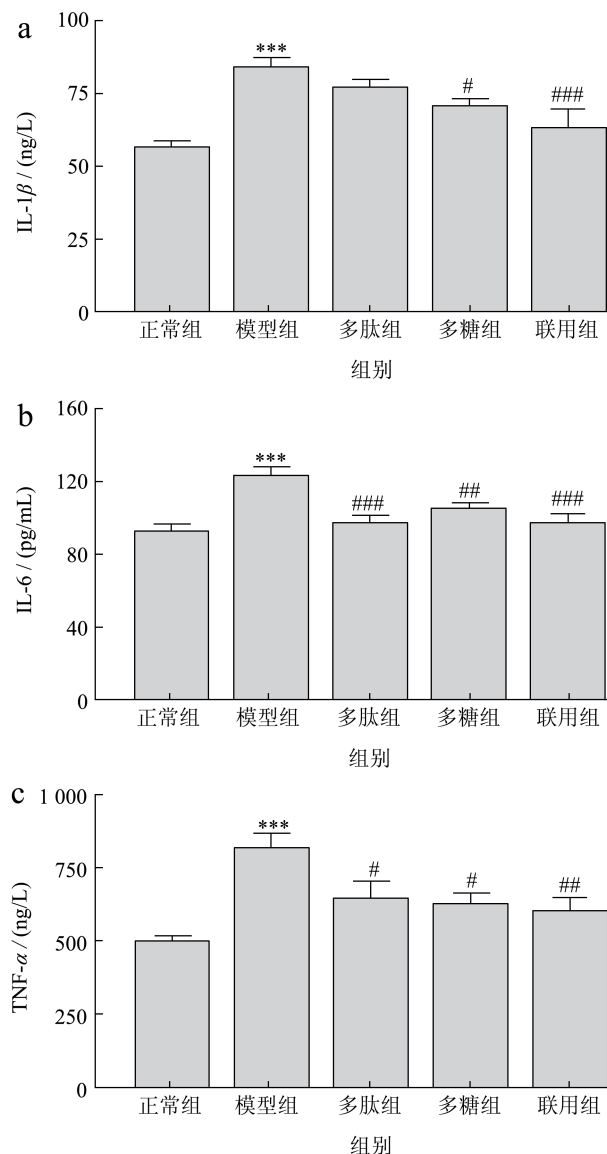


图8 多肽、多糖及其联用对血清中相关炎症因子含量的影响

Fig.8 Effects of peptides, polysaccharides and their combination on the levels of related inflammatory factors in serum ($n=6$)

2.8 对肠道紧密连接相关蛋白影响

附着蛋白ZO-1、咬合蛋白Occludin以及闭合蛋白Claudin1是组成紧密连接的关键蛋白,紧密连接蛋白是肠道机械屏障的一个重要部分,紧密连接能维持上皮细胞完整性防止细菌、病原体、毒素等入侵肠黏膜引发肠黏膜固有层免疫细胞的异常免疫应答等^[35]。Western blot结果如图9所示,与正常组相比,模型组小鼠紧密连接蛋白ZO-1、Occludin、Claudin1相对表达量分别下降了59.29% ($P<0.05$)、54.12% ($P<0.01$)、56.88% ($P<0.05$),这说明

UC 小鼠肠道物理屏障被严重破坏；与模型组相比，多肽组 ZO-1、Occludin 和 Claudin1 蛋白的相对表达量有所增加，但并无显著性差异；多糖组三个蛋白相对表达量也增加，其中 ZO-1 相对表达量增加了 115.22% ($P<0.05$)；联合干预组效果最优，ZO-1 相对表达量升高了 132.61% ($P<0.05$)、Occludin 相对表达量升高了 79.49% ($P<0.05$)、Claudin1 相对表达量升高了 112.77% ($P<0.05$)。与研究结果一致，Zhang 等^[36]采用灌胃 300 mg/kg 的铁皮石斛超细粉治疗 DSS 诱导的大鼠溃疡性结肠炎，发现铁皮石斛超细粉能通过提高 ZO-1、Occludin 及 Claudin1 的相对表达发挥疗效。以上结果表明，多糖与多肽联合使用后能更有效的增强肠道物理屏障从而缓解溃疡性结肠炎。

