

基于 RAW264.7、Caco-2 细胞模型与小鼠模型探究海带岩藻多糖对溃疡性结肠炎的保护作用

郭亚涛, 张自业*, 李振兴, 林洪

(中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266404)

摘要: 溃疡性结肠炎 (Ulcerative Colitis, UC) 常伴随炎症、氧化应激与肠屏障损伤, 为探究海带岩藻多糖 (*Laminaria Japonica* Fucoidan, LJF) 对其的保护作用与潜在机制, 研究通过建立三种体外细胞模型评估 LJF 抗 UC 活性。结果显示, LJF 较 CF 的糖醛酸、岩藻糖含量与分子量更高, 微观结构更加完整致密。在 $12.5\sim 200\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内, LJF 干预效果呈剂量依赖性增强。LJF 下调 RAW264.7 炎症细胞模型中炎症介质水平, 上调抗炎细胞因子, 其机制可能与抑制 TLR2/NF- κ B/p38 MAPK 通路及炎症小体的表达相关。同时, $200\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ LJF 调节 Caco-2 氧化损伤细胞模型中氧化应激相关基因和紧密连接蛋白基因, 使活性氧水平较模型组降低 68.98%、细胞活力较模型组提高 67.70%。此外, 相较模型组, $200\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ LJF 可提高跨上皮电阻值, 改善 Caco-2 单层细胞屏障损伤, 使细胞活力提高 19.94%。体内结果显示, 口服 LJF 可减轻表观症状。在体内外指标上, LJF 显示出优于商业化岩藻多糖且与美沙拉嗪相当的作用效果。结果表明, LJF 可通过抗炎、抗氧化及保护肠细胞屏障多重途径发挥抗 UC 活性, 为 UC 的营养干预及相关功能食品开发提供理论基础。

关键词: 海带岩藻多糖; 溃疡性结肠炎; 抗炎; 氧化损伤; RAW264.7; Caco-2

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2027.6.0610

Protective Effect of *Laminaria Japonica* Fucoidan against Ulcerative Colitis Based on RAW264.7, Caco-2 Cell Models and Mouse Model

GUO Yatao, ZHANG Ziye*, LI Zhenxing, LIN Hong

(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266404, China)

Abstract: Ulcerative colitis (UC) is frequently accompanied by inflammation, oxidative stress and intestinal barrier injury. To investigate the protective effects and underlying mechanisms of *Laminaria japonica* fucoidan (LJF) against UC, three *in vitro* cell models were constructed to evaluate the anti-UC activity of LJF. Results showed that, compared with commercial fucoidan (CF), LJF exhibited higher contents of uronic acid and fucose, a higher molecular weight, and a more intact and compact microstructure. Within the concentration range of $12.5\sim 200\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, LJF exhibited a dose-dependent increase in efficacy. In the RAW264.7 inflammatory cell model, the levels of inflammatory mediators were downregulated and anti-inflammatory cytokines were upregulated by LJF, and the underlying mechanism may involve the inhibition of the TLR2/NF- κ B/p38 MAPK pathway and the expression of the inflammasome. Furthermore, $200\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ LJF regulated the expression of oxidative stress-related genes and tight junction protein genes in oxidatively damaged Caco-2 cells, reducing intracellular reactive oxygen species by 68.98% and elevating cell viability by 67.70% compared with the model group. Additionally, compared with the model group, treatment with $200\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ LJF significantly increased transepithelial electrical resistance, ameliorated the impairment of the Caco-2 monolayer cell barrier, and enhanced cell viability by 19.94%. *In vivo* results demonstrated that oral administration of LJF alleviated macroscopic symptoms. In terms of *in vitro* and *in vivo* experiments, LJF demonstrated superior efficacy to commercial fucoidan and effects comparable to those of mesalazine. These findings indicate that the anti-UC activity of LJF is exerted through multiple pathways including anti-inflammation, antioxidation, and protection of the intestinal epithelial barrier, providing a theoretical basis for nutritional intervention for UC and the development of related functional foods.

Keywords: *Laminaria japonica* fucoidan; ulcerative colitis; anti-inflammation; oxidative damage; RAW264.7; Caco-2

收稿日期: 2026-04-20; 修回日期: 2026-06-04; 接受日期: 2026-06-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (32572710)

作者简介: 郭亚涛 (1999-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 海洋功能活性物质, E-mail: 15515483619@163.com

通讯作者: 张自业 (1989-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品安全与健康, E-mail: zhangziye@ouc.edu.cn

海带作为中国养殖规模最大、产业化程度最高的经济藻类之一,资源储量丰富,兼具经济、食用与药用价值,在食品工业、农业、医药健康等领域应用广泛^[1]。岩藻多糖又称褐藻糖胶,是一类主要存在于海带、裙带菜等褐藻中的天然硫酸化多糖。其主要由岩藻糖和少量木糖、葡萄糖及糖醛酸等单糖组成,并富含硫酸基团,属于褐藻特有的功能性生物大分子^[2]。近年来,大量研究表明,岩藻多糖具有良好的生物相容性和低毒性,并在抗炎、抗氧化、免疫调节、抗肿瘤和肠道屏障保护等方面表现出多重生物活性,使其在肠道疾病预防与辅助缓解领域备受关注^[3]。

溃疡性结肠炎(Ulcerative Colitis, UC)是炎症性肠病的主要类型之一,是一种慢性、复发性的肠道炎症性疾病,近年来全球患病率和发病率持续上升^[4]。尽管 UC 的确切病因尚不明确,但现有研究表明其发病机制与遗传、环境、免疫失调、肠道屏障破坏等多因素的复杂交互作用相关^[5]。UC 的核心病理特征包括肠黏膜免疫紊乱、肠上皮屏障功能缺陷与慢性复发性炎症,这种恶性循环与炎症信号通路的激活、氧化应激的发生密切相关^[6]。当前治疗以控制炎症、缓解症状为主,常用药物包括氨基水杨酸类制剂(如美沙拉嗪 Mesalazine, MZ)、糖皮质激素等^[7]。其中, MZ 作为缓解轻中度 UC 的常用药物,能够通过抑制促炎介质的产生和调节免疫反应发挥抗炎作用,但长期使用可能会出现副作用或失效^[8]。

以往关于岩藻多糖与 UC 的大多数体外研究都集中在单一模型上,缺乏对炎症、氧化应激和肠道屏障功能交互作用的系统阐明,且与商业化产品的效果对比鲜有报道。因此,本研究制备了海带岩藻多糖(*Laminaria Japonica* Fucoidan, LJF),同时设置商业化岩藻多糖(Commercial Fucoidan, CF)和 MZ 分别作为对照的样品和药品;通过构建 RAW264.7 细胞炎症模型、Caco-2 细胞氧化损伤模型、Caco-2 单层细胞屏障损伤模型与 UC 小鼠模型,系统探究 LJF 对 UC 的保护作用与潜在分子机制并比较 LJF 与 CF、MZ 的干预效果。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

海带原料采集于福建霞浦;美沙拉嗪、叔丁基过氧化氢(Tert-Butyl Hydroperoxide, TBHP),购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;对照所用市售海带岩藻多糖购自山东海洋生物加工企业,纯度>90%;脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS),美国 Sigma 公司;葡聚糖硫酸钠(Dextran Sulfate Sodium, DSS),购自上海翌圣生物科技有限公司;CCK-8、前列腺素 E₂(Prostaglandin E₂, PGE₂)检测试剂盒,购自北京索莱宝科技有限公司;肿瘤坏死因子- α (Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-10(Interleukin-10, IL-10)、环氧化酶-2(Cyclooxygenase-2, COX-2)检测试剂盒,购自武汉博士德生物工程有限公司;乳酸脱氢酶(Lactate Dehydrogenase, LDH)检测试剂盒,购自普洛麦格生物技术有限公司;RNA 提取、逆转录、qPCR 试剂盒,购自香港吐露港生物科技有限公司。6 周龄 C57BL/6 雄性小鼠(22 $\pm$ 1 g)购自济南朋悦实验动物繁育有限公司,生产许可证号为 SCXK(鲁)20220006,动物实验由中国海洋大学食品科学与工程学院实验动物伦理委员会审批,伦理编号为 SPXY2025061011。

1.2 仪器与设备

SuperMax 3000F1 型全波长多功能酶标仪,上海闪谱生物科技有限公司;QuantStudioTM1 实时荧光定量 PCR 仪,中国生命科技控股私人有限公司;MILLICELL-ERS2 细胞电阻仪,美国默克公司。

1.3 实验方法

1.3.1 LJF 的制备

岩藻多糖是根据先前描述的方法提取的,并进行了修改^[9]。操作如下:海带经清洗烘干、研磨后,以石油醚回流脱脂 24 h。脱脂海带粉按料液比 1:30(m/V)的比例与蒸馏水混合,85℃水浴中磁力搅拌提取 3 h,期间超声处理 30 min。离心取上清,旋蒸浓缩后加入其 1/4 体积氯化钙溶液。离心取上清,加入无水乙醇至 80%(φ),4℃静置过夜。沉淀经无水乙醇洗涤、晾干后复溶,加入无水乙醇,收集 30%~80%(φ)区间内析出的岩藻多糖组分,经 Sevage 法脱蛋白并透析 48 h,冷冻干燥后得到纯化海带岩藻多糖(LJF)。

