

诺丽多糖对电离辐射损伤小鼠的防护作用及对肠道菌群的影响

于纯淼, 陈小倩, 廖贤, 李艾欣, 陈佳, 于苗苗

Protective Effect of Noni Polysaccharide on Ionizing Radiation Injury Mice and Its Effect on Intestinal Microbiota

YU Chunmiao, CHEN Xiaoqian, LIAO Xian, LI Aixin, CHEN Jia, and YU Miaomiao

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023100018>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

2种蛋白肽对电离辐射损伤小鼠的保护作用

Radioprotective Effect of Two Kinds of Protein Peptides in Ray-irradiated Mice

食品工业科技. 2022, 43(9): 359–364 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020050346>

人参多糖对氧化应激损伤肝细胞的保护作用机制研究

Mechanism of Protective Effect of Ginseng Polysaccharide on Hepatocytes Induced by Oxidative Stress

食品工业科技. 2020, 41(5): 280–285,292 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.05.046>

百合多糖的纯化及其对肠道菌群失调小鼠的调节作用

Purification of Lily Polysaccharide and Its Regulatory Effect on Intestinal Flora Dysregulation Mice

食品工业科技. 2020, 41(8): 295–300,306 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.08.047>

三叶青超微粉对酒精性肝损伤大鼠肠道菌群的调节作用

Effects of *Tetrastigma hemsleyanum* Superfine Powder on Intestinal Microflora in Rats with Alcohol-Induced Liver Injury

食品工业科技. 2023, 44(18): 415–424 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022090022>

结合态多酚改善肠道氧化应激与肠道屏障的研究进展

Research Progress of Bound Polyphenols in Improving Intestinal Oxidative Stress and Intestinal Barrier

食品工业科技. 2022, 43(11): 440–448 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021070114>

生姜多糖的提取及其对糖尿病小鼠肠道菌群的调节作用

Extraction of Polysaccharide from *Zingiber officinale* Roscoe and Its Regulatory Effect on Intestinal Flora in Diabetic Mice

食品工业科技. 2023, 44(4): 278–286 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022060155>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

于纯森,陈小倩,廖贤,等. 诺丽多糖对电离辐射损伤小鼠的防护作用及对肠道菌群的影响 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(17): 396–405. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023100018

YU Chunmiao, CHEN Xiaoqian, LIAO Xian, et al. Protective Effect of Noni Polysaccharide on Ionizing Radiation Injury Mice and Its Effect on Intestinal Microbiota[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(17): 396–405. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023100018

· 营养与保健 ·

诺丽多糖对电离辐射损伤小鼠的防护作用及对肠道菌群的影响

于纯森¹, 陈小倩¹, 廖 贤¹, 李艾欣¹, 陈 佳², 于苗苗^{3,*}

(1. 黑龙江中医药大学药学院, 黑龙江哈尔滨 150000;

2. 海南明通诺丽生物科技有限公司, 海南澄迈 571900;

3. 济川药业集团有限公司, 江苏泰兴 225400)

摘要: 目的: 探讨诺丽多糖对小鼠电离辐射损伤的防护和肠道菌群的调节作用。方法: 将 50 只 KM 雄性小鼠随机分为正常组、模型组、诺丽多糖低剂量组、中剂量组和高剂量组, 采用医用电子直线加速器进行全身一次性 X 射线辐照建立急性辐射损伤小鼠模型。观察辐射后小鼠的生存质量, 检测辐射后 72 h 小鼠血清和肝脏组织相关生化指标; 通过小鼠粪便的 16S rRNA 测序分析肠道菌群多样性。结果: 诺丽多糖能够改善辐射损伤小鼠的生存质量, 提高脏器指数、小鼠外周血白细胞 (WBC) 数、脾结节数、骨髓 DNA 含量, 降低骨髓嗜多染红细胞微核 (MN-PCE) 率, 提高血清及肝脏中的抗氧化酶过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 的活性, 降低丙二醛 (MDA) 含量。与 MC 组相比, 诺丽多糖高剂量组外周白细胞数和脾结节数分别增加了 46.85% 和 38.23%, 骨髓 DNA 含量提高了 51.95%, MN-PCE 降低率为 38.84%, 并对辐射后小鼠的氧化应激均有不同程度的改善。此外, 诺丽多糖能够促进辐射损伤小鼠肠道菌群向有益于宿主健康的方向生长, 同时促进益生菌的生长并抑制有害菌的定植, 恢复电离辐射引起的肠道菌群变化。结论: 诺丽多糖对 X 射线所致的电离辐射损伤小鼠具有明显的防护作用, 且对辐射造成的肠道菌群紊乱有一定的恢复作用。