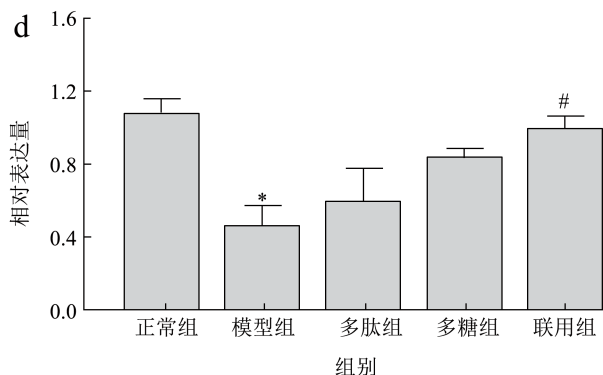
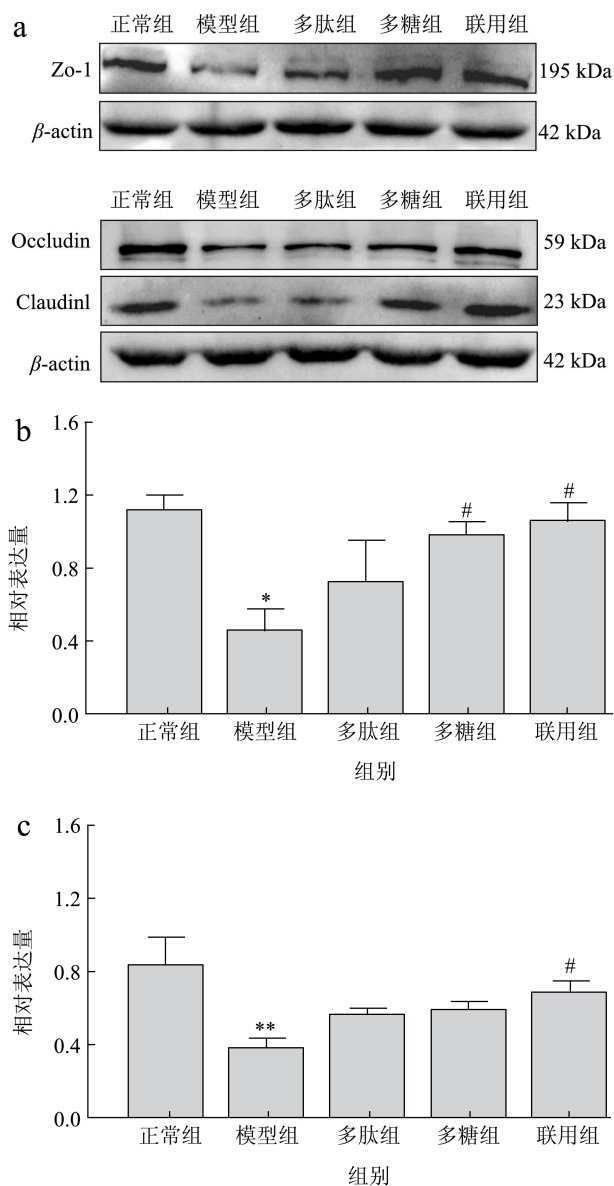


图9 多肽、多糖及其联用对紧密连接相关蛋白的影响

Fig.9 Effects of peptides, polysaccharides and their combination on tight junction related proteins ($n=3$)