1.3.2 LJF 与 CF 的表征

1.3.2.1 LJF 与 CF 的组分测定

采用苯酚-硫酸法测定中性糖含量,采用咔唑-硫酸法测定糖醛酸含量,采用硫酸钡比浊法测定硫酸根含量,采用考马斯亮蓝法测定蛋白含量^[9]。

1.3.2.2 傅里叶红外光谱分析

将干燥的样品与 KBr 按照质量比 1:50 在玛瑙研钵中充分研磨,压片处理后,采用红外光谱仪在 4 000~400 cm⁻¹ 波数范围内进行扫描^[10]。

1.3.2.3 扫描电子显微镜分析

使用导电胶将样品固定并进行喷金处理。将喷金后的样品放置在电镜样品台上,调节加速电压 10 kV,对多糖样品微观形貌特征进行扫描观察^[11]。

1.3.3 RAW264.7 与 Caco-2 细胞培养

RAW264.7 与 Caco-2 细胞使用含 10%胎牛血清(φ)、1%双抗(青霉素与链霉素)(φ)的高糖 DMEM 培养基,在 37℃、5% CO₂ (φ) 的培养箱中进行培养。

细胞接种时,96 孔板中每孔接种 5×10⁴ 个细胞,6 孔板中每孔 1×10⁶ 个细胞。贴壁 24 h 后分为 7 组,分别为:阴性对照组(Negative Control Group, NC)、模型对照组(Model Control Group, MC)、低/中/高剂量岩藻多糖组(Low/Medium/High-dose LJF Group, L/M/H-LJF)、高剂量市售岩藻多糖对照组(High-dose CF Group, H-CF)、高剂量美沙拉嗪对照组(High-dose MZ Group, H-MZ),每组根据后续实验进行不同处理。

1.3.4 RAW264.7 细胞炎症模型

1.3.4.1 LJF、CF 与 MZ 对 RAW264.7 细胞活力的影响

在 96 孔板中每孔接种 5×10⁴ 个细胞,贴壁 24 h 后,分别更换为含有 0、12.5、50、200、400 μg·mL⁻¹ LJF、CF、MZ 的完全培养基,处理 24 h。移除培养基,细胞用 PBS 润洗后,加入含 10% CCK-8 (φ) 的培养基孵育 2 h,酶标仪检测 450 nm 处的吸光值,计算细胞活力。

1.3.4.2 RAW264.7 细胞 NO 释放量测定

参照 1.3.3 节方法在 96 孔板中接种 RAW264.7 细胞并分组。NC 组加入完全培养基;MC 组加入含有 1 μg·mL⁻¹ LPS 的完全培养基;L-LJF、M-LJF 与 H-LJF 组分别加入含有 1 μg·mL⁻¹ LPS 和 LJF 的完全培养基,其中 LJF 质量浓度分别为 12.5、50、200 μg·mL⁻¹;H-CF 组、H-MZ 组加入含有 1 μg·mL⁻¹ LPS 和 200 μg·mL⁻¹ 的 CF 或 MZ 的完全培养基。200 μg·mL⁻¹ 的 MZ 对细胞无毒性,符合既往细胞研究的质量浓度使用范围,存在药理研究意义^[12]。处理 24 h 后,采用 Griess 法测定各组上清在 540 nm 处吸光度,计算细胞 NO 释放量。

1.3.4.3 Elisa 检测

参照 1.3.3 节与 1.3.4.2 节方法在 6 孔板中接种分组并处理 24 h,按照 Elisa 试剂盒说明书测定 IL-10、IL-6、TNF- α 、PGE₂ 与 COX-2 的含量。

1.3.4.4 RAW264.7 细胞炎症相关基因相对表达量的测定

参照 1.3.3 节与 1.3.4.2 节方法在 6 孔板中接种分组,处理适当时间后弃去培养基。PBS 清洗 3 次,按照试剂盒说明书进行 RNA 提取、逆转录和 qPCR 反应。采用 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法计算目的基因的相对表达量。引物序列见表 1。

表 1 RT-qPCR 引物序列

Table 1 Primer sequences for RT-qPCR

目的基因	上游引物 (5'-3')	下游引物 (5'-3')
<i>GAPDH</i>	CGACCCCTTCATTGACCTCAA	ATGCAGGGATGATGTTCTGGG
<i>TLR2</i>	CAAAGAGCCTGAAGTGGGAG	CAGCTGGAGAACTCTGACCC
<i>TLR4</i>	AACAGCCTGAGACACTTAGACC	TGCTGAAAATCCAGGTGCTG
<i>NF-κB</i>	CCAAAGAAGGACACGACAGAATC	GGCAGGCTATTGCTCATCACA
<i>p38</i>	CGAGCGTTACCAGAACCTGT	TCAGATCTGCCCCCATGAGA
<i>NLRP3</i>	GTGTTGTCAGGATCTCGCAT	CTGCAAGTTACACTGTGGGT
<i>Caspase-1</i>	CATCTTTCTCCGAGGGTTGG	TGTGGTCCCACATAITCCCT

1.3.5 Caco-2 细胞氧化损伤模型

1.3.5.1 LJF、CF、MZ 与 TBHP 对 Caco-2 细胞活力的影响

参照 1.3.4.1 节方法测定 LJF、CF 与 MZ 对 Caco-2 细胞活力的影响。在 96 孔板中每孔接种 5×10^4 个 Caco-2 细胞,贴壁 24 h 后,更换为含有 0、50、100、200、400 $\mu\text{mol L}^{-1}$ TBHP 的无血清培养基,分别刺激 1、2、4 h。根据 1.3.4.1 节方法测定 450 nm 处的吸光值,并计算细胞活力。

1.3.5.2 LJF 对 TBHP 诱导的 Caco-2 细胞活力下降的影响

参照 1.3.4.2 节方法,将 $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ LPS 替换为 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ TBHP,采用无血清培养基刺激 4 h,根据 1.3.4.1 节方法测定 450 nm 处的吸光值,并计算细胞活力。

1.3.5.3 Caco-2 ROS 变化的测定

参照 1.3.5.2 节方法进行分组与处理。处理适当时间后弃去培养基,PBS 洗涤,加入 DCFH-DA 探针避光孵育 30 min。PBS 洗涤 3 次,加 100 μL 0.2% Triton X-100 (ϕ) 裂解 20 min,酶标仪于激发波长 488 nm,发射波长 525 nm,检测各孔荧光强度值,以相对荧光强度表示细胞内 ROS 水平。

1.3.5.4 Caco-2 细胞相关基因相对表达量的测定

参照 1.3.3 节与 1.3.5.2 节方法在 6 孔板中接种分组,处理适当时间后弃去培养基。参照 1.3.4.4 节方法进行总 RNA 提取、逆转录和 qPCR,并计算目的基因的相对表达量。引物序列表 2。

表 2 RT-qPCR 引物序列

Table 2 Primer sequences for RT-qPCR

目的基因	上游引物 (5'-3')	下游引物 (5'-3')
<i>GAPDH</i>	GCGCCCAATACGACCAAATC	GACAGTCAGCCGCATCTTCT
<i>Claudin-1</i>	GAAGTGCTTGGAAGACGATG	GAGCCTGACCAAATTCGTAC
<i>Occludin</i>	CTTCCAATGGCAAAGTGAATG	TACCACCGCTGCTGTAACGAG
<i>ZO-1</i>	CGAAGGAGTTGAGCAGGAAA	GGTAATATGGTGAAGTTAGAG
<i>Nrf2</i>	CTGGTCATCGGAAAACCCCA	TCTGCAATTCTGAGCAGCCA
<i>NF-κB1</i>	TTTTCGACTACGCGGTGACA	GTTACCCAAGCGGTCCAGAA
<i>ERK1</i>	GGCCCGAACTACCTACAGTC	GAAGATGAGCTCCTTCAGCCG

1.3.6 Caco-2 单层细胞屏障损伤模型

1.3.6.1 DSS 对 Caco-2 细胞活力的影响

在 96 孔板中每孔接种 5×10^4 个 Caco-2 细胞,贴壁培养 24 h 后,更换为含 0 wt.%~10 wt.% DSS 的无血清培养基,处理 24 h。根据 1.3.4.1 节方法测定 450 nm 处的吸光值,并计算细胞活力。

1.3.6.2 LJF 对 DSS 诱导的 Caco-2 细胞活力下降的影响

参照 1.3.4.2 节方法,将 $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ LPS 替换为 4 wt.% DSS,采用无血清培养基培养 24 h,根据 1.3.4.1 节方法测定 450 nm 处的吸光值,并计算细胞活力。

1.3.6.3 Caco-2 细胞 COX-2、PGE₂、LDH 含量检测

参照 1.3.3 节方法在 6 孔板中接种 Caco-2 细胞并分组,参照 1.3.6.2 节方法对细胞进行处理,并按照试剂盒的说明书测定 PGE₂、COX-2 与 LDH。

1.3.6.4 Caco-2 细胞单层细胞屏障的建立

在 Transwell 小室的上室中接种 2.5×10^5 个 Caco-2 细胞,下室加入 1.5 mL 完全培养基。培养 21 天,细胞充分分化后,参照 1.3.6.2 节方法对细胞处理 24 h,并分别在处理后的第 0、3、6、12、18、24 h 时测定细胞跨上皮电阻 (Transepithelial Electrical Resistance, TEER) 值,每个时间点每孔测量 3 次,取平均值用于分析。根据公式 (1) 计算 TEER 变化率:

$$RC = \left[1 - \frac{R_t - R_c}{R_0 - R_c} \right] \times 100\% \quad (1)$$

式中:

