

石斛碱修复Caco-2+HT29-MTX/RAW 264.7细胞肠屏障并改善HepG2细胞胰岛素抵抗的双重作用

覃璐琪, 周怡霞, 范蓓, 孙晶, 卢聪, 刘佳萌*, 王凤忠*

(农业农村部产品质量安全收贮运管控重点实验室, 中国农业科学院农产品加工研究所, 北京 100193)

摘要: 为探讨石斛碱修复肠屏障损伤和改善胰岛素抵抗的作用, 研究建立 Caco-2+HT29-MTX/RAW264.7 共培养细胞模型和胰岛素抵抗 HepG2 细胞模型, 采用跨上皮电阻 (TEER)、实时荧光定量 PCR 和蛋白印迹等技术进行评估。结果表明, 相较模型组, 石斛碱能维持 TEER 值在 200 $\Omega \cdot \text{cm}^2$ 以上, 上调紧密连接蛋白 Claudin-1 (72.19%)、Occludin (82.40%)、ZO-1 (75.29%) 和黏液蛋白 MUC2 (70.33%) 表达水平, 其 mRNA 表达量分别提高 1.47%、452.93%、2.11%、10.38%。同时降低促炎因子 TNF- α (14.14%) 和 IL-6 (68.93%) 水平, 提升抗炎因子 IL-4 (243.96%) 和 IL-10 (41.35%) 水平。在胰岛素抵抗模型中, 石斛碱以剂量依赖方式增加葡萄糖摄取量 (10.70、11.83、13.04 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), 提高丙酮激酶 (92.14、107.09、122.02 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ protein) 和己糖激酶 (29.63、73.99、73.84 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ protein) 活性, 并使糖原含量提高 1.2、1.4、1.5 倍。综上所述, 石斛碱能够有效修复肠道屏障损伤并显著改善胰岛素抵抗, 为开发降血糖功能食品和药物提供理论基础。

关键词: 石斛碱; Caco-2+HT29-MTX/RAW 264.7; HepG2; 肠道屏障; 胰岛素抵抗

文章编号: 1673-9078(2026)05-1-12 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.5.0316

Dual Effects of Dendrobine on Intestinal Barrier Repair in Caco-2+HT29-MTX/RAW 264.7 Cells and Insulin Resistance Improvement in HepG2 Cells

QIN Luqi, ZHOU Yixia, FAN Bei, SUN Jing, LU Cong, LIU Jiameng*, WANG Fengzhong*

(Key Laboratory of Agro-Products Quality and Safety Control in Storage and Transport Process, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: To investigate the effects of dendrobine (DEN) on intestinal barrier repair and insulin resistance improvement, a Caco-2+HT29-MTX/RAW 264.7 co-culture intestinal barrier model and an insulin-resistant HepG2 cell model were established. Barrier function and inflammatory responses were evaluated using transepithelial electrical resistance (TEER), real-time quantitative PCR, and western blot analysis, while glucose metabolism-related indicators were assessed in the insulin resistance model. The results showed that, compared with the model group, DEN maintained TEER values above 200 $\Omega \cdot \text{cm}^2$ and significantly upregulated the protein expression of tight junction components claudin-1 (72.19%), occludin (82.40%), ZO-1 (75.29%), and mucin MUC2 (70.33%). Correspondingly, mRNA expression levels increased by 1.47%, 452.93%, 2.11%, and 10.38%, respectively. In addition,

引文格式:

覃璐琪,周怡霞,范蓓,等.石斛碱修复Caco-2+HT29-MTX/RAW 264.7细胞肠屏障并改善HepG2细胞胰岛素抵抗的双重作用[J].现代食品科技,2026,42(5):1-12.

QIN Luqi, ZHOU Yixia, FAN Bei, et al. Dual effects of dendrobine on intestinal barrier repair in Caco-2+HT29-MTX/RAW 264.7 cells and insulin resistance improvement in HepG2 cells [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(5): 1-12.

收稿日期: 2025-03-06; 修回日期: 2025-05-27; 接受日期: 2025-06-03

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2022YFD1600303); 云南省重大科技专项 (202402AE090011)

作者简介: 覃璐琪 (1995-), 女, 博士, 研究方向: 食品功能因子挖掘与应用, E-mail: qlq120011@163.com

通讯作者: 刘佳萌 (1987-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 食药同源植物中天然产物分析鉴定及活性评价, E-mail: liujiameng@caas.cn;

共同通讯作者: 王凤忠 (1972-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 食品营养, E-mail: wangfengzhong@caas.cn

DEN significantly reduced the levels of pro-inflammatory cytokines TNF- α (14.14%) and IL-6 (68.93%), while markedly increasing the levels of anti-inflammatory cytokines IL-4 (243.96%) and IL-10 (41.35%). In the insulin-resistant HepG2 cell model, DEN at 100, 200, and 300 ng·mL⁻¹ increased glucose uptake in a dose-dependent manner (10.70, 11.83, and 13.04 mmol·L⁻¹, respectively). DEN also enhanced the activities of pyruvate kinase (92.14, 107.09, and 122.02 U·g⁻¹ protein) and hexokinase (29.63, 73.99, and 73.84 U·g⁻¹ protein), and increased intracellular glycogen content by 1.2-, 1.4-, and 1.5-fold, respectively. Overall, DEN effectively repaired intestinal barrier dysfunction and significantly improved insulin resistance. These findings provide a theoretical basis for the development of DEN-based functional foods or therapeutic agents targeting hyperglycemia and metabolic disorders.

Key words: dendrobine; Caco-2+HT29-MTX/RAW 264.7 cells; HepG2 cells; intestinal barrier; insulin resistance

糖尿病,尤其是II型糖尿病(T2DM),给全球的公共卫生带来了严峻挑战。T2DM的发病机制复杂,主要特征为胰岛素抵抗和胰岛素分泌不足^[1]。近年来,研究报道肠道屏障功能可能在T2DM的发生和发展中发挥重要作用。肠道屏障受损会导致肠道通透性增加,促使病原菌和肠道内毒素进入免疫系统,激活免疫细胞引发系统性炎症反应,从而加剧胰岛素抵抗和代谢紊乱^[2-4]。因此,保护肠道屏障、减轻炎症反应被认为是改善T2DM症状的有效策略。

目前,T2DM的常规治疗方法主要依赖口服降糖药物,如双胍类^[5]和 α -糖苷酶抑制剂^[6]等。然而,长期使用这些药物可能会导致药物依赖性及低血糖等不良反应^[7]。与之相比,药食同源的天然产物以温和和有效的特点,被广泛用于T2DM的研究^[8]。铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)是我国传统的药用植物,在民间素有“救命仙草”一称。《本草纲目》中记载,“石斛,味甘,性微寒,入肺、肾经,有滋阴养胃、润肺止咳之效,主治虚劳、消渴,益精补肾”,其中“消渴症”即现代医学所称的糖尿病。因此,铁皮石斛自古以来便被用于糖尿病的治疗^[9]。石斛碱(Dendrobine, DEN)作为铁皮石斛中的活性成分,长期以来被报道具有抗炎和神经保护作用,但其降血糖活性的研究相对较少^[10,11]。鉴于DEN显著的抗炎活性,我们推测其可能通过抑制肠道炎症进而保护肠道屏障,从而发挥降血糖作用。该研究旨在探索石斛碱的降糖潜力,并从肠道屏障修复和胰岛素抵抗改善两个角度进行初步评价。具体地,构建Caco-2+HT29-MTX/RAW264.7共培养细胞模型模拟肠道屏障环境,评估DEN对肠屏障功能及炎症反应的调控作用;同时,利用IR-HepG2细胞模型,验证DEN对胰岛素抵抗的改善效果。为石斛碱在T2DM预防和治疗中的潜在应用提供理论基础,为基于石斛碱的功能食品或药物的开发提供应用指导。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞

Caco2(上皮细胞样细胞系)、HepG2(肝细胞样细胞系)、RAW264.7(巨噬细胞样细胞系)细胞均购中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库,HT29-MTX(分泌型上皮细胞系)细胞购自上海谨源生物科技有限公司。

1.1.2 试剂

胎牛血清、高糖DMEM、体积分数为1%青-链霉素,赛默飞世尔科技公司;石斛碱(CAS:2115-91-5,质量分数 $\geq 98\%$),上海源叶生物科技有限公司;磷酸盐缓冲液(PBS)、脂多糖(LPS)、二甲双胍(MET)、CCK-8细胞增殖及毒性检测试剂盒、异硫氰酸荧光素酯(FITC)、一氧化氮(NO)含量检测试剂盒、液体样本葡萄糖含量测定试剂盒(氧化酶法)、丙酮酸激酶试剂盒(PK)、己糖激酶试剂盒(HK)和糖原试剂盒,索莱宝科技有限公司;棕榈酸(PA),西安鲲鹏科技发展有限公司;BCA试剂盒和RIPA裂解液,碧云天生物技术公司;碱性磷酸酶测定试剂盒,南京建成生物工程研究所;NovoStart®SYBR qPCR SuperMix Plus试剂盒,近岸蛋白科技有限公司;TRUEscript RT MasterMix,北京艾德莱生物科技有限公司;ZO-1、Claudin-1、Occludin、MUC2抗体,美国Affinity Biosciences公司;mRNA的引物,生工生物工程(上海)股份有限公司。