注：a：蛋白条带图；b：ZO-1 蛋白相对表达量；c：Occludin 蛋白相对表达量；d：Claudin1 蛋白相对表达量。

3 结论

UC 是一种迁延不愈的慢性疾病，临床上难以治愈。目前针对 UC 的药物主要是氨基水杨酸类、糖皮质激素类、免疫抑制剂等，但此类药物治疗作用有限，且副作用大^[37]。随着养生保健观念的普及，保健食品用于辅助调节 UC 患者的身心健康得到越来越多的认可。本研究建立了 DSS 诱导的溃疡性结肠炎小鼠模型，比较了混合多肽与混合多糖单独使用以及联合使用对 UC 的干预效果，重点关注联合干预后对 UC 的影响。在总体干预剂量相同的情况下，多肽与多糖联用后可以更好的抑制 UC 小鼠体质量下降、降低 DAI 值、缓解结肠缩短及水肿、减轻肝脾肿大、修复肠道组织损伤、增强黏膜屏障、减少血清中炎症因子含量以及修复肠道物理屏障等。这提示多糖与多肽联用能有效的缓解 UC，为 UC 相关保健食品开发提供了理论依据。

参考文献

- [1] BRUNER L P, WHITE A M, PROKSELL S. Inflammatory bowel disease [J]. Primary Care, 2023, 50(3): 411-427.
- [2] FLYNN S, EISENSTEIN S. Inflammatory bowel disease presentation and diagnosis [J]. The Surgical Clinics of North America, 2019, 99(6): 1051-1062.
- [3] DOLINGER M, TORRES J, VERMEIRE S. Crohn's disease [J]. The Lancet, 2024, 403(10432): 1177-1191.
- [4] GAJENDRAN M, LOGANATHAN P, CATINELLA A P, et al. A comprehensive review and update on Crohn's disease [J]. Disease-a-month, 2018, 64(2): 20-57.