关键词: 诺丽多糖, 电离辐射损伤, 氧化应激, 肠道菌群

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)17-0396-10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023100018

本文网刊: 

Protective Effect of Noni Polysaccharide on Ionizing Radiation Injury Mice and Its Effect on Intestinal Microbiota

YU Chunmiao¹, CHEN Xiaoqian¹, LIAO Xian¹, LI Aixin¹, CHEN Jia², YU Miaomiao^{3,*}

(1. School of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150000, China;

2. Hainan Mingtong Noni Biotechnology Co., Ltd., Chengmai 571900, China;

3. Jichuan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Taixing 225400, China)

Abstract: Objective: This study was to investigate the protective effect of Noni polysaccharides on ionizing radiation injury and its regulation of intestinal flora in mice. Methods: Fifty KM male mice were randomly divided into normal group, model group, noni polysaccharide low-dose group, noni polysaccharide medium-dose group and Noni polysaccharide high-dose group. The whole body of the mice was irradiated by the medical electron linear accelerator, thus establishing acute radiation-damaged mice model. Subsequently, survival quality of mice after irradiating was observed, and related biochemical indicators of serum and liver tissue of mice after irradiating for 72 h were detected. Furthermore, 16S rRNA sequencing of mouse feces was performed to analyze diversity of intestinal flora. Results: Noni polysaccharides could

收稿日期: 2023-10-09

基金项目: 黑龙江省博士后科研启动金项目 (LBH-Q19186)。

作者简介: 于纯森 (1978-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 中药保健食品研制与开发, E-mail: yuchunmiao@163.com。

* 通信作者: 于苗苗 (1999-), 女, 硕士, 研究方向: 中药保健食品研究, E-mail: 2897173521@qq.com。

improve survival quality of radiation-damaged mice, and increase organ index, peripheral blood leukocyte (WBC) number, spleen nodule number, bone marrow DNA content. Moreover, noni polysaccharides could reduce the rate of bone marrow polychromatic erythrocyte micronucleus (MN-PCE), and increase the activities of antioxidant enzymes catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) in serum and liver, and reduce malondialdehyde (MDA) content. Compared with the MC group, the increase rate of peripheral white blood cell count and number of splenic nodules was 46.85%, 38.23%, and the content of bone marrow DNA increased by 51.95%, the reduction rate of MN-PCE was 38.84% of Noni polysaccharide high-dose group. Meanwhile, the oxidative stress of mice after irradiating had improvement in different degree of Noni polysaccharide. Additionally, Noni polysaccharides could promote the growth of intestinal flora of radiation-damaged mice in a direction of beneficial to host health. Meanwhile, Noni polysaccharides could accelerate the growth of probiotics and inhibit the colonization of harmful bacteria, and recover the changes of intestinal flora caused by ionizing radiation. Conclusion: Noni polysaccharides exhibited obvious protective effect on ionizing radiation-damaged mice caused by X-ray, and showed certain restoring effect on intestinal flora disturbance caused by radiation.

Key words: Noni polysaccharides; ionizing radiation damage; oxidative stress; intestinal flora

随着科学技术的日益进步,电离辐射的应用已经遍布人类生产生活的各个角落,包括食品辐射灭菌、X射线医学诊断及肿瘤治疗等,电离辐射在为人们产生诸多利益的同时也对人类身体健康造成不良影响。电离辐射可使机体几乎所有器官、系统发生病理改变,可显著影响机体的造血系统、免疫系统、神经系统、生殖系统、内分泌系统等^[1-2]。目前,国内外关键的辐射防护包括化学类和天然产物类辐射防护剂^[3]。其中天然产物具备毒性小、副作用少并广泛存在等优点,被认为是最合理的辐射防护剂。因此,从天然产物中提取多糖、多酚、皂苷、生物碱等有效的活性成分,使其成为辐射防护剂是当前关注的重点。