1.2 仪器

Herocell 180细胞培养箱,上海润度生物科技有限公司;Sigma 1-16K低温冷冻离心机,德国Sigma公司;JY92-11N超声波细胞破碎仪,宁波新芝生物科技股份有限公司。

有限公司；Spectra MAX190 酶标仪，美谷分子仪器公司；BioDrop μ Lite+ 超微量核酸 / 蛋白分析仪，英国拜尔科公司；Criterion™电泳仪，美国伯乐公司；EUV-LDUV 凝胶成像系统，韩国科睿生物技术公司；Mupid 2plus 电泳槽，日本宝生物公司；BV-2 垂直电泳仪、BT-2 转印电泳仪，上海天能科技有限公司；V370 扫描仪，日本爱普生公司；2720 型 PCR 仪，美国应用生物学公司；Roche LightCycler®480II 实时荧光定量 PCR 系统，瑞士罗氏公司；Olympus BX53 倒置光学显微镜，日本奥林巴斯公司；Millipore Millicell ERS-2 细胞电阻仪，美国默克公司。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养

Caco-2、HT29-MTX、RAW264.7 和 HepG2 细胞分别使用体积分数为 20% 胎牛血清和 1% 青 - 链霉素，置于 37℃、体积分数为 5% CO₂ 培养箱中培养。待细胞表面覆盖率达 80% 时进行传代。取对数生长期的细胞进行后续实验。

1.3.2 试剂配制

DEN：称取 1 mg DEN，用二甲基亚砜（DMSO）溶解配制成 1 mg·mL⁻¹ 的母液，使用细胞培养基稀释至所需浓度。LPS：称取 1 mg LPS，加入无菌水溶解配制成 1 mg·mL⁻¹ 母液，使用细胞培养基稀释至所需浓度。PA：PA 母液浓度为 10 mmol·L⁻¹，使用细胞培养基稀释至所需浓度。MET：称取 1 mg MET，加入无菌水溶解配制成 1 mg·mL⁻¹ 的母液，使用细胞培养基稀释至所需浓度。

1.3.3 CCK-8法检测细胞活力

根据 1.3.1 的方法培养细胞，根据细胞增殖与毒性检测试剂盒（CCK-8）说明书，使用 CCK-8 法在 450 nm 波长下分别检测不同质量浓度 DEN 孵育 HepG2、Caco-2+HT29-MTX 细胞 24 h 的细胞存活率，检测不同质量浓度 LPS 孵育 RAW 264.7 细胞 24 h 的细胞存活率，分别筛选 DEN 和 LPS 的最佳干预质量浓度。

$$C_1 = \frac{OD_1 - OD_3}{OD_2 - OD_3} \times 100\%$$

(1)

式中：
C₁——细胞存活率，%；
OD₁——实验组吸光度；
OD₂——对照组吸光度；
OD₃——空白组吸光度。

1.3.4 体外肠上皮细胞屏障模型建立

参考 Garcia 方法^[12]构建体外肠上皮细胞屏障模

型。将 Caco-2 与 HT29-MTX 细胞按照 1.3.1 分别培养，将细胞密度每孔稀释至 10⁵ 个，按照 Caco-2:HT29-MTX=9:1 比例混匀，取 500 μ L 接种至 6 孔 Transwell 上室（AL 侧），下室添加 1 500 μ L 培养基（BL 侧）。前 7 d 每隔一天换液 1 次，之后每日换液，持续培养至 21 d。通过检测 TEER 值和碱性磷酸酶活性（AKP）评估肠道屏障的形成情况。

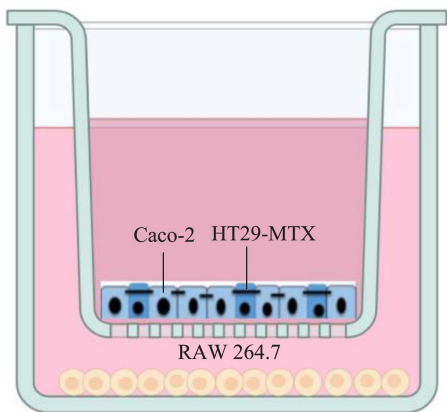


图 1 Transwell 系统的细胞共培养示意图

Fig.1 Schematic diagram of cell co-culture using a Transwell system

表 1 肠屏障损伤模型的实验分组

Table 1 Experimental grouping of intestinal barrier injury model

组别	缩写	处理方式	剂量
空白对照组	Con	未进行任何干预的正常细胞	/
模型组	LPS	LPS 诱导细胞肠屏障损伤	1.5 μ g·mL ⁻¹ LPS
石斛碱干预组	LPS+DEN	LPS 诱导损伤，同时给予石斛碱干预	1.5 μ g·mL ⁻¹ LPS+ 200 ng·mL ⁻¹ DEN
石斛碱组	DEN	石斛碱处理正常细胞	200 ng·mL ⁻¹ DEN

当 Caco-2+HT29-MTX 共培养细胞的电阻值 $\geq 200 \Omega \cdot \text{cm}^2$ 和 AKP ≥ 1.5 以上，按照 1.3.1 培养 RAW 264.7 细胞（细胞数为 10⁵ 个 / 孔）24 h，把 Caco-2+HT29-MTX 共培养细胞小室置于养有 RAW 264.7（下室）的 Transwell 板，进行共培养。随后，使用含不同质量浓度的 LPS 培养基对 RAW 264.7 细胞进行诱导 24 h，检验下室中的 NO 含量和 TEER 值确定 LPS 诱导肠屏障受损的最佳浓度（细胞共培养示意图见图 1）。表 1 为肠屏障损伤模型的实验分组。

1.3.5 单层上皮电阻值的检测

使用 Millipore 电阻仪检测细胞电阻值，每孔测三次取平均值，按照公式（2）计算电阻值。

$$C_2 = (A_1 - A_2) \times S$$

(2)

式中:
 C_2 ——跨上皮电阻, $\Omega \cdot \text{cm}^2$;
 A_1 ——样品电阻值, Ω ;
 A_2 ——空白电阻值, Ω ;
 S ——小室滤膜面积, cm^2 。

1.3.6 碱性磷酸酶活力检测

根据碱性磷酸酶活力试剂盒说明书, 分别检测共培养细胞的 AKP 活力, 按照公式 (3) 计算。

$$C_3 = \frac{OD_1 - OD_2}{OD_3 - OD_2} \times Cn \times 100 \times N \tag{3}$$

式中:
 C_3 ——碱性磷酸酶活力, 金式单位 /100 mL;
 OD_1 ——待测样吸光度值;
 OD_2 ——空白样吸光度值;
 OD_3 ——标准品吸光度值;
 Cn ——酚标准液质量浓度, $0.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$;
 N ——样本测试前稀释倍数。

1.3.7 NO水平的检测

根据一氧化氮 (NO) 含量检测试剂盒说明书, 使用微量法测定细胞的 NO 含量。

1.3.8 胰岛素抵抗细胞模型的建立

根据实验室前期方法, 建立胰岛素抵抗细胞模型^[13]。取对数生长期的 HepG2 细胞, 以每毫升 10^5 个的密度接种至 96 孔板。细胞贴壁后, 加入 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PA 溶液, 在培养箱中孵育 36 h, 诱导 HepG2 细胞形成胰岛素抵抗模型。随后再使用 DEN 干预 24 h, 检测上清液的葡萄糖含量。表 2 为胰岛素抵抗细胞实验具体分组。

Table 2 Experimental grouping of insulin-resistant cell model			
组别	缩写	处理方式	剂量
空白对照组	Con	常规培养	/
模型组	PA	PA 诱导 IR	$300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
石斛碱低剂量组	PA+DEN	PA 诱导 IR+ 石斛碱干预	$300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ LPS+ $100 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ DEN
石斛碱中剂量组	PA+DEN	PA 诱导 IR+ 石斛碱干预	$300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ LPS+ $200 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ DEN
石斛碱高剂量组	PA+DEN	PA 诱导 IR+ 石斛碱干预	$300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ LPS+ $300 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ DEN

1.3.9 葡萄糖消耗量的测定

按照葡萄糖含量检测试剂盒说明, 测定各组细胞上清液中的葡萄糖浓度。依据公式 (4) 计算其含量, 以空白培养基的葡萄糖浓度减去样品上清液的葡萄糖浓度, 得到细胞的葡萄糖消耗量。

$$C_4 = \frac{ODs - ODc}{ODn - ODc} \times Cn \times N \tag{4}$$

式中:
 C_4 ——葡萄糖含量, $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$;
 ODs ——样品吸光度值;
 ODc ——空白对照组吸光度值;
 ODn ——标准品吸光度值;
 Cn ——葡萄糖标准品浓度, $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$;
 N ——样品稀释倍数。