RC——相对于初始时刻的 TEER 值变化率, %;

R_t ——处理后各时间点 (0、3、6、12、18、24 h) Caco-2 细胞小室的实测电阻值, Ω ;

R_{t0} ——处理 0 h 时的细胞小室实测电阻值, Ω ;

R_c ——无细胞空白小室的本底电阻值, Ω 。

1.3.7 溃疡性结肠炎动物模型

1.3.7.1 实验方案与分组

将 28 只 6 周龄 C57BL/6 雄性小鼠在适应 1 周后采用随机数字表法分为 7 组, 每组 4 只。除 NC 组外, 其余组小鼠使用 3 wt.% DSS 水溶液造模 7 天; 期间 L/M/H-LJF 组分别每日灌胃 100、200、400 mg kg^{-1} LJF, H-CF 组、H-MZ 组每日灌胃 400 mg kg^{-1} CF 或 MZ, NC 组与 MC 组灌胃等量生理盐水, 灌胃体积为 0.2 mL。造模结束后, 将 DSS 溶液换为纯净水, 继续灌胃至第 11 天。实验周期结束后, 采用颈椎脱臼法对所有小鼠进行安乐死处理。

1.3.7.2 摄食量留存率、体重留存率记录

摄食量留存率与体重留存率为最后一天的体重 (g) 或摄食量 (g) 比上第一天的体重或摄食量。

1.3.7.3 肛门便血程度记录

第 11 天, 在固定距离垂直拍摄肛门及肛周出血、附着情况, 以评估肠道损伤与给药效果。肛门出血量根据无出血、水样腹泻、少量出血、明显出血、严重出血分别记为 0、1、2、3、4 分。

1.3.7.4 DAI 评分

参考 Liu 等^[13]的方法计算疾病活动指数 (Disease Activity Index, DAI)。

1.4 统计分析

本研究所有实验数据均采用 SPSS 26.0 与 Origin 2021 软件进行统计分析与绘图。所有实验重复 3 次, 结果以均值 $\pm$ 标准差 (Mean $\pm$ SD) 表示。多组数据比较采用单因素方差分析 (Analysis of variance, ANOVA) 和 Tukey 事后检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 LJF 与 CF 的表征

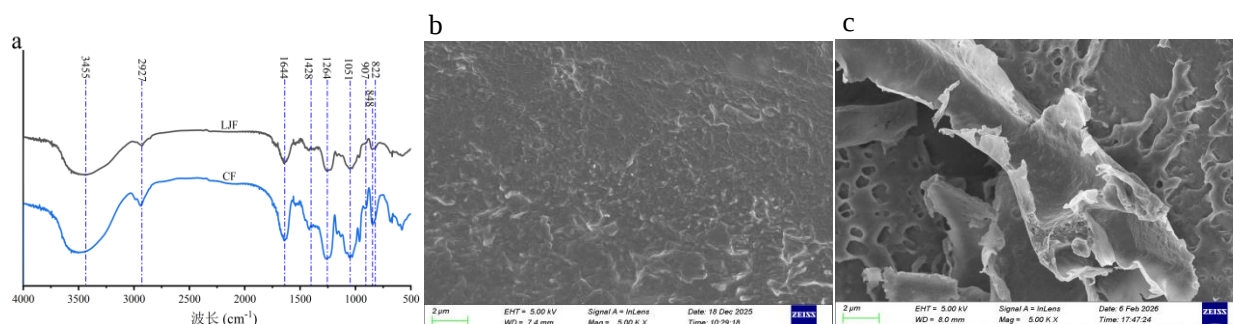


图 1 LJF 与 CF 的红外光谱与扫描电镜微观形貌分析

Fig.1 FT-IR spectra and SEM micromorphology of LJF and CF

注: LJF 与 CF 的红外光谱 (a)、LJF 的扫描电镜微观形貌分析 (b)、CF 的扫描电镜微观形貌分析 (c)。

经表征检测, 该 LJF 与 CF 的总糖含量分别为 80.34 wt.%、95.87 wt.%, 糖醛酸含量分别为 14.22 wt.%、5.18 wt.%, 硫酸基含量分别为 29.93 wt.%、23.37 wt.%, 而蛋白质含量均低于 1.0 wt.%。与 LJF 相比, CF 的中性糖含量升高, 糖醛酸与硫酸基含量降低, 推测是由于 CF 在制备过程中经过 H_2O_2 降解处理, 糖醛酸、硫酸基等酸性基团被部分降解脱除, 导致中性糖含量提高^[14,15]。Wang 等^[16]研究发现 H_2O_2 处理会使龙眼多糖的中性糖含量从 76.64% 升高至 84.88%。先前研究表明, 糖醛酸和硫酸基使岩藻多糖具有负电荷特性, 是岩藻多糖发挥功能特性的重要因素^[17]。

通过 FT-IR 表征多糖结构中的特征官能团。如图 1a 所示, LJF 与 CF 的红外光谱结果相似。3 455 cm^{-1} 和 2 927 cm^{-1} 处的吸收峰分别是由 O-H、C-H 伸缩振动引起的^[18]。1 644 cm^{-1} 与 1 428 cm^{-1} 处的吸收峰分别为 C=O 伸缩振动与 C-O 拉伸振动, 表明样品中含有糖醛酸^[19]。1 264 cm^{-1} 、848 cm^{-1} 与 822 cm^{-1} 附近出现的特征吸收峰由 S=O

和 C-O-S 的伸缩振动引起,表明样品中存在硫酸基,且硫酸酯呈现多位点、不同构型的取代模式^[20,21]。上述吸收峰结果表明 LJF 与 CF 均具有多糖典型结构与官能团。

LJF、CF 的微观结构如图 1b、c 所示,不同制备方式的多糖微观结构不同。LJF 的制备方式温和,多糖链的天然聚集形态得以保留,形成表面致密的结构^[22]。CF 制备过程经过 H₂O₂ 降解处理,糖苷键发生断裂,多糖结构破碎,形成网状多孔结构^[23]。前期研究表明,LJF 与 CF 重均分子量分别为 771.2、148.2 ku,多分散系数分别为 1.541、1.452。CF 的分子量降低也说明其分子链发生断裂、聚合度下降,空间结构被破坏。

2.2 不同质量浓度 LJF、CF 与 MZ 对 RAW264.7 与 Caco-2 细胞活力的影响

为了确定干预 RAW264.7 与 Caco-2 细胞的安全样品质量浓度,研究采用 CCK-8 法测定评估了不同质量浓度 LJF、CF 与 MZ 对细胞活力的影响。如图 2 所示,0~400 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 范围内的 LJF、CF 与 MZ 均未明显降低细胞活力。这与 Yang 等^[24]研究一致,一定质量浓度范围内的岩藻多糖不会对细胞活力产生影响。综合考虑剂量梯度设置需求与同类研究常用剂量梯度,选取 12.5、50、200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 分别作为低、中、高剂量组,依次记为 L-LJF、M-LJF、H-LJF^[25]。同时将 CF、MZ 的实验质量浓度设定为 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$,分别记为 H-CF、H-MZ。

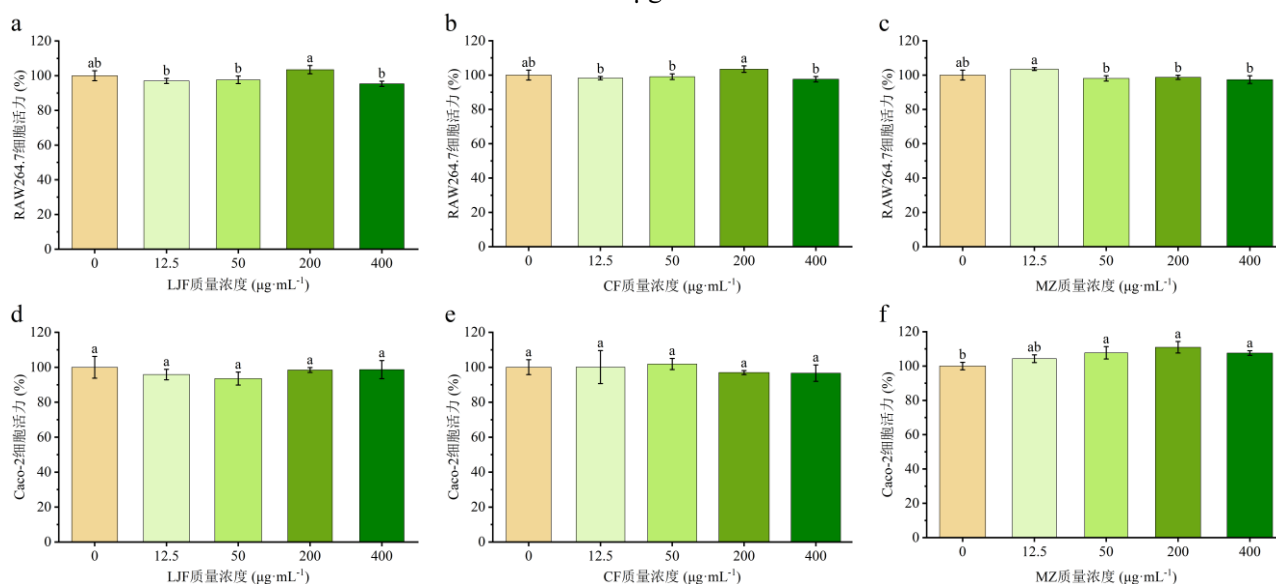


图 2 不同质量浓度 LJF、CF、MZ 对 RAW264.7 与 Caco-2 细胞活力的影响

Fig.2 Effects of LJF, CF and MZ at different concentrations on the viability of RAW264.7 and Caco-2 cells ($\bar{X} \pm \text{SD}$, $n=3$)