近年来,肠道菌群逐渐成为功效因子研究领域热点,引起人们广泛关注。肠道微生态系统是人体最庞大的微生态系统。肠道菌群、宿主和外界环境三者之间相互影响共同维持着一种平衡态,宿主在肠炎、肥胖、痴呆和糖尿病等多种疾病状态下都表现出了对这种平衡的扰动,通过干预手段促进肠道菌群的再平衡逐渐成为疾病治疗的一种新策略。目前研究表明,电离辐射暴露扰乱肠道微生态平衡,使肠黏膜屏障受损,条件致病菌由此侵入体内,引起肠源性感染、内毒素血症等,严重者可导致死亡;益生菌补充、粪菌移植、活性化合物及抗电离辐射中药干预可调节肠道微生态平衡,缓解机体辐射损伤^[4]。

多糖作为天然产物的活性成分之一,在经过肠道时起到益生的作用,作为益生菌生长的碳源,并通过益生菌作用于多糖所产生的代谢产物来对肠道菌群进行调控^[5]。在抗辐射作用方面,现代药理研究表明,多糖具有明显的清除体内自由基、提高存活率、保护造血系统、增强机体免疫及降低畸变率的作用^[6]。諾麗,又称海巴戟(*Morinda Citrifolia L.*),茜草科巴戟天属,主要生长于南太平洋岛屿^[7],作为民间药物使用已有 2000 多年历史,常用于治疗糖尿病、高血压、癌症、眼部疾病和许多其他疾病^[8],现在我国海南岛、西沙岛、台湾岛引种种植。研究发现諾麗多糖作为諾麗中的重要组成成分,可缓解高脂饮食诱导的

大鼠的肝脏氧化应激、炎症和肠道菌群失调,其机制可能与调节短链脂肪酸(SCFA)、肠道屏障和肠道菌群有关^[9];还可通过提高绒山羊免疫信号分子水平和抗氧化酶活性,调节其免疫功能^[10],具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、免疫调节等多种生物活性^[11],是世界药用植物和保健类产品的新宠。但是大部分諾麗研究都是以諾麗果汁或諾麗提取物为研究对象,而对基础成分的药理活性研究较少。

本文通过对小鼠脏器指数、抗氧化指标、外周白细胞、脾结节、骨髓 DNA 含量及骨髓嗜多染红细胞微核率进行检测,并对小鼠粪便进行 16S rRNA 测序,研究諾麗多糖对辐射损伤小鼠的防护作用及肠道菌群的调节作用,为辐射损伤的预防和治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

健康雄性 SPF 级 KM 小鼠 体重(20±2) g, 6~8 周龄, 辽宁长生生物技术股份有限公司, 许可证号 SCXK(辽)-2020-0001; 諾麗果干 海南明通諾麗生物科技有限公司; 丙二醛(Malondialdehyde, MDA)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)、超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-Px)、总蛋白定量检测试剂盒 南京建成生物工程研究所; 生理盐水 吉林省都邦药业股份有限公司; 姬萨姆染色液 北京博奥拓达科技有限公司; 小牛血清 浙江天杭生物科技股份有限公司; 冰醋酸、高氯酸、甲醇 天津市富宇精细化工有限公司; 木瓜蛋白酶(酶活性 200000 U/g)、纤维素酶(酶活性 100000 U/g) 山东隆科特酶制剂有限公司; 柠檬酸、磷酸氢二钠 西陇科学股份有限公司。

血球计数板(74 mm×34 mm) 上海市求精生化试剂仪器有限公司; DM500 显微镜 Leica Microsystems 公司; ME203E 分析天平 梅特勒-托利多仪器有限公司; Spectra Max M2 多功能酶标仪 美国 Molecular Devices 公司; SP-752 紫外可见分光光度

计 上海光谱仪器有限公司; TGL-16G 型飞鸽牌高速台式离心机 上海安亭科学仪器厂; SHB-III 循环水式多用真空泵 郑州长城科工贸易有限公司; 电热鼓风干燥箱 DHG-9245A 上海一恒科学仪器有限公司; 低速离心机 SC-3610 安徽中科中佳科学仪器; XL-16B 粉碎机 广州市旭朗机械设备有限公司; XMTD-204 数显式电热恒温水浴锅 上海跃进医疗器械有限公司; PB-10 pH 计 赛多利斯科学仪器有限公司; DNA 纯化回收试剂盒 TianGen。