1.3.10 糖原、PK和HK水平的测定

根据糖原试剂盒、PK 和 HK 试剂盒分别检测 HepG2 细胞, 使用微量法分别测定细胞的 G6Pase 含量, PK 和 HK 的酶活性。

1.3.11 肠道通透性测定

将 0.5 mL 的 FITC ($50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 添加到 Transwell 嵌套板的上室中, 测量上室向基底外侧的通透性。将嵌套板在 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 2 h 后, 从下室溶液中收集培养基。用多功能微孔板检测器在 490 nm 的激发波长和 514 nm 的发射波长下计算细胞转运的荧光化合物质量浓度, 以此来评估通透性。

1.3.12 目的基因mRNA表达量的检测

根据细胞 RNA 提取试剂盒说明, 将细胞裂解后提取总 RNA 并测定其质量浓度。使用 TRUEscript RT MasterMix 试剂盒逆转录生成 cDNA, 利用罗氏实时荧光定量 PCR 检测系统测定目标 mRNA 水平。反应体系 $20 \mu\text{L}$: cDNA $2 \mu\text{L}$, 上下游引物各 $0.2 \mu\text{L}$, $2 \times \text{NovoStart}^\circledR$ Universal Fast SYBR qPCR SuperMix $10 \mu\text{L}$, RNase Free Water 补齐至 $20 \mu\text{L}$ 。反应程序为: $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 30 s, $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 5 s, $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 15 s, 循环 45 次。使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 公式计算目的基因的相对表达量。基因的引物序列如下所示:

1.3.13 目的蛋白表达量的检测

- (1) 使用预冷的 RIPA 蛋白裂解液裂解细胞, 置于 $-4 \text{ }^\circ\text{C}$ 充分裂解 30 min, 并每隔 5 min 振荡 30 s。裂解结束后 $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, $4 \text{ }^\circ\text{C}$, 5 min。取上清, 进行蛋白定量;
- (2) 按照 BCA 蛋白定量试剂盒使用说明操作, 测定蛋白质量浓度。绘制标准曲线图并计算蛋白浓度;
- (3) 根据目标蛋白的分子量, 配制凝胶;
- (4) 将待测蛋白样品以 $30 \mu\text{g}$ 每孔上样;
- (5) 电泳: 浓缩胶恒压 90 V , 约 20 min。分离胶恒压 120 V , 通过预染蛋白 Marker 来确定电泳停止时间;
- (6) 转膜: 转膜电流 300 mA , 时间 60 min。将蛋白转移到 PVDF ($0.45 \mu\text{m}$, $0.22 \mu\text{m}$) 膜上;

表 3 RT-PCR目的基因引物序列表
Table 3 RT-PCR target gene primer sequence list

基因名称	上游引物	下游引物
<i>GAPDH</i>	AGAAGGCTGGGGCTCATTTG	AGGGGCCATCCACAGTCTTC
<i>Claudin-1</i>	GGCCCTGCCATCTTTATTGG	ATTCCCAGGACAGGAACAGG
<i>Occludin</i>	GGGCATTGCTCATCCTGAAG	GCCTGTAAGGAGGTGGACTT
<i>ZO-1</i>	TTCACGCAGTTACGAGCAAG	TTGGTGTGTTGAAGGCAGAGC
<i>MUC2</i>	AATGCCCTTGCGTCCATAAC	CAGGTGCAGGTATTGCAGTC
<i>TNF-α</i>	AGGACCAGCTAAGAGGGAGA	TTCAGTGCTCATGGTGTCTT
<i>IL-8</i>	TGGCAGCCTTCCTGATTCT	AATTCTGTGTTGGCGCAGT
<i>IL-6</i>	AGACAGCCACTCACCTCTTC	AGTGCCTCTTTGCTGCTTTC
<i>IL-4</i>	ATGGGTCTCACCTCCCAACTG	TCAGCTCGAACACTTTGAATATTCTCTCTCAT

- (7) 封闭：取出的 PVDF 膜完全浸没于封闭液中，水平摇床孵育 1 h；
- (8) 孵育一抗：加入一抗，4 ℃孵育过夜；
- (9) 孵育二抗：洗去一抗，用对应的二抗孵育 1~2 h；
- (10) 胶片曝光：洗去二抗，用 ECL 超敏发光液显影拍照。

1.3.14 MUC2免疫荧光染色

细胞爬片固定（质量分数为 4% 多聚甲醛）；PBS 冲洗；滴加封闭血清，在湿盒中 37 ℃ 60 min；滴加一抗置湿盒中 4 ℃孵育过夜，PBS 冲洗；滴加荧光二抗 37 ℃置湿盒中避光孵育 1 h；滴加 DAPI 避光孵育 10 min；PBS 清洗细胞 5 min×3 次，应用 DAPI 染细胞核 10 min，PBS 清洗细胞 5 min×3 次。最后用甘油封片，并在荧光显微镜下立即观察。

1.4 数据分析

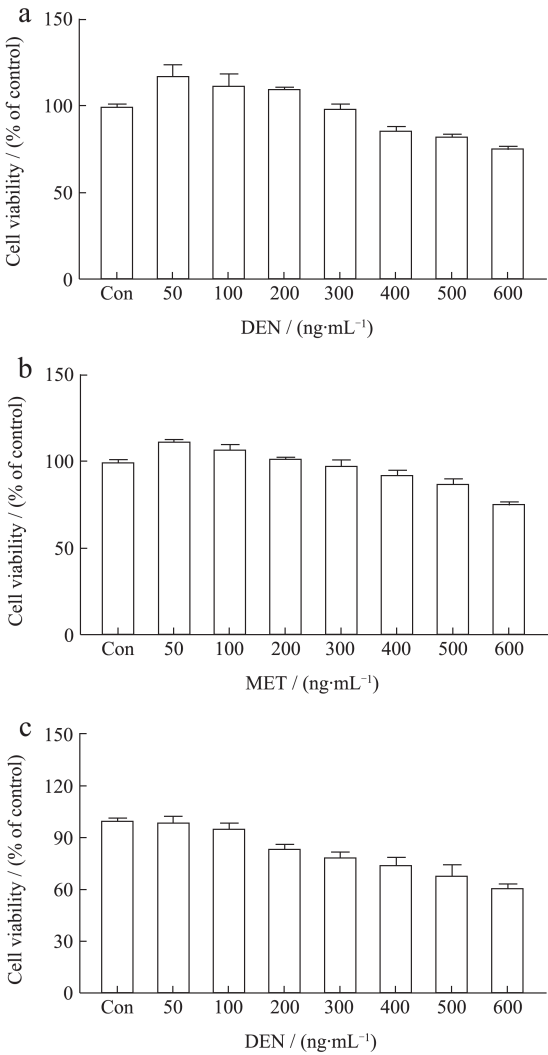
所有指标测定至少进行三次重复实验，数据以平均值 ± 标准差的形式表示。使用 IBM SPSS Statistics 26.0 软件对结果进行方差分析（Analysis of Variance, ANOVA）和 Tukey 检验，*P* < 0.05 的值被认为具有统计学意义。使用 GraphPad Prism 9.5.1 进行作图。

2 结果与分析

2.1 DEN、MET和LPS对细胞活力的影响

细胞存活率反映细胞受损程度，常用于评估样品的毒性。如图 2a 所示，当 DEN 质量浓度为 50 ng·mL⁻¹ 时，HepG2 细胞活力最高，当质量浓度大于 300 ng·mL⁻¹ 时，细胞活力逐渐降低，与空白组相比均低于 80%。因此，选择 100、200、300 ng·mL⁻¹ 质量浓度进行后续研究。图 2b 显示，50~600 ng·mL⁻¹ 的 MET 质量浓度对 HepG2 细胞活力均无明显抑制作用，为保持与 DEN 质量浓度一致，最终选择 300 ng·mL⁻¹ 的 MET

进行下一步研究。如图 2c 所示，0~200 ng·mL⁻¹ 的 DEN 对 Caco-2 和 HT29-MTX 细胞活力无明显抑制，当超过 200 ng·mL⁻¹ 时细胞活力下降明显，因此选择 50、100、200 ng·mL⁻¹ 进行研究。图 2d 显示，LPS 对 RAW 264.7 细胞活力的抑制作用呈剂量依赖性，LPS 质量浓度为 2.5 μg·mL⁻¹ 时，细胞活力低于 80%，因此选择 0.5~2.0 μg·mL⁻¹ 进行后续研究。



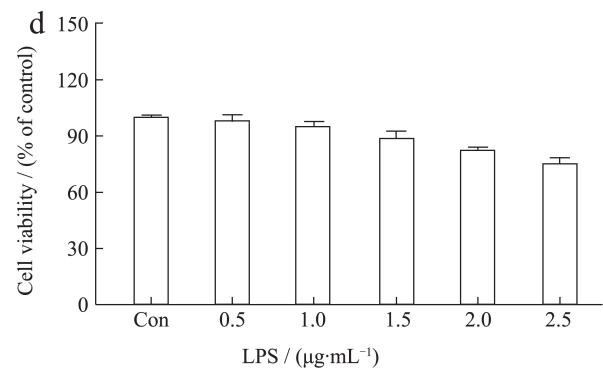


图2 不同质量浓度 DEN、MET 和脂多糖对细胞活力的影响
Fig.2 Effect of different concentrations of DEN, MET and LPS on cell viability