注: LJF (a)、CF (b)、MZ (c) 对 RAW264.7 细胞活力的影响; LJF (d)、CF (e)、MZ (f) 对 Caco-2 细胞活力的影响。图内不同小写字母表示同一指标不同处理组间差异显著 ($P < 0.05$), 相同字母表示差异不显著, 下同。

2.3 LJF 对 LPS 刺激的 RAW264.7 细胞炎症模型的抑制作用

2.3.1 LJF 对 LPS 刺激的 RAW264.7 细胞炎症介质释放量的影响

炎症反应是 UC 发生发展的核心机制之一。RAW264.7 在 LPS 的刺激下被激活, 促进多种炎症介质的表达与释放水平升高^[26]。如图 3 所示, LPS 处理后, NO、IL-6、TNF- α 、COX-2 与 PGE₂ 水平均显著升高。已有研究表明, NO 的过度生成可诱导 TNF- α 和 IL-6 等促炎细胞因子的释放, 从而放大炎症级联反应^[27]。抗炎细胞因子 IL-10 水平在 LPS 的刺激下同样显著升高 ($P < 0.05$)。Lively 等^[28]研究发现类似结果, 表明 LPS 能够上调 IL-10 基因水平。现有研究证实, LPS 通过激活 MAPK 通路及 NF- κ B 通路介导 C/EBP δ 上调, 以此激活 IL-10 基因转录并促进 IL-10 蛋白水平升高^[29,30]。

以上促炎介质水平随 LJF 的质量浓度升高呈下降趋势。在 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ LJF 质量浓度下, NO、IL-6、TNF- α 、COX-2、PGE₂ 质量浓度较 MC 组分别降低了 38.37%、19.38%、20.18%、46.45%与 57.10%, 而抗炎细胞因子 IL-10 进一步升高了 113.74%。IL-10 水平的升高可能与岩藻多糖促进 RAW264.7 细胞向 M2 极化并增强自噬作用有关^[31]。研究表明 IL-10 能够通过抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白和 ROS 生成负向调控 NLRP3/caspase-1 通路激活, 从而避免细胞焦亡和炎症反应^[32]。这与 2.3.2 节 NLRP3 与 caspase-1 mRNA 水平下降趋势相一致。此外, 在相同干预质

量浓度下, LJF 对促炎介质的抑制作用及对抗炎细胞因子的上调作用显著优于 CF, 但稍弱于 MZ。上述结果表明, LJF 对 LPS 诱导活化的 RAW264.7 细胞具有显著的抗炎活性。

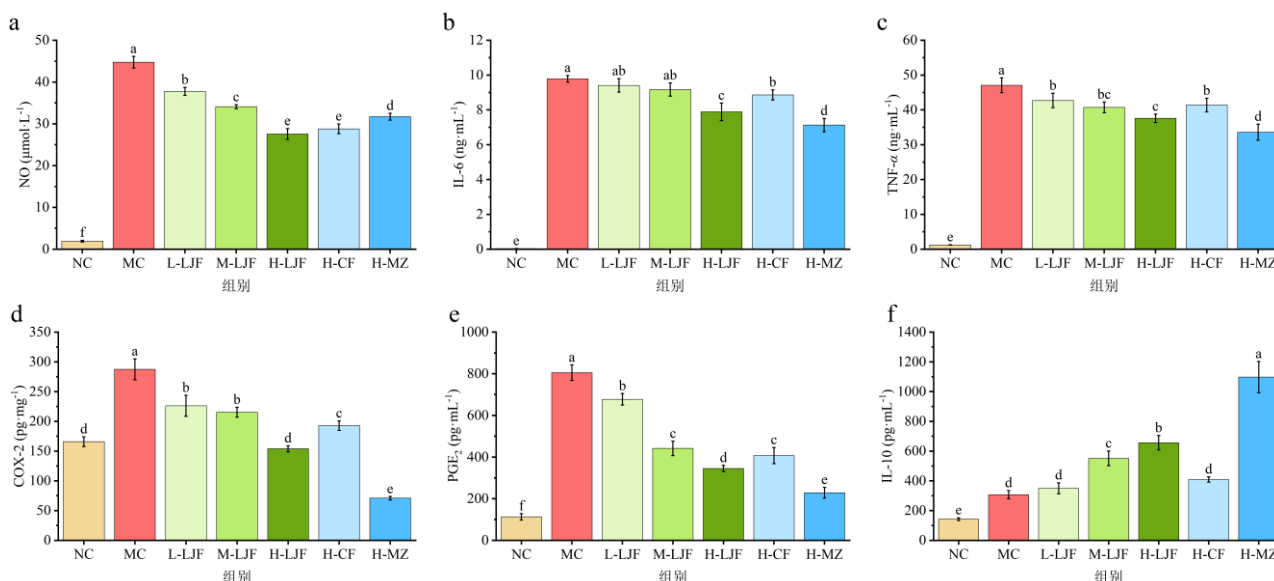


图 3 LJF 对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞炎症介质水平的影响

Fig.3 Effect of LJF on the levels of inflammatory mediators in LPS-induced RAW264.7 cells ($\bar{X} \pm SD$, $n=3$)

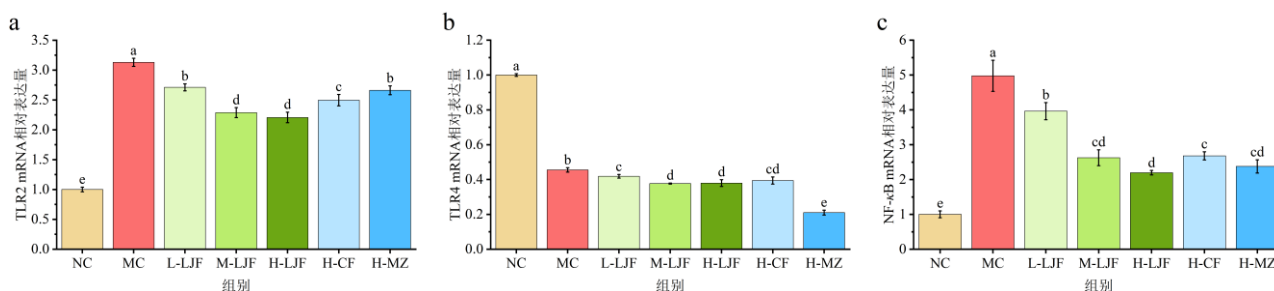
注: LJF 对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞 NO (a)、IL-6 (b)、TNF-α (c)、COX-2 (d)、PGE₂ (e)、IL-10 (f) 的影响。

2.3.2 LJF 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症相关基因相对表达的影响

为了进一步探究 LJF 缓解 RAW264.7 细胞炎症反应的机制, 检测了相关炎症基因的表达。Toll 样受体 2 (Toll-like Receptor 2, TLR2) 与 Toll 样受体 4 (Toll-like Receptor 4, TLR4) 是固有免疫系统中关键的模式识别受体, 可通过识别病原体相关分子模式和损伤相关分子模式启动炎症与免疫应答^[33]。由图 4a、b 可知, LJF 处理可显著下调 TLR2 与 TLR4 的 mRNA 表达水平, 其中 H-LJF 组相较于 MC 组, 二者表达水平分别降低 29.52%、7.05% ($P<0.05$)。

核因子 κB (Nuclear Factor kappa B, NF-κB) 与 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 Mitogen-Activated Protein Kinase, p38 MAPK) 是 TLR2 与 TLR4 的下游关键炎症通路^[34]。在 LPS 的作用下, MC 组的 NF-κB 基因与 p38 基因的 mRNA 水平显著上调, 而 LJF 呈剂量依赖性下调了 NF-κB 与 p38 mRNA 水平, 其中 H-LJF 组相对于 MC 组分别下调了 55.85%、82.69% (图 4c、d)。

此外, LJF 还抑制了 LPS 诱导的 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-Like Receptor Family, Pyrin Domain Containing 3, NLRP3)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 1 (Cysteiny Aspartate Specific Proteinase 1, Caspase-1) 基因表达的升高, 其中 H-LJF 组相对于 MC 组分别下调了 24.46%、23.78%, 表明炎症小体激活受到了抑制 (图 4e、f)。在相同干预质量浓度下, LJF 对相关炎症基因的表达水平的调控效果优于 CF, 主要归因于二者化学组成与结构的差异。LJF 保留了更高含量的硫酸基与糖醛酸, 可有效抑制促炎信号通路的活化^[35]。Wang 等^[36]研究发现岩藻多糖可通过抑制 TLR4/NF-κB 通路降低巨噬细胞中促炎因子的释放, 发挥抗炎作用。本研究发现 LJF 下调了 TLR2、NF-κB 与 p38 的 mRNA 水平以及 NO、IL-6、TNF-α 等炎症介质, 表明其可能通过抑制 TLR2/NF-κB/p38 MAPK 信号通路和炎症小体发挥抗炎活性。



