

绞股蓝皂苷对小鼠肠道免疫屏障的保护作用及机制研究

陈佳怡 白 宏 张彩梅 李婧楠 肖霜泽霖

西安培华学院 陕西西安 710125

【摘要】目的：研究绞股蓝皂苷对小鼠肠道免疫屏障的保护作用并探讨其内在机制。方法：DAP 评分标准进行疾病活动指数评分；通过 ELISA 法检测炎症因子 IL-6、TNF- α 在血清中蛋白水平变化情况。结果：绞股蓝皂苷可以减轻小鼠肠道疾病；绞股蓝皂苷可以降低小鼠血液中炎症因子 IL-6 和 TNF- α 的蛋白表达量。结论：绞股蓝皂苷可以增强小鼠肠道免疫屏障保护作用。

【关键词】绞股蓝皂苷；免疫屏障；炎症

Abstract: Objective: To investigate the protective effect of gypenoside on intestinal immune barrier in mice and its underlying mechanism. Methods: The disease activity index was scored by DAP scoring standard. The protein levels of IL-6 and TNF- α in serum were detected by ELISA. Results: Gypenoside can alleviate intestinal diseases in mice. Gypenoside can reduce the protein expression of inflammatory factors IL-6 and TNF- α in the blood of mice. Conclusion: Gypenosides can enhance the protective effect of intestinal immune barrier in mice.

Keywords: gypenoside, Immune barrier, inflammation

引言

胃肠道是人体内与外界环境接触的最大界面，它完成了食物加工的功能，在消灭病原体的同时，也使肠道共生微生物得以生存。因此，胃肠道是一个主要的防线，其中上皮细胞提供了一个物理屏障，并与免疫和基质细胞合作以抵御病原体，并限制它们与上皮的直接接触。胃肠道的免疫系统不断受到来自管腔的抗原的挑战，因此必须能够区分哪些抗原应该耐受或不耐受。肠上皮由单层不同的肠上皮细胞组成，这些细胞强烈参与先天免疫^[1]。肠腺底部的内分泌细胞和干细胞形成具有特殊功能的肠上皮细胞（肠上皮细胞、杯状细胞、潘氏细胞和肠内分泌细胞）。肠细胞和潘氏细胞产生抗菌肽，如 α -防御素、溶菌酶 C、磷脂酶 C、C 型凝集素和再生胰岛衍生的 3- γ ，这对控制病原体很重要。杯状细胞分泌粘蛋白，润滑和保护上皮肠表面，以及作为抗原呈递细胞参与将管腔抗原递送至 CD103 C 树突状细胞，其促进调节性 T 细胞的发育。据估计，胃肠道可以容纳高达 70% 的体内 S 淋巴细胞群体，使其成为体内最大的免疫器官^[2]。微生物群与宿主免疫力有关。研究表明，肠道微生物群不仅对生物体必需营养素的代谢很重要，而且在肠道发育中也起着至关重要的作用，对于发育一个功能齐全的免疫系统是必要的。

绞股蓝皂苷 (Gypenoside, Gyp) 是从绞股蓝中提取的一种皂苷，近年来报道了绞股蓝的多种药理作用，如抗癌、抗溃疡、治疗肝炎、高脂血症等，但对动物无明显毒性^[3]。研究表明，绞股蓝皂苷可以联合多种物质调节肠道功能，保护小鼠肠道屏障^[4]。

本研究以绞股蓝皂苷为研究材料，以 BALB/c 小鼠为实验动物研究绞股蓝皂苷的肠道屏障保护作用。以期进一步挖掘绞股蓝皂苷的生物学功能，提高绞股蓝的综合利用率。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

Bab-c 小鼠购于中国空军军医大学实验动物饲养中心，引物合成由上海生工生物工程科技有限公司完成，绞股蓝皂苷购于埃法生物公司。小鼠 IL-6 ELISA 试剂盒来源于索莱宝公司。小鼠 TNF- α ELISA 试剂盒来源于索莱宝公司。

1.2 实验分组

选用 8-10 周龄雌性小鼠 30 只，随机分成 5 组，分别为：对照组 (NC)：纯净水饮用+生理盐水、模型组 (Vehicle)：3%DSS 口服+生理盐水、绞股蓝皂苷高剂量组 (GP-H)：3%DSS 口服+400g/kgGP 灌胃、绞股蓝皂苷中剂量组 (GP-M)：3%DSS 口服+200g/kgGP 灌胃、绞股蓝皂苷低剂量组 (GP-L)：3%DSS 口服+100g/kgGP 灌胃，除了对照组灌胃生理盐水，其余各组通过 3% 的右旋糖酐硫酸钠 (DSS) 建立溃疡性结肠炎小鼠模型。

1.3 采用 DAI 评分标准对小鼠进行评分

按照 DAI 评分标准 (表 1) 进行评分，记录下每组小鼠的体重、粪便、便血情况。

表 1 小鼠 DAP 评分标准

记分	体质量下降%	粪便状态	便血情况
0	0	正常	阴性 (-)
1	0~5	介于两者之间	介于两者之间
2	5~10	半稀便	隐血 (+)
3	10~15	介于两者之间	介于两者之间
4	≥ 15	稀便	肉眼血便

1.4 检测各组小鼠结肠长度变化

各组小鼠处死后至于冰上解剖，取出小鼠结肠部分，记录不同处理组小鼠结肠长度

1.5 酶联免疫吸附试验检测炎症因子的蛋白水平变化

实验第 10 天，所有小鼠进行眼眶取血。离心分离血清，按照试剂盒说明书检测各组小鼠血清中 TNF- α 和 IL-6 的含量。

1.6 统计学方法

用 Graphpad Prism 7 软件进行数据统计与分析，统计学数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，组间比较采用 T 检验， $P \leq 0.05$ 为有统计学