注：a：DEN 对 HepG2 细胞活力影响；b：MET 对 HepG2 细胞活力影响；c：DEN 对 Caco-2+HT29-MTX 细胞活力影响；d：LPS 对 RAW264.7 细胞活力影响。

2.2 Caco-2+HT29-MTX/RAW264.7细胞肠屏障模型的建立

TEER 可直接反应细胞间的紧密连接程度，通过测定 AP 侧和 BL 侧之间的电阻确定 TEER 值，当 TEER 大于 $200\ \Omega\cdot\text{cm}^2$ 时，认为肠屏障具有紧密连接完整性^[14]。如图 3 所示，TEER 值从第 2 天开始增长，在培养至 15 d 后逐渐稳定，在培养至 21 d 之后，TEER 值最终达到 $370.35\ \Omega\cdot\text{cm}^2$ ，满足 TEER 值 $>200\ \Omega\cdot\text{cm}^2$ 的要求。AKP 值被视为 Caco-2 细胞极性和分化的标志，是肠道上皮刷状边缘细胞分泌的标志酶。通常 Transwell 板 AP 侧和 BL 侧的 AKP 值比率大于 1.5 时认为 Caco-2 细胞完成了上皮样分化，形成信号传导单层细胞模型^[15]。由表 4 可知，培养至第 9 天时 AP/BL 值达到 1.665，在 21 d 时为 3.329，表明 Caco-2 细胞的极性较高且单层屏障模型已成功建立。

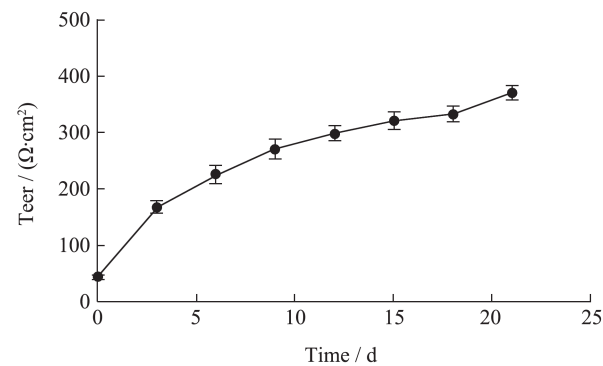


图3 Caco-2+HT29-MTX 细胞的 TEER 值
Fig.3 TEER of Caco-2+HT29-MTX cells

表 4 Caco-2+HT29-MTX细胞碱性磷酸酶活力检测
(金式单位/100 mL)

Table 4 Alkaline phosphatase activity assay of Caco-2+HT29-MTX cells (Units of Kunitz/100 mL)			
Time/d	AP	BL	AP/BL
3	0.075 ± 0.010	0.077 ± 0.002	1.044 ± 0.139 5
6	0.097 ± 0.002	0.075 ± 0.003	1.291 ± 0.059
9	0.142 ± 0.001	0.086 ± 0.006	1.665 ± 0.113
12	0.180 ± 0.013	0.069 ± 0.010	2.665 ± 0.524
15	0.218 ± 0.004	0.082 ± 0.008	2.691 ± 0.269
18	0.292 ± 0.003	0.097 ± 0.003	3.017 ± 0.137
21	0.312 ± 0.002	0.093 ± 0.004	3.329 ± 0.115

在 Caco-2+HT29-MTX 细胞形成单层屏障模型后，将上室转移至已培养 RAW264.7（下室）的 Transwell 培养板，建立 Caco-2+HT29-MTX/RAW264.7 共培养模型。随后，使用不同质量浓度的 LPS 刺激 RAW264.7 细胞，诱导其释放 NO 和促炎因子，从而破坏 Caco-2+HT29-MTX 细胞的紧密连接性。如图 4a、4b 所示，相较于空白组，LPS 的加入显著增加了细胞中 NO 的含量 ($P<0.05$)，表明细胞已发生炎症反应。同时，TEER 值显著下降至 $200\ \Omega\cdot\text{cm}^2$ 以下，表明细胞屏障功能受损。由于 $1.5\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $2.0\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 LPS 所引起的 NO 含量差异不显著 ($P>0.05$)，为了保护细胞活力，最终选择 $1.5\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 LPS 进行后续实验。随后，检测不同质量浓度的石斛碱保护细胞肠屏障效果，如图 4c 所示，当石斛碱质量浓度为 $200\ \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时，TEER 值下降最少，为 $258.72\ \Omega\cdot\text{cm}^2$ ，因此选择 $200\ \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 石斛碱进行后续实验。

完整的肠道屏障对维持机体健康具有重要意义。研究采用 Caco-2+HT29-MTX/RAW 264.7 三种细胞共培养模拟人体肠道环境，以探讨 DEN 对肠道屏障的保护作用。Caco-2 细胞具有成熟的肠上皮细胞特征，能够形成紧密连接结构，模拟肠道上皮的机械屏障^[16]。HT29-MTX 细胞可分泌黏液蛋白，模拟肠道的黏液屏障^[17]。而 RAW 264.7 细胞则用于模拟肠道中的免疫层，尤其是在炎症条件下的免疫细胞功能^[18]。同时，研究使用 LPS 刺激 RAW264.7 细胞，使其释放炎症因子，从而模拟肠道内毒素（如 LPS）突破肠道屏障进入免疫层后，诱导免疫细胞释放炎症因子并导致慢性炎症的病理环境。相较于其它研究的单一细胞模型，该研究构建的共培养模型提供了更接近真实肠道生理状况的环境^[19]。

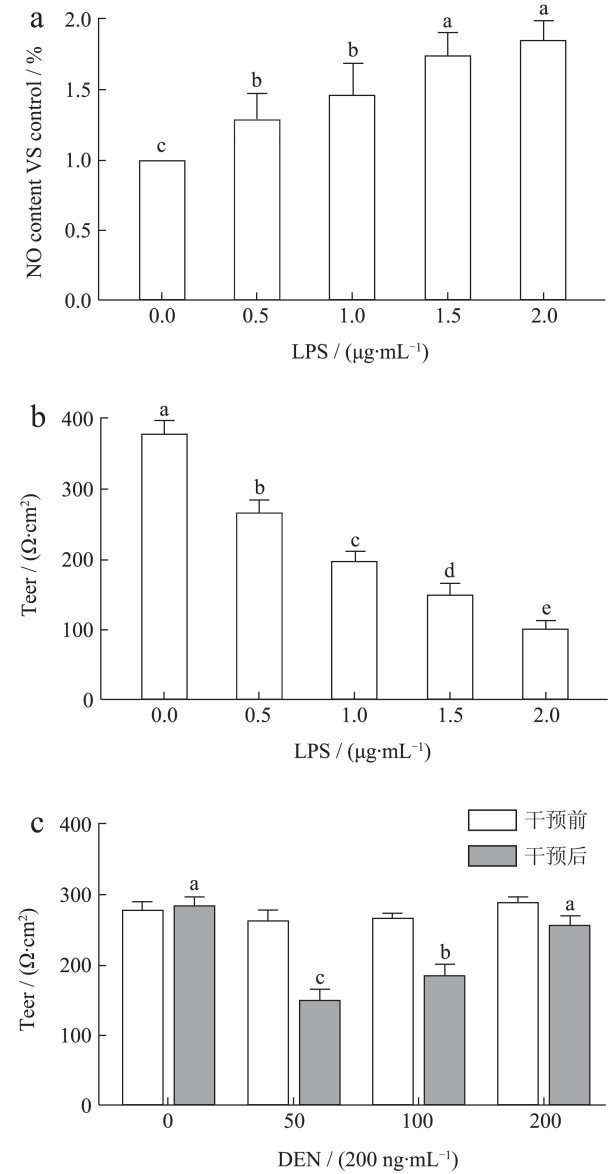


图4 LPS 诱导 Caco-2+HT29-MTX/RAW264.7 细胞屏障损伤的浓度筛选及石斛碱（DEN）干预浓度筛选

Fig.4 The concentration screening of LPS-induced Caco-2+HT29-MTX/RAW264.7 cell barrier damage and Dendrobine (DEN) intervention concentration

注:a:LPS干预后NO相对含量;b:LPS干预后TEER值;c:DEN干预后TEER值。图中不同小写字母表示各组差异具有显著性 ($P<0.05$), 相同字母表示差异不显著, 下同。

2.3 DEN改善LPS诱导的肠道屏障损伤

通常分析细胞旁通透性和TEER值评估肠屏障功能^[20]。如图5所示,LPS处理后,细胞的TEER值从247.71降低至165.76 $\Omega\cdot\text{cm}^2$,并且细胞旁通透性相较空白对照组增加了6.03%,表明LPS造成了肠道屏障