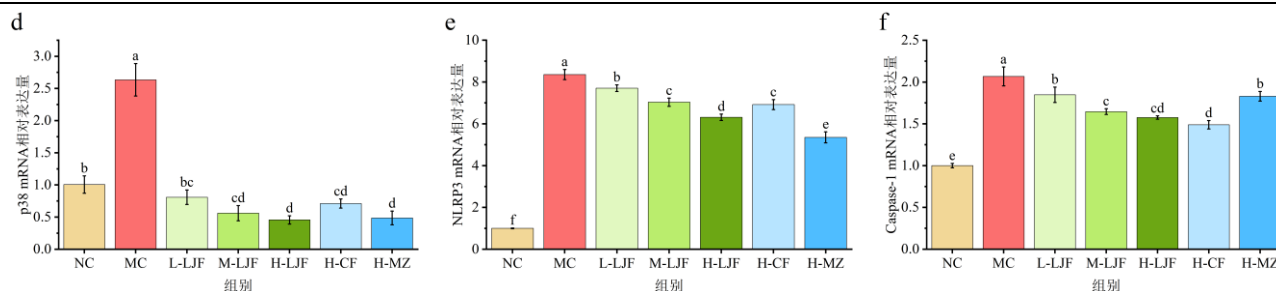


图4 L-JF对LPS诱导RAW264.7细胞炎症相关基因表达的影响

Fig.4 Effect of L-JF on the expression of inflammation-related genes in LPS-induced RAW264.7 cells ($\bar{X} \pm SD$, $n=3$)

注: L-JF对LPS诱导RAW264.7细胞TLR2 (a)、TLR4 (b)、NF- κ B (c)、p38 (d)、NLRP3 (e)、Caspase-1 (f)基因表达水平的影响。

2.4 L-JF对TBHP诱导的Caco-2氧化损伤模型的保护作用

2.4.1 L-JF对TBHP诱导的Caco-2细胞活力与ROS释放的影响

氧化应激是由于活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)的产生与清除失衡,导致ROS在体内过量蓄积,进而引发生化和病理的级联反应,是UC另一个关键的病理因素^[37]。TBHP是一种有机过氧化物,可诱导细胞生成ROS。如图5a~c所示,TBHP作用1、2、4 h时,细胞活力最低分别为88.44%、59.52%、46.35%,表明TBHP能导致严重氧化损伤。结合先前研究,选择 $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ 的TBHP处理4 h作为构建细胞氧化损伤模型的方案,此时细胞活力约为50%。图5d进一步探究了L-JF对该氧化损伤细胞的保护作用。结果显示,L-LJF组、M-LJF组、H-LJF组的细胞活力分别提升至63.88%、82.65%、85.11%,均显著高于MC组($P < 0.05$)。

为了探究L-JF保护作用是否源于氧化应激水平降低,研究进一步检测了L-JF对ROS生成的影响。如图5e所示,不同质量浓度L-JF处理后,ROS水平较MC组分别降低16.07%、63.91%、68.98%。此外,相同干预质量浓度下,L-JF的ROS清除效果和保护作用优于CF。这主要归因于L-JF具有更高的硫酸基含量,能够通过螯合金属离子高效清除羟自由基^[38]。上述结果表明,L-JF可通过清除TBHP诱导产生的ROS发挥抗氧化作用,从而减轻细胞氧化损伤。

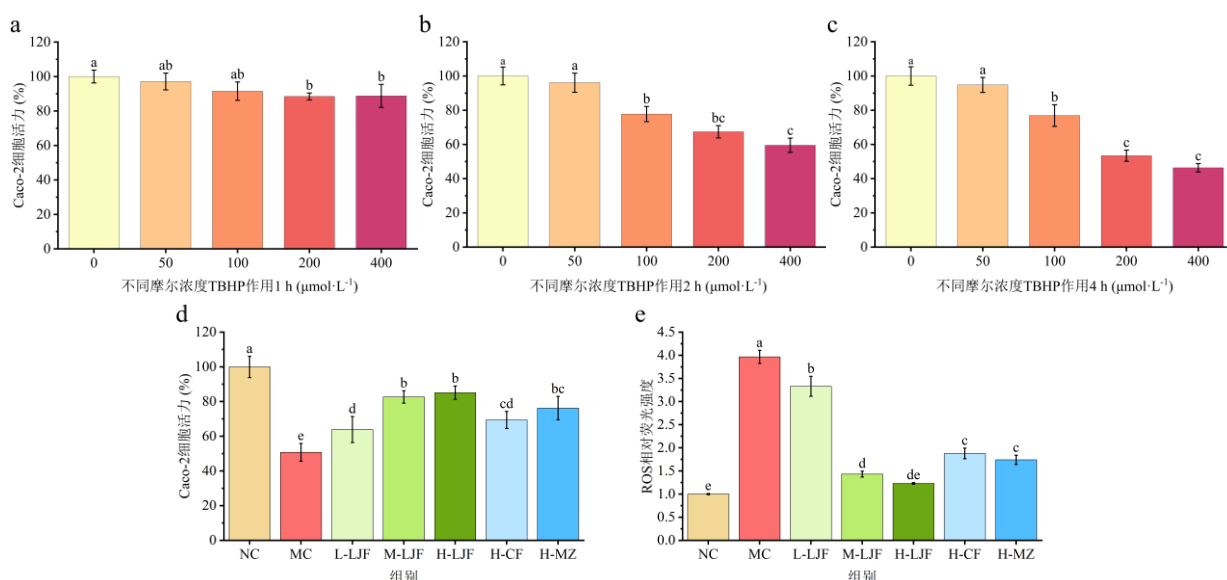


图5 L-JF对TBHP诱导的Caco-2细胞氧化损伤的影响

Fig.5 Effect of L-JF on TBHP-induced oxidative damage in Caco-2 cells ($\bar{X} \pm SD$, $n=3$)

注: 不同浓度TBHP作用1 h (a)、2 h (b)、4 h (c)时的Caco-2细胞活力; d为L-JF对TBHP作用4 h时Caco-2细胞活力的影响; e为L-JF对TBHP作用4 h时Caco-2细胞ROS相对荧光强度的影响。

2.4.2 L-JF对TBHP诱导的Caco-2细胞相关基因相对表达的影响

为了进一步探究L-JF缓解Caco-2氧化应激的机制,采用RT-qPCR检测相关基因表达。核因子E2相关因子2

(Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2, Nrf2) 是调节抗氧化反应的核心转录因子, 可通过介导抗氧化相关酶的合成来清除 ROS, 从而保护细胞免受氧化损伤^[39]。本研究, TBHP 处理可提高 Nrf2 mRNA 水平, 而 LJF 处理则进一步上调其基因水平。这一结果与以往研究结论相一致, H₂O₂ 刺激促进了 Nrf2 蛋白表达, 海参多糖使 Nrf2 的表达水平进一步提高^[40]。如图 6a 所示, 不同 LJF 处理组的 Nrf2 mRNA 水平较 MC 组分别进一步上调 10.63%、27.73% 和 63.17%。

对氧化应激敏感的 NF- κ B 通路和细胞外调节蛋白激酶 1 (Extracellular Signal-Regulated Kinase 1, ERK1) 通路是调控肠上皮通透性的核心通路^[41]。通过图 6b、c 可知, TBHP 处理细胞 4 h 后, NF- κ B1 mRNA 水平未显著提高, 而 ERK1 mRNA 水平显著提高。不同剂量的 LJF 处理较 MC 组 NF- κ B1 mRNA 水平分别显著降低 12.99%、18.32%、32.15%, ERK1 mRNA 水平则分别降低 15.22%、27.45% 和 48.35% ($P < 0.05$)。ROS 的过量蓄积会激活 NF- κ B 信号通路并形成炎症放大的正反馈环路^[42]。结合 2.4.1 节, TBHP 处理细胞 4 h 诱导了 ROS 水平升高, 而 NF- κ B1 的表达未显著提高。这一现象可能归因于 NF- κ B 通路的激活具有明显的时间依赖性和动态特征, TBHP 短时间作用未能有效激活 NF- κ B 信号通路^[43]。进一步发现 LJF 下调 NF- κ B1 mRNA 水平, 推测与 LJF 上调 Nrf2 mRNA 水平相关。活化的 Nrf2 可通过多种分子机制负向调控 NF- κ B 信号通路^[44]。此外, ERK1/2 能够调控细胞程序性死亡, 直接抑制 ERK1/2 可延缓肿瘤坏死因子诱导的坏死性凋亡^[45]。LJF 通过对三者的表达水平进行调节, 从而降低氧化损伤, 这与 2.4.1 节 ROS 水平下降和细胞活力提高的结果相符。

由紧密连接蛋白减少导致的上皮屏障损伤会引起黏膜免疫系统功能紊乱与炎症反应, 还会诱发肠道疾病^[46]。如图 6d~f 所示, LJF 处理剂量依赖性逆转了 TBHP 单独处理导致的 Claudin-1、Occludin、ZO-1 mRNA 水平下调, H-LJF 组较 MC 组紧密连接蛋白 mRNA 水平分别显著上调 58.54%、112.28% 和 42.97%, 表明其在抗氧化的同时增强屏障功能, 实现抗氧化与屏障保护的协同作用 ($P < 0.05$)。相同干预质量浓度下, LJF 对以上基因的调控效果与 MZ 接近, 并优于 CF。综上所述, LJF 可能通过多种途径降低氧化应激, 保护肠上皮细胞功能。