1.2 实验方法

1.2.1 诺丽多糖的提取 诺丽多糖的提取按照实验室前期响应面优化的最优提取方法。诺丽果干 50 °C 烘箱烘干至恒重, 利用粉碎机磨成粉, 过 100 目筛, 得到诺丽果粉, 取适量诺丽果粉, 加入 6% 复合酶(纤维素酶:木瓜蛋白酶 1:1)按照 1:40 料液比加入 pH5.5 的柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液, 62 °C 热水浴加热条件下酶解 1.9 h, 酶解反应结束后, 100 °C 沸水浴灭酶 10 min, 真空抽滤后得滤液。滤液减压浓缩至原体积 1/4, 随后在浓缩液中加入 4 倍体积无水乙醇, 剧烈搅拌, 4 °C 静置 24 h。3500 r/min 离心 15 min, 弃上清, 沉淀于 60 °C 干燥至恒重, 得到诺丽果多糖。经苯酚硫酸法测定其诺丽多糖总糖含量为 52.0%±0.6%, 凝胶渗透色谱法测得诺丽多糖分子量为 134 kDa。此外, 通过福林酚比色法和考马斯亮蓝法测得自制诺丽多糖中含有 0.92% 的多酚类物质和 2.7% 蛋白质^[12-13]。

1.2.2 动物分组与造模 所有方案均经黑龙江中医药大学动物伦理委员会批准。动物在 SPF 级条件下饲养, 饲养条件为温度(21±2) °C, 湿度 60%±10%, 12/12 h 明暗交替, 自由饮水进食, 适应性喂养 1 周后开始实验。50 只小鼠随机分为 5 组(n=10), 分为正常对照组、辐射模型组和诺丽多糖低、中、高剂量组。正常对照组和辐射模型组给予生理盐水, 诺丽多糖保护组给予不同浓度的诺丽多糖(0.46、0.92 和 1.84 g/kg), 灌胃给药, 每天一次, 连续 30 d 后, 各组小鼠体重、进食情况、活动情况无明显差距。第 31 d 除正常对照组外, 其余组均采用医用电子直线加速器 X-Ray 进行一次性全身辐照, 辐照剂量为 5 Gy, 剂量率 2.0 Gy/min, 源皮距 100 cm, 建立急性辐射损伤小鼠模型。照射后 72 h 后采集血液、粪便、骨髓、脾脏、胸腺和肝脏组织进行下一步实验。

1.2.3 小鼠情况观察及体重测定 观察辐照后 3 d, 每组小鼠的生存状态并计算相应的存活率。存活率(%)=照射后各组小鼠存活数/各组小鼠总数×100。实验各组小鼠于辐照前每隔 3 d 称重, 辐照后每天称重, 观察辐照前后小鼠的体重变化情况。

1.2.4 小鼠脏器指数及抗氧化指标测定 脏器指数计算如下: 脏器指数(%)=脏器质量(g)/动物质量(g)×100。参照试剂盒中的说明, 分别对肝脏和血清中的 SOD、MDA、CAT 和 GSH-Px 进行测定。

1.2.5 小鼠外周血白细胞数的测定 取眼球血 20 μL, 加入到盛有 380 μL 的血细胞稀释液(2% 冰醋酸)中, 混匀, 静置 2~3 min, 待细胞悬液变为棕褐色, 吸取上清液, 血细胞计数板涂片, 室温静置 2~3 min, 待白细胞完全下沉, 显微镜下计数白细胞(white blood cell, WBC)数目。

$$\text{白细胞数}(\times 10^9 \text{个/L}) = 4 \text{个大方格白细胞} \\ \text{总数}/4 \times 10^7 \times \text{稀释倍数} \quad \text{式 (1)}$$

1.2.6 脾结节数的测定 采用内源性脾结节数, 取出脾脏称重后, 即刻固定于 Bouin's 固定液中 12 h, 用放大镜计数每只脾脏表面的结节数。

1.2.7 骨髓 DNA 含量的测定 实验各组小鼠于辐照后 3 d 取股骨, 剥离肌肉组织后剪断第二股骨, 将骨髓用 10 mL 的 CaCl₂(0.005 mol/L)溶液重复冲洗多次至离心管中, 4 °C 静置 30 min 后 2500 r/min 离心 15 min, 取沉淀加入 5 mL 的 HClO₄(0.2 mol/L)酸化, 混匀后置于 90 °C 水浴 15 min, 流水冷却后滤纸过滤, 滤液于紫外分光光度计 260 nm 波长下测定吸光度值, 计算骨髓细胞 DNA 含量, OD₂₆₀ 值为 1 相当于 50 μg/mL DNA^[14]。

$$\text{骨髓细胞DNA含量}(\mu\text{g/mL}) = \text{稀释倍数} \times \\ 50(\mu\text{g/mL}) \times \text{OD}_{260} \quad \text{式 (2)}$$