损伤。而LPS+DEN共同干预后,细胞的TEER值为227.13 $\Omega\cdot\text{cm}^2$,相较于LPS组其细胞旁通透性也下降了18.33%。此外,单独使用DEN干预细胞时,相较其它三组,它能提高TEER值并显著降低细胞旁通透性 ($P>0.05$)。这些结果初步表明,DEN可以有效保护肠屏障,减轻LPS诱导的屏障损伤。

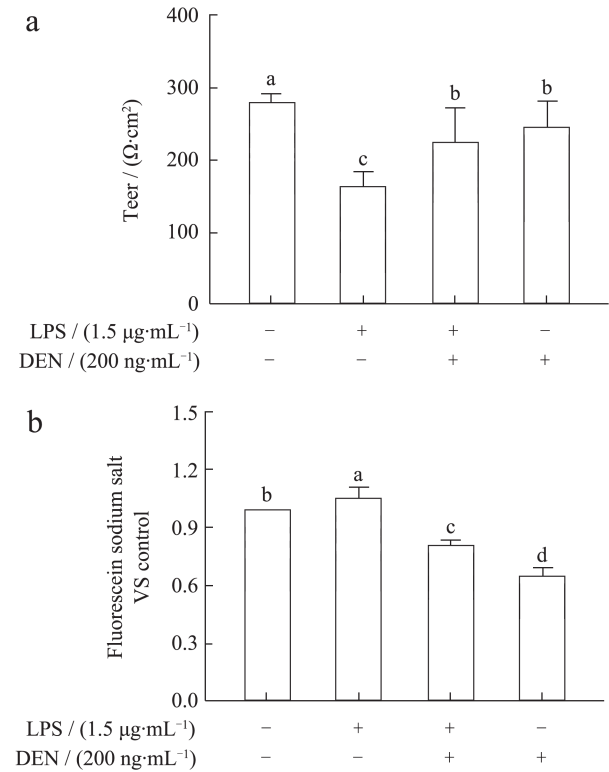


图5 DEN对肠道屏障功能的影响
Fig.5 Effect of DEN on intestinal barrier function
注: a: TEER值; b: 细胞旁荧光素钠通透性。

2.4 DEN改善LPS诱导的紧密连接蛋白的减少

机械屏障是人体肠屏障的第一道防线,负责阻挡肠道大分子物质及微生物的跨越,由紧密连接蛋白在细胞间隙建立屏障构成,包括Claudin-1、Occludin和ZO-1蛋白^[21]。为探究DEN对肠道屏障完整性的保护作用,该研究分别检测了DEN对这3个蛋白表达水平的影响。如图6所示,与空白对照组相比,LPS处理显著降低了Claudin-1、Occludin和ZO-1的表达,分别降低了63.57%、67.43%、68.43%。然而,在DEN干预后,相较于LPS组,Claudin-1、Occludin和ZO-1蛋白水平分别提高了72.19%、82.40%、75.29%。此外,与空白对照组相比,单独使用DEN组干预可显著提高Claudin-1、Occludin和ZO-1的表达量,分别提高了69.33%、64.07%和27.30%。

为进一步确认 DEN 对紧密连接的调控作用, 该研究通过 RT-PCR 检测了 DEN 和 LPS 干预后 Claudin-1、Occludin 和 ZO-1 的 mRNA 水平 (图 7)。结果表明, 单独使用 DEN 干预能够显著提高 Claudin-1、Occludin 和 ZO-1 的 mRNA 表达水平, 相较于空白对照组分别增加了 19.87%、56.13% 和 51.67%。相比之下, LPS 干预后显著抑制了这些基因的转录表达, Claudin-1、Occludin 和 ZO-1 的 mRNA 水平相较于空白对照组分别降低了 56.47%、78.97%、25.33%。值得注意的是, DEN 能够显著逆转 Occludin 的 mRNA 下降趋势, 其表达水平较 LPS 组上调了 452.93%, 接近空白对照组水平。然而, ZO-1 和 claudin-1 的 mRNA 相对表达量虽然分别上升了 12.11% 和 1.47%, 但是与 LPS 组之间并无显著差异 ($P>0.05$)。这提示 DEN 可能通过特定的调控机制优先恢复 Occludin 的 mRNA 表达, 而对 ZO-1 和 Claudin-1 的 mRNA 表达影响较小。总之, 这些结果表明, DEN 不仅能够提高 Claudin-1、Occludin 和 ZO-1 蛋白表达同时增强其 mRNA 表达, 从而发挥机械屏障保护作用。

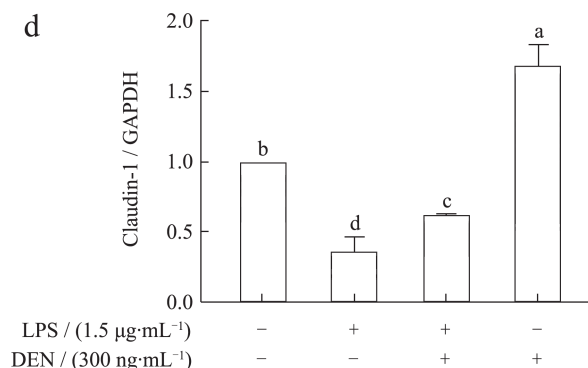
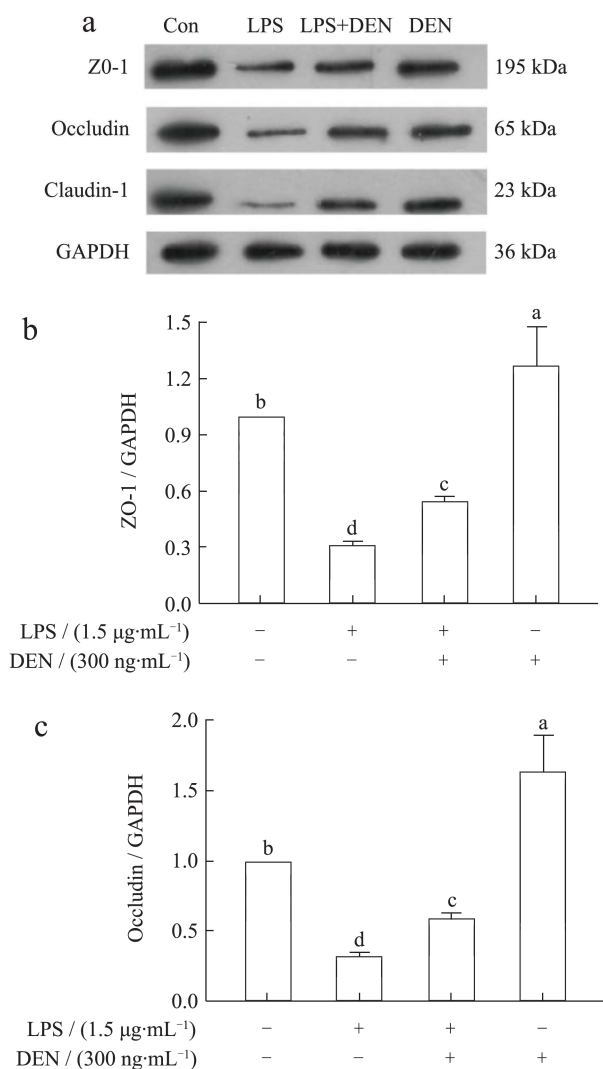