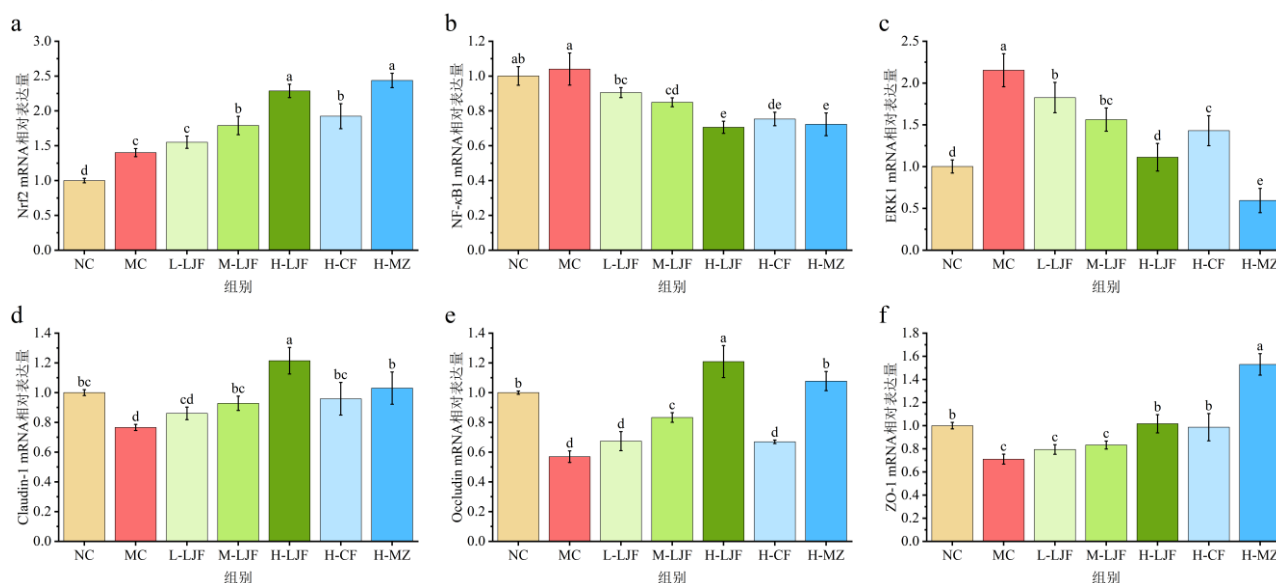


图 6 LJF 对 TBHP 诱导的 Caco-2 氧化损伤相关基因表达的影响

Fig.6 Effect of LJF on the expression of oxidative damage-related genes in TBHP-induced Caco-2 cells ($\bar{X} \pm SD$, $n=3$)

注: LJF 对 TBHP 诱导的 Caco-2 细胞 Nrf2 (a)、NF- κ B1 (b)、ERK1 (c)、Claudin-1 (d)、Occludin (e)、ZO-1 (f) 基因表达的影响。

2.5 LJF 对 DSS 诱导的 Caco-2 单层细胞屏障损伤的保护作用

2.5.1 LJF 对 DSS 诱导的 Caco-2 细胞活力的影响

肠上皮屏障损伤是 UC 发生发展的关键环节。DSS 通过诱导细胞内质网应激及膜结构破坏导致屏障完整性下降^[47]。为确定处理 Caco-2 细胞的最佳质量分数, 通过 CCK-8 评估了不同质量分数的造模试剂 (DSS) 对 Caco-2 细胞的细胞毒性。DSS 对细胞损伤程度如图 7a, 当 DSS 质量分数大于 1 wt.% 时, 细胞活力开始下降。选择 4 wt.% DSS 建立细胞损伤模型, 此时细胞活力为 63.34%。图 7b 显示, LJF 能够有效恢复 4 wt.% DSS 诱导的 Caco-2 细

胞活力下降。相比于 MC 组, L-LJF 组、M-LJF 组、H-LJF 组的细胞活力分别提高了 5.32%、8.79%、19.94%, H-CF 组、H-MZ 组的细胞活力分别提高了 12.11%、12.15%。

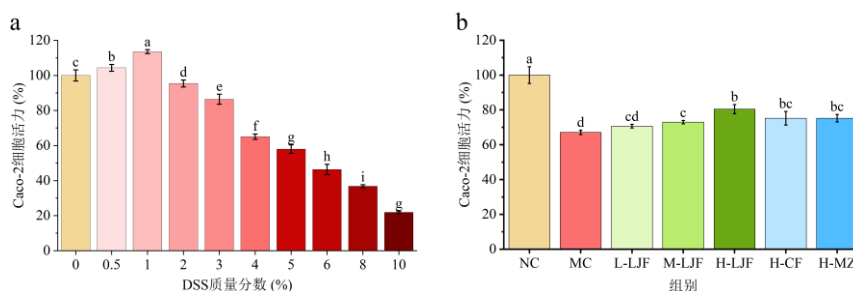


图 7 LJF 对 DSS 诱导的 Caco-2 细胞活力的影响

Fig.7 Effect of LJF on the viability of DSS-induced Caco-2 cells ($\bar{X} \pm SD$, $n=3$)

注: a 为不同质量浓度 DSS 对 Caco-2 细胞活力的影响; b 为 LJF 对 DSS 诱导的 Caco-2 细胞活力的影响。

2.5.2 LJF 对 DSS 诱导的 Caco-2 细胞的 COX-2、PGE₂、LDH 含量与 TEER 值的影响

COX-2 作为花生四烯酸代谢关键限速酶, 其高表达会促进 PGE₂ 的合成, 加剧细胞炎症与损伤^[48]; 而 LDH 为胞内酶, 其释放量可反映细胞损伤程度^[49]。如图 8a~c 所示, DSS 处理显著升高 COX-2、PGE₂ 与 LDH 水平, 表明细胞发生明显炎症与损伤 ($P<0.05$)。LJF 干预可剂量依赖性降低三者水平, H-LJF 组较 MC 组分别下降 35.52%、49.66%、22.32%, 说明其可减轻炎症损伤并维持细胞膜完整性 ($P<0.05$)。

TEER 值是 Caco-2 单层细胞模型通透性的指标, 其变化率反映了单层细胞屏障的损伤程度^[50]。如图 8d 所示, MC 组 TEER 值随培养时间明显下降, 而 LJF 干预组各时间点 TEER 值变化率均高于 MC 组, 且缓解效应随质量浓度升高而加强。图 8e 显示, 培养 24 h 时, MC 组 TEER 值较初始水平下降 36.75%, 而 H-LJF 组、H-CF 组与 H-MZ 组较初始水平分别下降 12.84%、24.88%、7.12%, 表明其可改善细胞单层通透性, 增强屏障功能。在 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 的相同质量浓度下, LJF 对 COX-2、PGE₂ 与 LDH 的抑制效果和屏障保护作用优于 CF, 并接近 MZ。结合 2.5.1 节中 LJF 可提高细胞活力的结果, 表明 LJF 能够有效缓解 DSS 诱导的细胞质膜损伤, 提高细胞存活率, 发挥肠上皮细胞保护作用, 进而维持单层细胞屏障完整性。

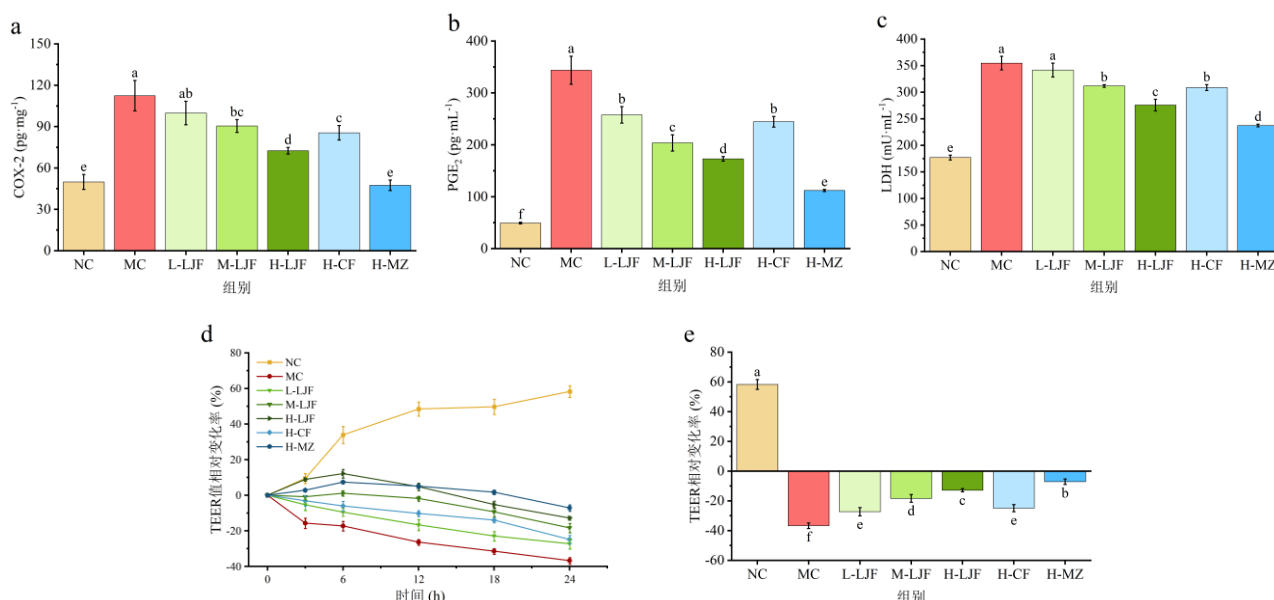


图 8 LJF 对 DSS 诱导的 Caco-2 细胞损伤的影响

Fig.8 Effects of LJF on DSS-induced Caco-2 cell damage ($\bar{X} \pm SD$, $n=3$)