1.2.8 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核(MN-PCE)率的测定 小鼠照射后 72 h, 取血后处死, 取右侧股骨, 剥离肌肉组织后剪断第二股骨, 用纱布擦干外周血, 将小鼠股骨放置在止血钳上, 用止血钳将股骨骨髓从两侧挤出并滴落在预先滴有一滴小牛血清的清洁载玻片上, 混匀, 推片, 室温干燥。将完全晾干的骨髓玻片放入盛有甲醇溶液的固定缸中, 固定 10 min 后, 取出室温晾干。用 pH6.5~6.8 磷酸盐缓冲液与 Giemsa 染液按照 9:1 的比例混匀后对骨髓玻片染色, 10~15 min 后, 流水冲洗染色液, 室温晾干。在显微镜下, 观察 2000 个嗜多染红细胞, 计数微核数, 计算骨髓嗜多染红细胞微核(Polychromatic erythrocyte micronuclei, MN-PCE)率。

$$\text{骨髓嗜多染红细胞微核率}(\%) = (\text{微核数}/ \\ \text{嗜多染红细胞数}) \times 100 \quad \text{式 (3)}$$

1.2.9 小鼠血清和肝脏抗氧化指标测定 参照试剂盒中的说明, 分别对肝脏和血清中的 SOD、MDA、CAT 和 GSH-Px 进行测定。

1.2.10 肠道菌群 DNA 的提取、PCR 检测和测序 小鼠盲肠内容物送至诺和致源, 采用十六烷基三甲基溴化铵(Cetyltrimethylammonium Bromide, CTAB)方法对样品的基因组 DNA 进行提取, 使用 16S rRNA V3-V4 高变区特异性引物 F: CCTAYGGGRB GCASCAG; R: GGACTACNNGGTATCTAAT 扩增了 30 只小鼠盲肠肠道微生物组的基因组 DNA, 每组 6 只。所有 PCR 混合液加入 15 μL Phusion®

High-Fidelity PCR Master Mix (NewEngland Biolabs)、0.2 $\mu\text{mol/L}$ 引物和 10 ng 基因组 DNA 模板, 在 98 °C 下进行 1 min 的第一次变性, 然后在 98 °C (10 s)、50 °C (30 s) 和 72 °C (30 s) 下进行 30 次循环, 最后在 72 °C 下保持 5 min。PCR 产物使用 2% 浓度的琼脂糖凝胶进行电泳检测; 对检测合格的 PCR 产物进行磁珠纯化, 采用酶标定量, 根据 PCR 产物浓度进行等量混样, 充分混匀后使用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物, 对目的条带使用通用型 DNA 纯化回收试剂盒回收产物, 最后使用 Illumina Mi Seq 测序仪进行标准化和测序。

1.3 数据处理

相关指标采用 SPSS 26.0 软件对数据进行统计分析处理, 计量资料用均数±标准差 (mean±SD) 描述, 使用 Origin 2021 进行作图多组之间差异比较采用单因素方差分析, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 小鼠情况观察及体重变化

除空白组外, 其余各组实验小鼠经 5 Gy X 射线辐照后均出现摄食量降低、皮毛光泽减退、行动迟缓且精神萎靡, 以模型组最为明显, 其小鼠出现水样便, 诺丽多糖防护组稍有便稀, 状态明显优于模型组, 空白组无异常变化。

对 X 射线辐射前后小鼠的体重进行监测, 结果

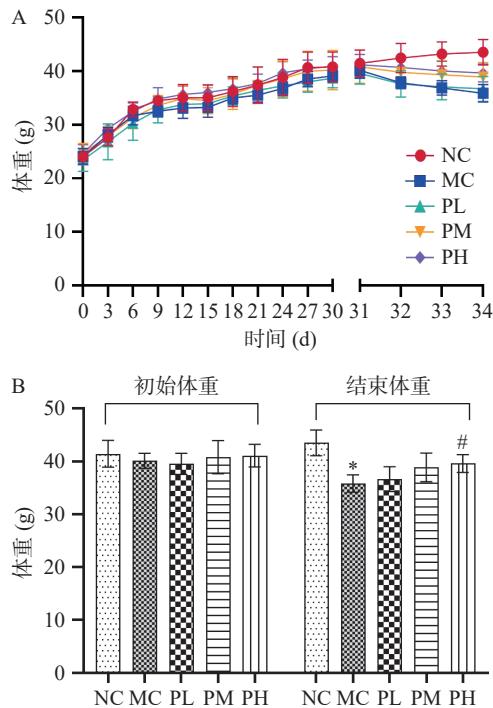


图 1 各组小鼠的体重变化(A)及辐射前后比较(B)