图 6 DEN 对紧密连接蛋白的影响

Fig.6 The effect of DEN on tight junction proteins

注: a: Western-Blot 蛋白印迹图; b: ZO-1 蛋白表达量; c: Occludin 蛋白表达量; d: Claudin-1 蛋白表达量。

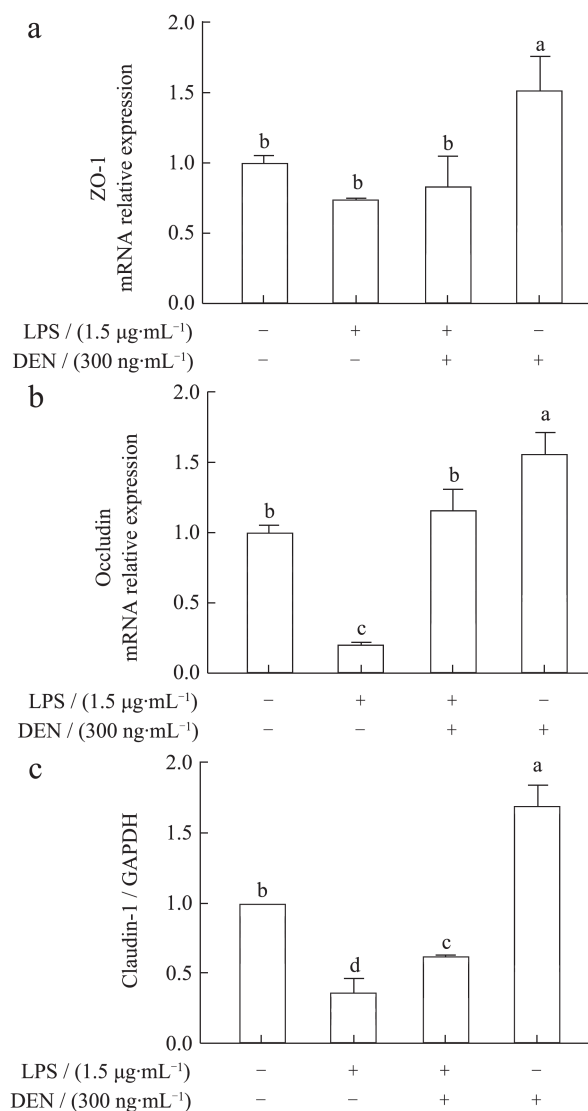


图 7 DEN 对紧密连接蛋白 mRNA 表达量的影响

Fig.7 The effect of DEN on tight junction proteins mRNA expressions

注: a: ZO-1 的 mRNA 表达量; b: Occludin-1 的 mRNA 表达量; c: Claudin-1 的 mRNA 表达量。

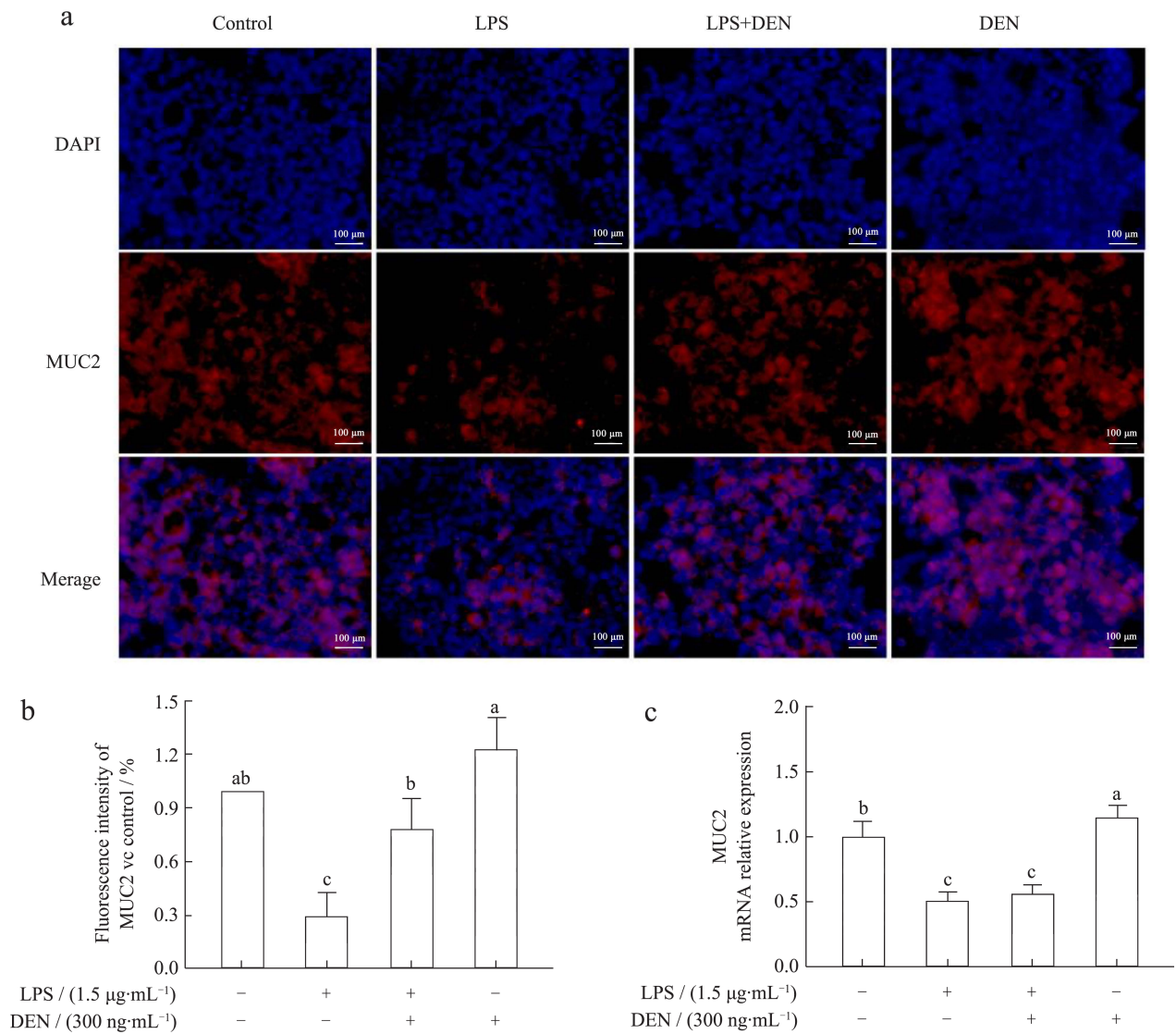


图 8 DEN 对黏液蛋白分泌的影响

Fig.8 The effect of DEN on mucin secretion

注：a：MUC2 的免疫荧光染色；b：MUC2 荧光强度的定量；c：MUC2 的 mRNA 表达量。

2.5 DEN促进黏蛋白的产生

黏液屏障是肠道屏障的重要组成部分，主要由上皮细胞分泌的黏液蛋白构成，如 MUC2 蛋白^[22]。本研究对 Den 和 LPS 干预后细胞分泌的 MUC2 蛋白进行免疫荧光分析（图 8a、8b），结果显示，与 LPS 组相比，Den+LPS 组的 MUC2 生成量增加了 70.33%。与空白对照组相比，仅由 Den 干预后的细胞分泌的 MUC2 表达量也增加了 23.33%。此外，MUC2 的 mRNA 结果显示（图 8c），在 LPS+DEN 共同干预后，相较于 LPS 干预组，MUC2 的 mRNA 表达量上升了 10.38%，但尚未达到显著差异（ $P>0.05$ ）。而单独使用 DEN 干预的细胞能够显著提高 MUC2 的 mRNA 表达量，相较于空白对照组增加了 15.57%（ $P>0.05$ ）。由上述结果可知，DEN 是黏液屏障的重要调节因子。

目前大部分关于肠屏障的研究主要聚焦于机械屏障，而忽略了黏液屏障。但近年来的研究逐渐揭示了黏液屏障在肠道健康中的关键地位。例如，黏液蛋白 MUC2 不仅可以直接与免疫细胞相互作用以调节免疫反应，还能通过其黏性捕捉清除病原菌^[23]。研究发现，啮齿枸橼酸杆菌（*Citrobacter rodentium*）能够通过模式识别受体激活先天免疫系统，从而刺激 MUC2 表达，进而促进 *C. rodentium* 的清除，形成互惠互利的关系，有助于稳定肠道微生态^[24]。本研究引入 HT29-MTX 细胞与 Caco-2 细胞共培养体系，为 DEN 在肠道屏障调控中的作用提供了新视角。

2.6 DEN对炎症因子mRNA表达的影响

炎症反应与肠道屏障损伤和胰岛素抵抗都密切相关，为了探讨 DEN 对炎症反应的调节作用，实验分

析了炎症因子的 mRNA 表达量。如图 9 所示, LPS 干预后显著增加了促炎因子 TNF- α 和 IL-6 的释放, 并抑制抗炎因子 IL-4 和 IL-10 的生成。而 DEN+LPS 组相较于 LPS 组, TNF- α 和 IL-6 的 mRNA 水平显著下调, 分别降低了 14.14% 和 68.93%, 同时 IL-4 和 IL-10 的 mRNA 水平显著增加, 分别增加了 243.96% 和 41.35%。此外, 将 DEN 组与空白对照组进行比较发现, TNF- α 、IL-4 和 IL-10 因表达量并无显著差异, 而 IL-6 的 mRNA 表达量显著减少。总之, 研究结果表明 DEN 具有显著的抗炎效果。已有研究报道, 铁皮石斛多糖可降低 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平, 修复肠道屏障^[25]。此外, 山奈酚则通过减少 Caco-2 细胞分泌 IL-8 发挥肠屏障保护作用^[26]。本研究首次证实, DEN 可增强紧密连接蛋白和黏液蛋白的表达, 并调节炎症因子平衡, 进而发挥保护肠道屏障的作用, 其机制与上述天然产物相似。