差异。

2 结果

2.1 绞股蓝皂苷降低了 DSS 诱导的小鼠 DAI 评分

表 2 结果表明，对照组小鼠在检测时间内小鼠大便干结成型，模型组小鼠从第 1 天到底 7 天大便越来越不成型，第 7 天呈现严重稀便。与对照组相比，绞股蓝皂苷处理组同一时间小鼠的粪便成型度有所改善。且改善程度与绞股蓝皂苷浓度成正比。上述实验结果说明绞股蓝皂苷对 DSS 诱导的小鼠结肠炎有保护作用。

表 2 绞股蓝皂苷对小鼠 DAI 评分的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	数量 (只)	DAY1 (分)	DAY2 (分)	DAY3 (分)	DAY4 (分)	DAY5 (分)	DAY6 (分)	DAY7 (分)
NC	6	0	0	0	0	0	0	0
Vehicle	6	0.9 \pm 0.61	1.1 \pm 0.54	2.3 \pm 0.46	4.8 \pm 0.28	9.5 \pm 0.56	11.5 \pm 0.39	11.9 \pm 0.24
GP-H	6	0	0	0.4 \pm 0.25	2.1 \pm 0.65	2.9 \pm 0.56***	3.9 \pm 0.41***	5.6 \pm 0.65***
GP-M	6	0	0	0.98 \pm 0.31	3.32 \pm 0.35	3.79 \pm 0.62***	5.36 \pm 0.75***	7.31 \pm 0.72***
GP-L	6	0.31 \pm 0.34	0.47 \pm 0.5	0.69 \pm 0.36	3.31 \pm 0.35	3.97 \pm 0.48***	5.83 \pm 0.73***	7.81 \pm 0.67***

2.2 绞股蓝皂苷抑制 DSS 诱导的小鼠结肠缩短

图 1 结果显示，与对照组相比，模型组小鼠的结肠长度显著缩短 ($P < 0.05$)，用绞股蓝皂苷处理后，明显抑制了小鼠结肠的缩短现象 ($P < 0.05$)。且抑制效果与绞股蓝皂苷的浓度成正比。

2.3 绞股蓝皂苷抑制炎症因子 IL-6、TNF- α 的表达

ELISA 检测结果如表 3 所示，与对照组相比，模型组炎症因子 IL-6、TNF- α 的表达水平显著升高，绞股蓝皂苷处理组炎症因子水平有所降低，且随着绞股蓝浓度的增高，炎症因子水平降低越明显。结果表明绞股蓝能抑制 IL-6、TNF- α 的表达。

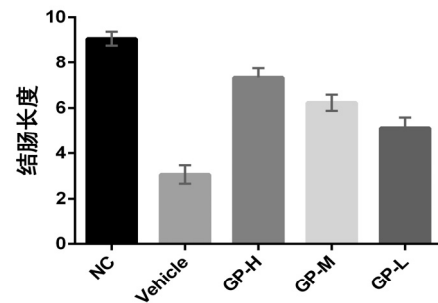


图 1 不同处理组小鼠结肠长度 ($\bar{x} \pm s$) [^] $P < 0.05$, ^{*} $P < 0.05$

表 3 不同处理组小鼠炎症因子蛋白表达水平

炎症因子	NC	Vehicle	GP-H	GP-M	GP-L
IL-6	5.047 \pm 0.034	74.13 \pm 2.921	18.81 \pm 1.49**	39.35 \pm 0.13**	53.67 \pm 0.32
TNF- α	9.797 \pm 0.056	108.6 \pm 4.982	83.95 \pm 5.905**	99.9 \pm 3.74	113.4 \pm 4.68

3 结论

本课题通过利用行为学和分子生物学的方法对绞股蓝皂苷保护小鼠肠道免疫屏障的作用及机制进行了研究，行为学研究结果显示绞股蓝皂苷能改善 DSS 诱导的小鼠稀便现象，对于 DSS 诱导的结肠缩短现象有缓减作用。ELISA 检测结果显示绞股蓝皂苷能抑制 DSS 诱导的小鼠结肠炎血清中炎症因子 IL-6、TNF- α 的表达水平。上述研究结果均提示绞股蓝皂苷可以通过下调炎症因子的表达发挥抗结肠炎的作用，进而保护小鼠结肠免疫屏障。

参考文献:

[1]余钊, 杜勇, 程翌等. 肠道菌群与胃肠道炎症和消化道早癌的相关

性研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39 (24): 3575-3579.

[2]王泽瑞, 焦艳梅, 令狐恩强. 肠道非免疫细胞及其在炎症性肠病中的作用研究进展[J/OL]. 解放军医学杂志: 1-15[2024-02-01].

[3]梁晓爽, 滕媛, 赵志伟等. 绞股蓝皂苷治疗肝病的研究进展[J]. 药学进展, 2023, 47 (09): 717-726.

[4]杨爱龙, 阚成国, 韩雪等. 马勃灌肠液对溃疡性结肠炎模型小鼠 TNF- α /IL-6 细胞因子的影响及疗效研究[J]. 中医药学报, 2022, 50 (12): 32-37.

作者简介: 陈佳怡 (2003.1), 女, 汉族, 籍贯: 陕西西安, 学历: 本科。

基金项目: 西安培华学院 2023 年大学生创新创业训练计划项目, 项目编号: s202311400055。