Fig.1 Body weight changes (A) and comparison before and after radiation (B) of mice in each group

注: NC: 正常对照组; MC: 辐射模型组; PL: 诺丽多糖低剂量组; PM: 诺丽多糖中剂量组; PH: 诺丽多糖高剂量组; 与空白组相比, *显著性水平为 $P<0.05$, **显著性水平为 $P<0.01$; 与模型组相比: #显著性水平为 $P<0.05$; ##显著性水平为 $P<0.01$; 图 2~图 6、图 8、图 10 同。

如图 1A 所示。各组小鼠在辐射前, 正常进食, 体重平稳增长, 无明显异常反应。比较辐射前以及辐射后三天各组小鼠体重, 结果显示在电离辐射前, 各组小鼠无显著性差异 ($P>0.05$)。电离辐射后三天, 同 MC 组相比, PH 组小鼠体重出现显著差异 ($P<0.05$), 体重得到明显恢复。

2.2 诺丽多糖对辐射损伤小鼠胸腺、脾脏指数的影响

各组小鼠脏器指数如图 2 所示, 与 NC 组相比, MC 组小鼠胸腺和脾脏指数显著降低 ($P<0.01$)。与 MC 组相比, 诺丽多糖给药组各组小鼠胸腺和脾脏指数均有升高, 且与剂量呈正相关。PH 组小鼠胸腺指数显著高于模型组 ($P<0.01$), 升高了 53.48%。PM 和 PH 组小鼠的脾脏指数显著高于 MC 组, 分别升高了 46.27% 和 59.96% ($P<0.05$ 和 $P<0.01$); PL 组小鼠的胸腺、脾脏指数与 MC 组相比有升高的趋势, 但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。脾脏和胸腺是参与免疫调节的重要器官, 它们参与免疫细胞的成熟和分化, 是免疫防御的重要场所。免疫器官指数能从侧面反映机体的免疫功能^[15], 其具有较高的辐射敏感性, 在机体受到 X 射线照射以后, 脾脏和胸腺系数均有所下降^[16-17]。本实验结果表明, 小鼠受 X 射线照射后, MC 组胸腺指数和脾脏指数降低, 表明电离辐射导致了胸腺和脾脏组织萎缩。诺丽多糖防护组能够减轻 X 射线对小鼠胸腺、脾脏指数的降低程度, 且随着诺丽多糖浓度的增加胸腺、脾脏指数升高的程度越明显。表明诺丽多糖可以减轻小鼠免疫器官的辐射损伤。

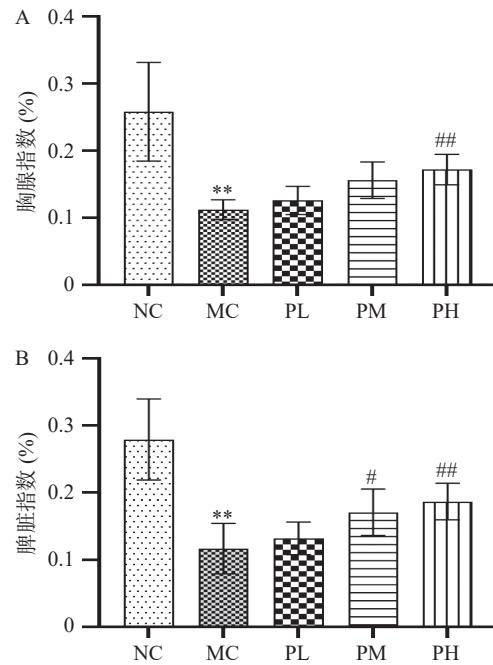


图 2 胸腺指数(A)和脾脏指数(B)

Fig.2 Thymus index (A) and spleen index (B)