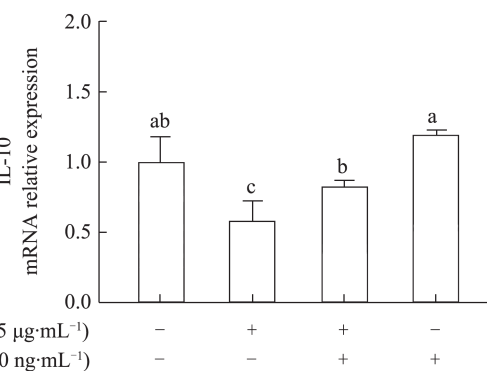
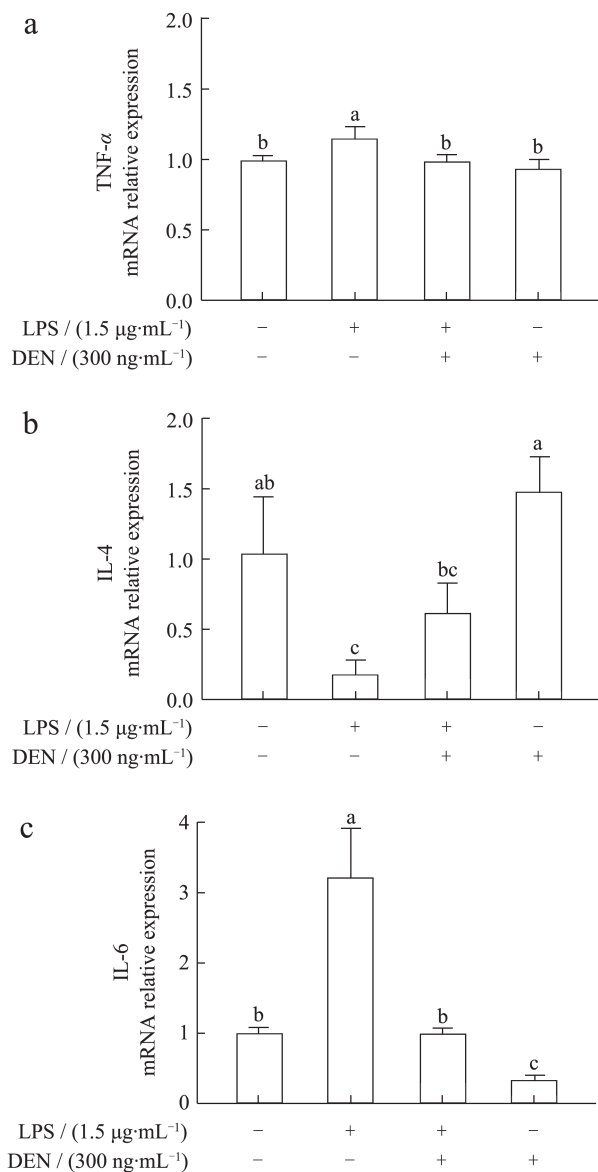


图 9 DEN 对 LPS 诱导炎症反应的影响

Fig.9 The effect of DEN on LPS-induced in inflammation

注: a: TNF- α 的 mRNA 表达量; b: IL-4 的 mRNA 表达量; c: IL-6 的 mRNA 表达量; d: IL-10 的 mRNA 表达量。

2.7 DEN缓解细胞的胰岛素抵抗

按照 1.3.8 建立 IR-HepG2 细胞模型后, 分别使用 100、200 和 300 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 DEN 和 300 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 MET 干预 24 h, 随后测定各组细胞上清液中的葡萄糖含量。结果如图 10a 所示, PA 诱导的细胞相比于空白组 (14.99 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$), 葡萄糖消耗量显著降低至 8.40 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 表明细胞发生了 IR。而 DEN 干预后能显著改善 IR 且葡萄糖消耗量呈现剂量依赖性, 低中高剂量组分别增至 10.70、11.83、13.04 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。这些结果初步表明, DEN 具有缓解胰岛素抵抗的潜力。

胰岛素通过增强肌肉和肝脏中的糖原合成和抑制糖原分解来调节血糖。当胰岛素敏感性降低并发生 IR 时, 糖原合成会受到抑制。HK 和 PK 是糖酵解中的关键酶, 正常情况下, 它可以及时将细胞的葡萄糖磷酸化为葡萄糖-6-磷酸, 形成浓度梯度, 促进剩余葡萄糖进入血液, 随后, 葡萄糖-6-磷酸继续参与糖酵解途径或糖原合成, 帮助维持血糖的稳态^[27]。因此, 实验进一步检测了细胞的糖原含量以及 PK、HK 酶活性。如图 10b 所示, PA 诱导 IR 后, 糖原含量显著下降, 相较于空白对照组减少了 66.94%。而在 DEN 干预后糖原含量显著增加, 与 PA 组相比, 100、200 和 300 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ DEN 组的糖原含量分别提高了 1.2 倍、1.4 倍和 1.5 倍。此外, 研究结果显示 DEN 能够逆转 PA 导致的 PK 和 HK 酶活性降低。由图 10c 可知, PA 组的 PK 含量为 63.48 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ protein, 100、200 和 300 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ DEN 组的 PK 酶活性分别为 92.14、107.09、122.02 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ protein。图 10d 显示, PA 组的 HK 含量为 19.37 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ protein, 而 100、200 和 300 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ DEN 组的 PK 酶活性分别为 29.63、73.99、73.84 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ protein。由上述结果可知, DEN 不仅可以提高糖酵解酶活性还能促进糖原合成,

缓解 IR。

综上所述，DEN 不仅能够有效保护肠道屏障，同时具有缓解胰岛素抵抗的作用。已有研究指出，肠道屏障受损可导致内毒素（如 LPS）进入循环系统，激活炎症通路，从而进一步加剧胰岛素抵抗和代谢紊乱^[28,29]。Zhou 等^[30]通过枸杞多糖干预 T2DM 小鼠，证实枸杞多糖能够改善 LPS 诱导的 Caco-2 单层细胞通透性升高，并上调紧密连接蛋白 ZO-1 的表达，从而有效缓解 T2DM 的发展。此外，Chen 等^[31]的研究也表明，铁皮石斛多糖能够通过调控 LPS/TLR4/TRIF/NF-κB 信号轴修复肠道屏障，改善 T2DM 小鼠高血糖症状。这些研究强调了肠道屏障完整性在干预糖代谢紊乱中的关键作用。

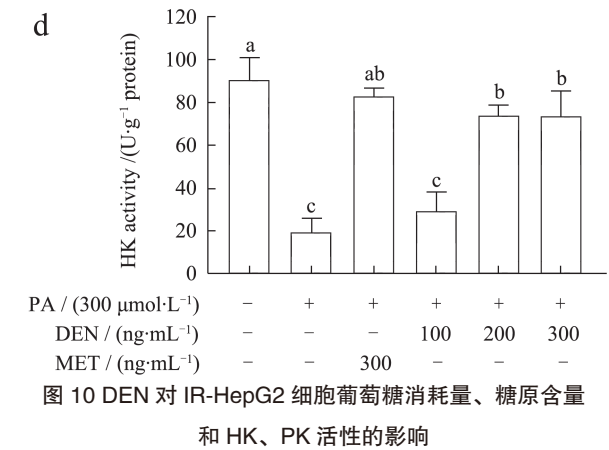
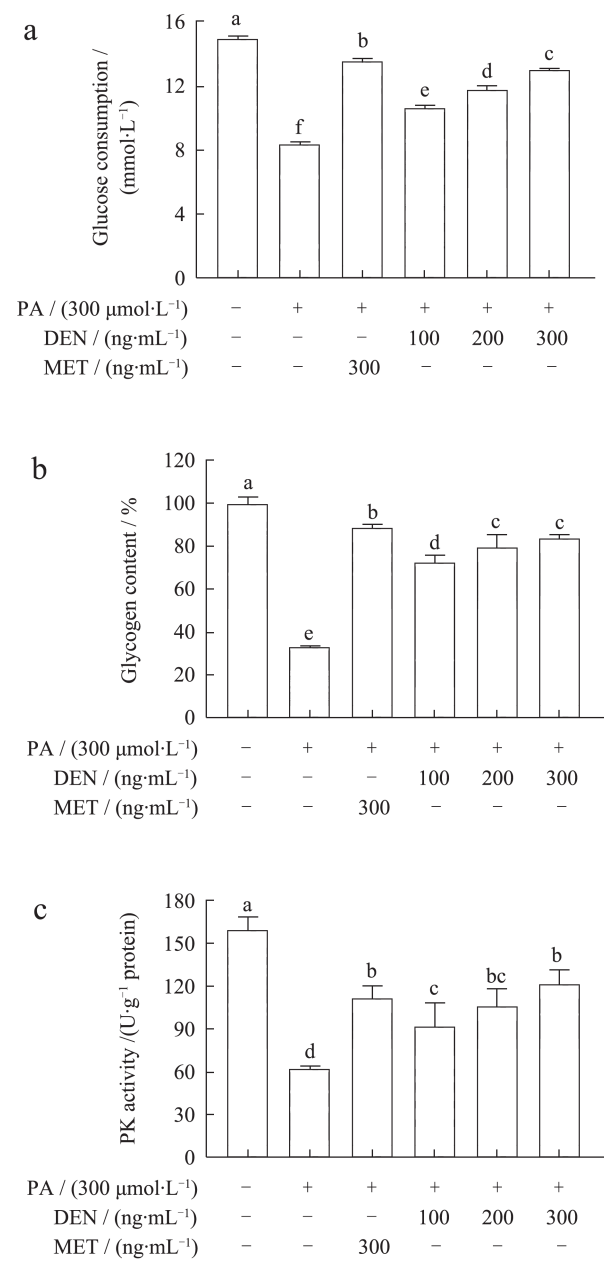