注: LJF 对 DSS 诱导的 Caco-2 细胞 COX-2 (a)、PGE₂ (b)、LDH (c)、0~24 h TEER 值 (d) 和 24 h 时 TEER 值 (e) 的影响。

2.6 LJF 对结肠炎小鼠基础体征的影响

为验证 LJF 体内抗溃疡性结肠炎活性, 建立了 DSS 诱导的 UC 小鼠模型 (图 9a)。在 DSS 诱导的 UC 小鼠模

型中,以 400 mg kg^{-1} 剂量口服给药 LJF,该剂量按体表面积换算相当于 70 kg 人类约 2.4 g d^{-1} [51]。岩藻多糖在人类口服剂量高达 6 g/d 时仍具有良好的安全性且未观察到明显不良反应[52]。图 9b、c 显示, LJF 显著缓解了结肠炎小鼠的摄食量与体重下降,效果优于同剂量的 H-CF 组,并与 H-MZ 组相当。LJF 作用下,便血程度减轻,说明 LJF 可有效减轻 DSS 诱导的肠道黏膜出血与损伤,从而改善小鼠进食状态与体重减轻(图 9d)。而 DAI 评分下降进一步证实 LJF 可缓解 UC 小鼠的疾病活动度,减轻整体症状(图 9e)。

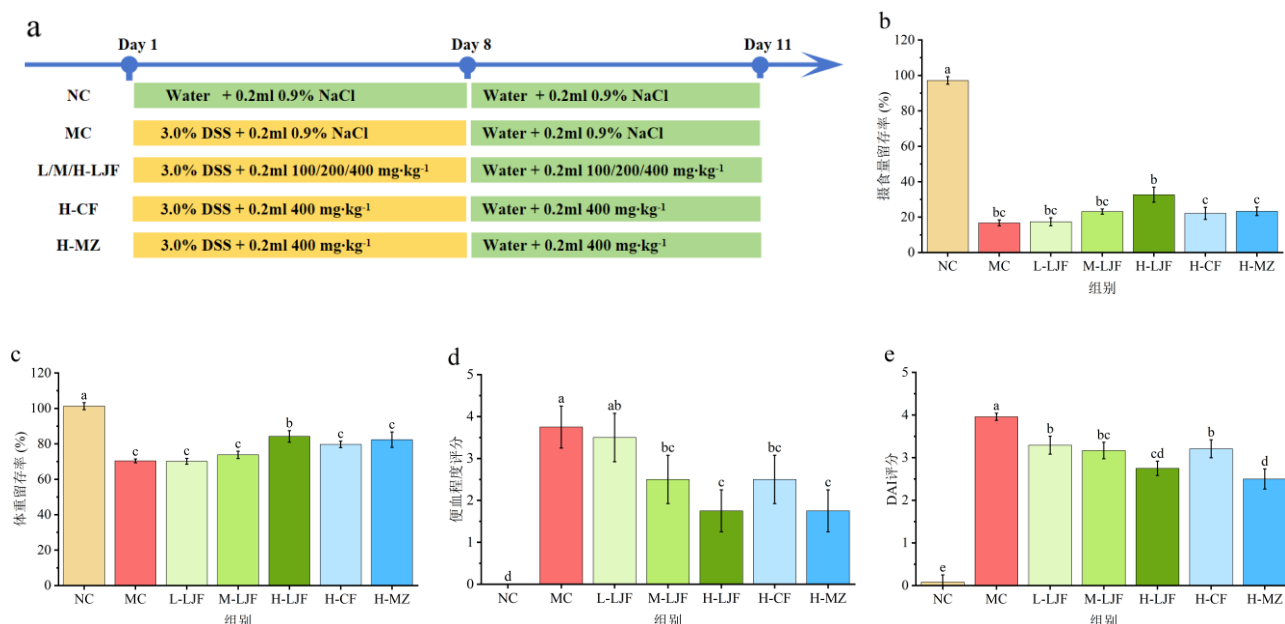


图 9 实验方案及 LJF 对小鼠体况的影响

Fig.9 Experimental protocol and effects of LJF on the physical status of mice ($\bar{X} \pm \text{SD}$, $n=4$)

注: 实验方案 (a)、摄食量留存率 (b)、体重留存率 (c)、便血程度评分 (d) 和 DAI 评分 (e)。

3 结论

本研究以制备得到的 LJF 为研究对象,以 CF 和 MZ 为对照样品与阳性药物,通过构建三种互补的体外细胞模型,探究了 LJF 对 UC 的保护作用。表征结果表明 LJF 较 CF 具有更高的糖醛酸、硫酸基含量与分子量,且微观结构更加致密。体外实验表明, LJF 对 UC 相关炎症、氧化应激和肠屏障损伤具有一定保护作用。LJF 可抑制 LPS 诱导的巨噬细胞炎症,下调 TLR2/NF- κ B/p38 MAPK 通路与 NLRP3 炎症小体的基因表达水平,减少促炎介质释放、提高抗炎因子 IL-10。同时,在氧化损伤模型中, LJF 通过增强内源抗氧化能力降低细胞内 ROS 水平,减轻 Caco-2 细胞氧化损伤。此外, LJF 能提高 TEER 值,减轻肠上皮细胞屏障损伤,从而保护单层细胞屏障完整性。体内结果显示,口服 LJF 可减轻小鼠体重下降、便血程度等表观症状。活性对比结果表明, LJF 在体内外模型中的作用效果优于 CF,并与 MZ 相近。这些结果表明, LJF 具备作为天然产物辅助治疗 UC 的潜力,为开发安全、温和的 UC 辅助改善制剂或功能食品提供实验依据。然而,本研究主要基于体外实验,后续还应在动物模型中结合宏基因组、代谢组学解析 LJF 的靶向调控通路,深入挖掘其缓解 UC 的作用机理。

参考文献

- BI Y H, LI Z, ZHOU Z G. Karyotype analysis of the brown seaweed *Saccharina* (or *Laminaria*) *japonica* [J]. *Algal Research*, 2023, 71: 103081.
- SANJEEWA K K A, HERATH K H I N M, YANG H W, et al. Anti-inflammatory mechanisms of fucoidans to treat inflammatory diseases: a review [J]. *Marine Drugs*, 2021, 19(12): 120678.
- HAMOUDA H I, LI T, SHABANA S, et al. Advances in fucoidan and fucoidan oligosaccharides: current status, future prospects, and biological applications [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2025, 358: 123559.
- KAPLAN G G, WINDSOR J W. The four epidemiological stages in the global evolution of inflammatory bowel disease [J]. *Nature*

- Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2021, 18(1): 56-66.
- [5] LIU Q, ZUO R, WANG K, et al. Oxindin inhibits macrophage NLRP3 inflammasome activation in DSS-induced ulcerative colitis in mice via suppressing TXNIP-dependent NF- κ B pathway [J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2020, 41(6): 771-781.
- [6] ILIEV I D, ANANTHAKRISHNAN A N, GUO C J. Microbiota in inflammatory bowel disease: mechanisms of disease and therapeutic opportunities [J]. Nature Reviews Microbiology, 2025, 23(8): 509-524.
- [7] XUE J C, HOU X T, ZHAO Y W, et al. Biological agents as attractive targets for inflammatory bowel disease therapeutics [J]. Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease, 2025, 1871(3): 167648.
- [8] ANNO T, MURAKAMI K, NAKANISHI S, et al. Severe hypercholesterolemia caused by mesalazine which is a key drug of ulcerative colitis: a case report [J/OL]. Internal Medicine, 2026, (Ahead of Print): 6599-25.
- [9] LI Z H, ZHANG Z Y, FENG Y Q, et al. Insight into the anti-inflammatory sulfated polysaccharides from *Sargassum carpophyllum* and structure-function relationships [J]. Algal Research, 2025, 85: 103841.
- [10] MUHIDINOV Z K, NASRIDINOV A S, STRAHAN G D, et al. Structural analyses of apricot pectin polysaccharides [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 279: 135544.
- [11] ZHOU M, HAN Q, LI C. Optimization of Extraction Process, Structure Characterization, and Immunomodulatory Activity of Polysaccharides from Black Garlic [J]. Starch - Stärke, 2025, 77(3): 2400177.
- [12] MURPHY W, LIU S, JAVADIYAN S, et al. An in vitro study evaluating the safety of mesalazine on human nasoepithelial cells [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(5): 2796.
- [13] LIU T YU, HAN Z WEI, JIA S SI, et al. An acidic polysaccharide from *Lycium barbarum* L: isolation, purification, structural characterization, and therapeutic effects on ulcerative colitis [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 319: 145602.
- [14] 林鹤峰,申健,王斌,等.一种从海洋褐藻中提取制备低分子岩藻多糖的方法:中国,201110268344.7[P]. 2014-07-09.
- [15] FAN H, LI R, ZHANG Y, et al. Effect of H₂O₂/ascorbic acid degradation and gradient ethanol precipitation on the physicochemical properties and biological activities of pectin polysaccharides from satsuma mandarin [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 280: 135843.
- [16] WANG J, XU X, ZOU X, et al. Effect of ultrasound assisted H₂O₂ degradation on longan polysaccharide: Degradation kinetics, physicochemical properties and prebiotic activity [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 282: 136902.
- [17] HIFNEY A F, FAWZY M A, ABDEL-GAWAD K M, et al. Industrial optimization of fucoidan extraction from *Sargassum* sp. and its potential antioxidant and emulsifying activities [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 54: 77-88.
- [18] QI Y, WANG L, YOU Y, et al. Preparation of low-molecular-weight fucoidan with anticoagulant activity by photocatalytic degradation method [J]. Foods, 2022, 11(6): 60822.
- [19] CHEN J, ZHANG X, HUO D, et al. Preliminary characterization, antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities of polysaccharides from *Mallotus furetianus* [J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 215: 307-315.
- [20] WAN C, JIANG H, TANG M T, et al. Purification, physico-chemical properties and antioxidant activity of polysaccharides from *Sargassum fusiforme* by hydrogen peroxide/ascorbic acid-assisted extraction [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 223: 490-499.
- [21] JIANG L, SONG C, AI C, et al. Modulation effect of sulfated polysaccharide from *Sargassum fusiforme* on gut microbiota and their metabolites *in vitro* fermentation [J]. Frontiers in Nutrition, 2024, 11: 1400063.
- [22] LI X, ZHANG G, LI J, et al. Degradation by Vc-H₂O₂, characterization and antioxidant activity of polysaccharides from *Passiflora edulis* peel [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2021, 45(12): e16074.
- [23] MA X, DONG L, HE Y, et al. Effects of ultrasound-assisted H₂O₂ on the solubilization and antioxidant activity of yeast β -glucan [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2022, 90: 106210.
- [24] YANG Q, XING M, WANG K, et al. Application of fucoidan in Caco-2 model establishment [J]. Pharmaceuticals, 2022, 15(4): 040418.
- [25] MUTHU S, ALTEMIMI A B, LAKSHMIKANTHAN M, et al. Phycocolloids from *Sargassum microcystum*: immunomodulatory and antioxidant activities of alginic acid and fucoidan [J]. Food Hydrocolloids for Health, 2025, 7: 100209.
- [26] JAYASINGHE A M K, KIRINDAGE K G I S, FERNANDO I P S, et al. The anti-inflammatory effect of low molecular weight fucoidan from *Sargassum siliquastrum* in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages via inhibiting NF- κ B/MAPK signaling pathways

- [J]. *Marine Drugs*, 2023, 21(6): 060347.
- [27] ALEKSANDROWICZ M, KONOP M, RYBKA M, et al. Dysfunction of microcirculation in atherosclerosis: implications of nitric oxide, oxidative stress, and inflammation [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2025, 26(13): 136467.
- [28] LIVELY S, SCHLICHTER L C. Microglia responses to pro-inflammatory stimuli (LPS, IFN γ +TNF α) and reprogramming by resolving cytokines (IL-4, IL-10) [J]. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2018, 12: 00215.
- [29] LIU Y W, TSENG H P, CHEN L C, et al. Functional cooperation of simian virus 40 promoter factor 1 and CCAAT/enhancer-binding protein β and δ in lipopolysaccharide-induced gene activation of IL-10 in mouse macrophages [J]. *Journal of Immunology*, 2003, 171(2): 821-828.
- [30] LIU Y W, CHEN C C, TSENG H P, et al. Lipopolysaccharide-induced transcriptional activation of interleukin-10 is mediated by MAPK- and NF- κ B-induced CCAAT/enhancer-binding protein δ in mouse macrophages [J]. *Cellular Signalling*, 2006, 18(9): 1492-1500.
- [31] HOU T, LIU X, ZHANG S, et al. Anti-inflammatory effects of the fucoidan from sea cucumber *apostichopus japonicus* [J]. *Marine Biotechnology*, 2025, 27(1): 32.
- [32] GAO Y, TU D Z, YANG R, et al. Through reducing ROS production, IL-10 suppresses caspase-1-dependent IL-1 β maturation, thereby preventing chronic neuroinflammation and neurodegeneration [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(2): 465.
- [33] XU X, SHAO T L, MENG Y, et al. Immunomodulatory mechanisms of an acidic polysaccharide from the fermented burdock residue by *Rhizopus nigricans* in RAW264.7 cells and cyclophosphamide-induced immunosuppressive mice [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 252: 126462.
- [34] XU G, YU Z P, ZHAO W Z. Immunomodulation effects of isochlorogenic acid a from apple on RAW264.7 cells *via* modulation of TLR2 and TLR4 target proteins [J]. *Food Bioscience*, 2024, 58: 103773.
- [35] QIU W L, CHAO C H, LU M K. Anti-inflammatory and anti-lung cancer activities of low-molecular-weight and high-sulfate-content sulfated polysaccharides extracted from the edible fungus *Poria cocos* [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 279: 135483.
- [36] WANG L L, WANG L L, YAN C H, et al. Two ascophyllum nodosum fucoidans with different molecular weights inhibit inflammation *via* blocking of TLR/NF- κ B signaling pathway discriminately [J]. *Foods*, 2022, 11(15): 2381.
- [37] MURO P, ZHANG L, LI S X, et al. The emerging role of oxidative stress in inflammatory bowel disease [J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2024, 15: 351.
- [38] FERNANDES P A R, COIMBRA M A. The antioxidant activity of polysaccharides: a structure-function relationship overview [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2023, 314: 120965.
- [39] LIU J H, ZHENG Y W, YANG S, et al. Targeting antioxidant factor Nrf2 by raffinose ameliorates lipid dysmetabolism-induced pyroptosis, inflammation and fibrosis in NAFLD [J]. *Phytomedicine*, 2024, 130: 155756.
- [40] ZHOU T Y, XIANG X W, DU M, et al. Protective effect of polysaccharides of sea cucumber *Acaudina leucoprocta* on hydrogen peroxide-induced oxidative injury in RAW264.7 cells [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 139: 1133-1140.
- [41] WANG Z, LITTERIO M C, MÜLLER M, et al. (-)-Epicatechin and NADPH oxidase inhibitors prevent bile acid-induced Caco-2 monolayer permeabilization through ERK1/2 modulation [J]. *Redox Biology*, 2020, 28: 101360.
- [42] CHANGLEK S, RANA M N, PHYU M P, et al. Curcumin suppresses lead-induced inflammation and memory loss in mouse model and *in silico* molecular docking [J]. *Foods*, 2022, 11(6): 60856.
- [43] SCHWENCK J, MEHLING R, THAISS W M, et al. Temporal dynamics of reactive oxygen and nitrogen species and NF- κ B activation during acute and chronic T cell-driven inflammation [J]. *Molecular Imaging & Biology*, 2020, 22(3): 504-514.
- [44] SAHA S, BUTTARI B, PANIERI E, et al. An overview of Nrf2 signaling pathway and its role in inflammation [J]. *Molecules*, 2020, 25(22): 5474.
- [45] CAO J Q, LING J L, CUI J L, et al. Baicalin alleviates H₂O₂-induced oxidative stress injury in human umbilical vein endothelial cells by regulating the TNF- α -mediated MAPK/ERK1/2/MPO pathway [J]. *Scientific Reports*, 2025, 15(1): 35177.
- [46] SUZUKI T. Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2013, 70(4): 631-659.
- [47] TOUTOUNJI M, WANES D, EL-HARAKEH M, et al. Dextran sodium sulfate-induced impairment of protein trafficking and alterations

- in membrane composition in intestinal Caco-2 cell line [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(8): 802726.
- [48] RODRÍGUEZ-LAGUNAS M J, MARTÍN-VENEGAS R, MORENO J J, et al. PGE₂ promotes Ca²⁺-mediated epithelial barrier disruption through EP1 and EP4 receptors in Caco-2 cell monolayers [J]. American Journal of Physiology-Cell Physiology, 2010, 299(2): 324-334.
- [49] LI F F, DU P C, YANG W Y, et al. Polysaccharide from the seeds of *Plantago asiatica* L. alleviates nonylphenol induced intestinal barrier injury by regulating tight junctions in human Caco-2 cell line [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 164: 2134-2140.
- [50] ROSELLI M, MARUSZAK A, GRIMALDI R, et al. Galactooligosaccharide treatment alleviates DSS-induced colonic inflammation in Caco-2 cell model [J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 862974.
- [51] AHMAD T, ISHAQ M, KARPINIEC S, et al. Oral macrocystis pyrifera fucoidan administration exhibits anti-inflammatory and antioxidant properties and improves DSS-induced colitis in C57BL/6J mice [J]. Pharmaceutics, 2022, 14(11): 2383.
- [52] ARAYA N, TAKAHASHI K, SATO T, et al. Fucoidan therapy decreases the proviral load in patients with human T-lymphotropic virus type-1-associated neurological disease [J]. Antiviral Therapy, 2011, 16(1): 89-98.