- [5] 孟继坤,张楠,吴浩,等.超高压提取铁皮石斛多糖工艺优化及其抗氧化活性分析[J].食品与机械,2023,39(1):157-163.
- [6] ZHANG Y, WU Z, LIU J, et al. Identification of the core active structure of a *Dendrobium officinale* polysaccharide and its protective effect against dextran sulfate sodium-induced colitis via alleviating gut microbiota dysbiosis [J]. Food Research International, 2020, 137: 109641.
- [7] 赖岚玉,罗志锋,朱思阳,等.盐制巴戟天多糖结构表征及其免疫活性[J].现代食品科技,2023,39(2):197-204.
- [8] SHIN J S, YUN K J, CHUNG K S, et al. Monotropein isolated from the roots of *Morinda officinalis* ameliorates proinflammatory mediators in RAW 264.7 macrophages and dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis via NF-kappaB inactivation [J]. Food and Chemical Toxicology, 2013, 53: 263-271.
- [9] CHEN Y, LU Y, PEI C, et al. Monotropein alleviates secondary liver injury in chronic colitis by regulating TLR4/NF-kappaB signaling and NLRP3 inflammasome [J]. European Journal of Pharmacology, 2020, 883: 173358.
- [10] 杨晓男,阮丽君,江兴,等.多肽类药物与中药肽研究展望[J].中国中药杂志,2022,47(22):5978-5990.
- [11] WANG B, XIE N, LI B. Influence of peptide characteristics on their stability, intestinal transport, and *in vitro* bioavailability: A review [J]. Journal of Food Biochemistry, 2019, 43(1): e12571.
- [12] LAU J L, DUNN M K. Therapeutic peptides: Historical perspectives, current development trends, and future directions [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2018, 26(10): 2700-2707.
- [13] 张芷萌,倪策,欧晓晖,等.食源性生物活性肽的免疫功能研究进展[J].食品与机械,2023,39(5):193-202.
- [14] GAO R, SHU W, SHEN Y, et al. Sturgeon protein-derived peptides exert anti-inflammatory effects in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages via the MAPK pathway [J]. Journal of Functional Foods, 2020, 72: 104044.
- [15] GE H, CAI Z, CHAI J, et al. Egg white peptides ameliorate dextran sulfate sodium-induced acute colitis symptoms by inhibiting the production of pro-inflammatory cytokines and modulation of gut microbiota composition [J]. Food Chemistry, 2021, 360: 129981.
- [16] 纪凌云,姜璐,周晓凤,等.溃疡性结肠炎辨证论治四法[J].山东中医杂志,2021,40(3):239-243.
- [17] 朱凯悦,孙娜,董秀萍,等.鱼胶的研究进展[J].食品与发酵工业,2022,48(3):284-290.
- [18] 蒋鑫怡,杨大鹏,韦源青,等.贻贝活性肽类研究与展望[J].南京中医药大学学报,2022,38(10):870-879.
- [19] 张志超,吴迷,田笑,等.四种食用菌复合多糖体外协同抗氧化活性研究[J].湖北农业科学,2018,57(3):78-80.
- [20] 邓晰文,彭新安,林倩如,等.余甘子提取物及其复配物对功能性消化不良小鼠的改善作用[J].现代食品科技, 2023,39(5):8-13.
- [21] ZHANG L, ZHANG Y, ZHONG W, et al. Heme oxygenase-1 ameliorates dextran sulfate sodium-induced acute murine colitis by regulating Th17/Treg cell balance [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2014, 289(39): 26847-26858.
- [22] YAN S, WEI H, JIA R, et al. Wu-Mei-Wan ameliorates murine ulcerative colitis by regulating macrophage polarization [J]. Frontiers in Pharmacology, 2022, 13: 859167.
- [23] ZHANG Q, ZHAO Q, LI T, et al. Lactobacillus plantarum-derived indole-3-lactic acid ameliorates colorectal tumorigenesis via epigenetic regulation of CD8(+) T cell immunity [J]. Cell Metabolism, 2023, 35(6): 943-960.
- [24] FORBES A, ESCHER J, HEBUTERNE X, et al. ESPEN guideline: Clinical nutrition in inflammatory bowel disease [J]. Clinical Nutrition, 2017, 36(2): 321-347.
- [25] 苏晓路,董弛,张静,等.溃疡性结肠炎临床病理特点及鉴别诊断[J].生物医学转化,2022,3(2):66-74.
- [26] XIAO H, LI H, WEN Y, et al. Tremella fuciformis polysaccharides ameliorated ulcerative colitis via inhibiting inflammation and enhancing intestinal epithelial barrier function [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 180: 633-642.
- [27] 张靖伟,姜旋,朱升龙,等.n-3多不饱和脂肪酸加重FFAR4基因缺失小鼠结肠炎进程[J].食品与生物技术学报, 2024,43(1):13-19.
- [28] 胡流云,周钰龙,左胜,等.3种不同组分香菇多糖对溃疡性结肠炎小鼠的缓解作用[J].食品研究与开发,2023, 44(23): 56-66.
- [29] 孙东方.基于肠道菌群探究贻贝提取物对食物诱导的系统低度炎症的干预作用[D]广州:广东海洋大学,2020.
- [30] SOUSA S G, OLIVEIRA L A, de AGUIAR M D, et al. Chemical structure and anti-inflammatory effect of polysaccharide extracted from *Morinda citrifolia* Linn [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 197: 515-523.
- [31] LIANG J, CHEN S, CHEN J, et al. Therapeutic roles of polysaccharides from *Dendrobium officinale* on colitis and its underlying mechanisms [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 185: 159-168.
- [32] ELLEFSEN C F, WOLD C W, WILKINS A L, et al. Water-soluble polysaccharides from *Pleurotus eryngii* fruiting bodies, their activity and affinity for Toll-like receptor 2 and dectin-1 [J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 264: 117991.
- [33] ZHANG P, ZHANG X, ZHU X, et al. Chemical constituents, bioactivities, and pharmacological mechanisms of *Dendrobium officinale*: A review of the past decade [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(41): 14870-14889.
- [34] 陈秋铃.中药巴戟天的化学成分研究[D]广州:暨南大学, 2022.
- [35] BUCKLEY A, TURNER J R. Cell biology of tight junction barrier regulation and mucosal disease [J]. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2018, 10(1): a029314.
- [36] ZHENG X, XIONG T, ZHANG K, et al. Benefit effect of *Dendrobium officinale* ultrafine powder on DSS-Induced ulcerative colitis rats by improving colon mucosal barrier [J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2021, 2021: 1-10.
- [37] LEIKIN J B. A comprehensive review and update on ulcerative colitis foreword [J]. Disease-a-month, 2019, 65(12): 100852.