图 10 DEN 对 IR-HepG2 细胞葡萄糖消耗量、糖原含量和 HK、PK 活性的影响

Fig.10 Effect of DENdrobium alkaloids on glucose consumption, glycogen content and the activity of HK and PK in the IR-HepG2 cell

注：a：葡萄糖消耗量；b：糖原含量；c：HK 酶活力；d：PK 酶活力。

在本研究中，DEN 不仅在 IR-HepG2 细胞模型中显著改善了葡萄糖代谢异常，同时在 Caco-2+HT29-MTX/RAW264.7 共培养细胞模型中也观察到其对肠道屏障的保护效应。DEN 的作用机制与上述天然产物类似，进一步支持了天然产物通过保护肠道屏障调节糖代谢的研究假设，为开发基于天然成分的 T2DM 治疗策略提供科学依据。

3 结论

本研究首次采用 Caco-2+HT29-MTX/RAW 264.7 三种细胞共培养模型探究了 DEN 对肠道屏障的保护作用。结果表明，DEN 可显著提高紧密连接蛋白表达，修复肠道物理屏障，并促进黏液蛋白的分泌，增强肠道化学屏障功能。此外，DEN 通过抑制促炎因子和促进抗炎因子的表达，减轻肠道炎症反应，进一步保护肠道屏障的完整性。通过 IR-HepG2 细胞模型，本研究验证了 DEN 对糖代谢的改善作用，具体表现为 IR 细胞葡萄糖消耗量和糖原含量的增加，糖代谢关键酶 PK 和 HK 的酶活性恢复。这些结果表明，DEN 可能通过修复肠道屏障，减轻炎症反应，进而缓解胰岛素抵抗，揭示了肠道屏障与胰岛素抵抗之间的密切联系，为 DEN 作为潜在的降血糖功能性食品或者药品提供了理论依据。然而，本研究主要基于体外实验，未来还应在动物模型和临床研究中验证 DEN 的疗效，评估其安全性、剂量依赖性以及其他治疗手段的协同作用。

参考文献

[1] ELSAYED N A, ALEPPO G, ARODA V R, et al. Classification

- and diagnosis of diabetes: standards of care in diabetes-2023 [J]. Diabetes Care, 2023, 46(Suppl 1): S19-S40.
- [2] MARTIN A, DEVKOTA S. Hold the door: role of the gut barrier in diabetes [J]. Cell Metabolism, 2018, 27(5): 949-51.
- [3] RAY K. Intestinal tract: A breach in the intestinal barrier during hyperglycaemia [J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2018, 15(5): 255.
- [4] THAISS C A, LEVY M, GROSHEVA I, et al. Hyperglycemia drives intestinal barrier dysfunction and risk for enteric infection [J]. Science, 2018, 359(6382): 1376-1383.
- [5] FORETZ M, GUIGAS B, VIOLLET B. Metformin: update on mechanisms of action and repurposing potential [J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2023, 19(8): 460-476.
- [6] OKUYAMA M, SABURI W, MORI H, KIMURA A. α -Glucosidases and α -1,4-glucan lyases: structures, functions, and physiological actions [J]. Cell Metabolism, 2016, 73(14): 2727-2751.
- [7] DEMARSILIS A, REDDY N, BOUTARI C, et al. Pharmacotherapy of type 2 diabetes: An update and future directions [J]. Metabolism, 2022, 137: 155332.
- [8] QIN L, FAN B, ZHOU Y, et al. Targeted gut microbiome therapy: Applications and prospects of probiotics, fecal microbiota transplantation and natural products in the management of type 2 diabetes [J]. Pharmacological Research, 2025, 213: 107625.
- [9] 周忠瑜, 蒲婷婷, 张蕾, 等. 石斛属植物抗糖尿病本草学、物质基础及作用机制研究进展[J]. 中草药, 2022, 53(18): 5934-5944.
- [10] PAN H, SHI F G, FANG C, SHI J S. Metabolic characterization of a potent natural neuroprotective agent dendrobine *in vitro* and in rats [J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2022, 43(4): 1059-71.
- [11] BHARDWAJ K, BHARGAV R, PATOCKA J, et al. Dendrobine: a neuroprotective sesquiterpenic alkaloid for the prevention and treatment of diseases: a review [J]. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, 2024, 24(15): 1395-1408.
- [12] GARCÍA-RODRÍGUEZ A, VILA L, CORTÉS C, et al. Exploring the usefulness of the complex *in vitro* intestinal epithelial model Caco-2/HT29/Raji-B in nanotoxicology [J]. Food and Chemical Toxicology, 2018, 113: 162-70.
- [13] 鲁为, 刘佳萌, 覃璐琪, 等. 石斛内生菌产石斛碱类生物碱发酵培养条件优化及降血糖活性研究[J]. 中国食物与营养, 2025, 31(6): 58-64.
- [14] DU C, WANG P, LI Y, et al. Investigation of selenium and selenium species in *Cardamine violifolia* using *in vitro* digestion coupled with a Caco-2 cell monolayer model [J]. Food Chemistry, 2024, 444: 138675.
- [15] YANG Q, XING M, WANG K, et al. Application of fucoidan in caco-2 model establishment [J]. Pharmaceuticals (Basel), 2022, 15(4): 418.
- [16] WANG Y, TONG J, CHANG B, et al. Effects of alcohol on intestinal epithelial barrier permeability and expression of tight junction-associated proteins [J]. Molecular Medicine Reports, 2014, 9(6): 2352-2356.
- [17] GARCÍA-RODRÍGUEZ A, VILA L, CORTÉS C, et al. Effects of differently shaped TiO₂(2)NPs (nanospheres, nanorods and nanowires) on the *in vitro* model (Caco-2/HT29) of the intestinal barrier [J]. Particle and Fibre Toxicology, 2018, 15(1): 33.
- [18] BERGHAUS L J, MOORE J N, HURLEY D J, et al. Innate immune responses of primary murine macrophage-lineage cells and RAW 264.7 cells to ligands of Toll-like receptors 2, 3, and 4 [J]. Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases, 2010, 33(5): 443-454.
- [19] PONCE DE LEÓN-RODRÍGUEZ M D C, GUYOT J P, LAURENT-BABOT C. Intestinal *in vitro* cell culture models and their potential to study the effect of food components on intestinal inflammation [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2019, 59(22): 3648-3666.
- [20] REALE O, HUGUET A, FESSARD V. Co-culture model of Caco-2/HT29-MTX cells: A promising tool for investigation of phycotoxins toxicity on the intestinal barrier [J]. Chemosphere, 2021, 273: 128497.
- [21] CHEN S, LIU H, LI Z, et al. Epithelial PBLD attenuates intestinal inflammatory response and improves intestinal barrier function by inhibiting NF- κ B signaling [J]. Cell Death & Disease, 2021, 12(6): 563.
- [22] JOHANSSON M E, SJÖVALL H, HANSSON G C. The gastrointestinal mucus system in health and disease [J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2013, 10(6): 352-361.
- [23] LIU Y, YU Z, ZHU L, et al. Orchestration of MUC2-The key regulatory target of gut barrier and homeostasis: A review [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 236: 123862.
- [24] BERGSTROM K S, KISSOON-SINGH V, GIBSON D L, et al. Muc2 protects against lethal infectious colitis by disassociating pathogenic and commensal bacteria from the colonic mucosa [J]. PLoS Pathog, 2010, 6(5): e1000902.
- [25] WANG H Y, LI Q M, YU N J, et al. Dendrobium huoshanense polysaccharide regulates hepatic glucose homeostasis and pancreatic β -cell function in type 2 diabetic mice [J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 211: 39-48.
- [26] SUZUKI T, TANABE S, HARA H. Kaempferol enhances intestinal barrier function through the cytoskeletal association and expression of tight junction proteins in Caco-2 cells [J]. The Journal of Nutrition, 2011, 141(1): 87-94.
- [27] RASCHE L, ANGTUACO E, MCDONALD J E, et al. Low expression of hexokinase-2 is associated with false-negative FDG-positron emission tomography in multiple myeloma [J]. Blood, 2017, 130(1): 30-34.
- [28] LI X, WATANABE K, KIMURA I. Gut microbiota dysbiosis drives and implies novel therapeutic strategies for diabetes mellitus and related metabolic diseases [J]. Frontiers in Immunology, 2017, 8: 1882.
- [29] SORINI C, COSORICH I, LO CONTE M, et al. Loss of gut barrier integrity triggers activation of islet-reactive T cells and autoimmune diabetes [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2019, 116(30): 15140-15149.
- [30] ZHOU W, YANG T, XU W, et al. The polysaccharides from the fruits of *Lycium barbarum* L. confer anti-diabetic effect by regulating gut microbiota and intestinal barrier [J]. Carbohydrate Polymers, 2022, 291: 119626.
- [31] CHEN X, CHEN C, FU X. *Dendrobium officinale* polysaccharide alleviates type 2 diabetes mellitus by restoring gut microbiota and repairing intestinal barrier via the LPS/TLR4/TRIF/NF- κ B Axis [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(31): 11929-11940.