2.3 诺丽多糖对辐射损伤小鼠外周血白细胞和脾结节数量的影响

外周血中白细胞数量是评价放射损伤程度及骨

髓的造血功能的重要标志之一^[18]。脾结节是照射后骨髓中部分残留的、少量的具有增殖分裂能力的造血干细胞迁移到脾脏中增殖、分化,最后生成一定数量和大小不等的脾集落。脾脏是小鼠重要的造血器官,可以通过脾结节的数量来评价化合物对造血干细胞的辐射防护效果^[19]。

不同浓度诺丽多糖对X射线照射小鼠WBC数的影响如图3A所示,与MC组比较,PL组、PM组及PH组WBC数均有升高的趋势,分别升高了4.95%、34.68%和46.85%,且PM和PH组有统计学差异($P<0.05$ 和 $P<0.01$)。本实验结果表明,MC组WBC数量降低,电离辐射抑制了骨髓的造血功能。诺丽多糖防护组能够提高经X射线辐射后小鼠WBC数量,促进X射线损伤小鼠造血系统的恢复。诺丽多糖对辐射损伤后各组小鼠脾结节数量的影响如图3B所示。PM、PH组脾结节数量显著高于MC组,并随着剂量的升高而增加,特别是PH组增加了38.24%($P<0.01$)。结果表明不同浓度的诺丽多糖可不同程度地提高照射后小鼠脾结节的数量,诺丽多糖对于造血干细胞具有较好的保护作用。

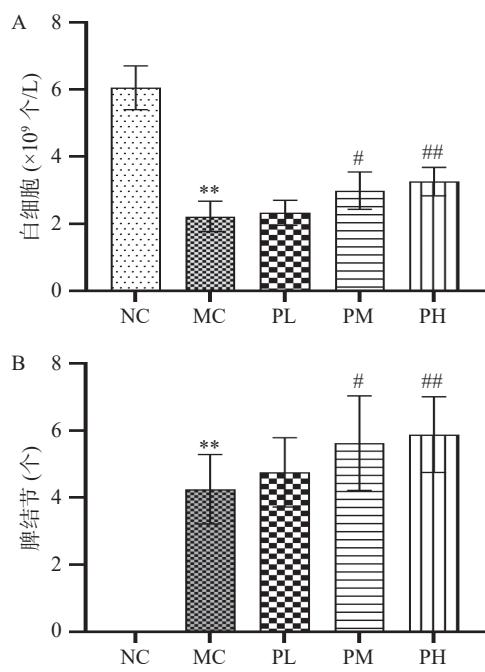


图3 诺丽多糖对辐射损伤小鼠外周血白细胞和脾结节数量的影响

Fig.3 Effect of Noni polysaccharide on the number of peripheral blood leukocytes and spleen nodules in radiation-damaged mice

2.4 诺丽多糖对辐射损伤小鼠骨髓DNA含量和MN-PCE率的影响

骨髓DNA含量可以用来评估骨髓细胞的损伤和修复程度。电离辐射能够引发DNA单双链断裂,细胞中DNA降解,含量降低^[20]。MN-PCE率的高低可以明显反映出骨髓DNA的损伤程度,MN-PCE的出现反映了染色体的损伤,从而导致遗传疾病的发

生。因此,可以通过检测微核来反映电离辐射诱发的染色体损伤的程度^[21]。

诺丽多糖对辐射损伤小鼠骨髓DNA含量的影响如图4A所示,电离辐射使MC组骨髓DNA含量显著低于NC组($P<0.01$),而浓度不同的诺丽多糖可不同程度地提高骨髓DNA含量,特别是PH组小鼠的DNA含量显著高于MC组小鼠,提升率为51.95%($P<0.05$)。DNA含量的结果表明,诺丽多糖对电离辐射诱导的DNA损伤具有防护作用。诺丽多糖对实验小鼠MN-PCE率的影响结果如图4B所示。与MC组比较,诺丽多糖各组MN-PCE率均有所下降,下降率分别为19.29%、33.99%和38.84%,其中PM组、PH组对MN-PCE率的改善效果显著($P<0.01$)。本实验结果表明,小鼠接受X射线照射以后,MC组MN-PCE率升高,说明电离辐射引起了骨髓染色体的损伤,诺丽多糖防护组能够降低MN-PCE的发生,对X射线所致小鼠DNA损伤有一定的防护作用。

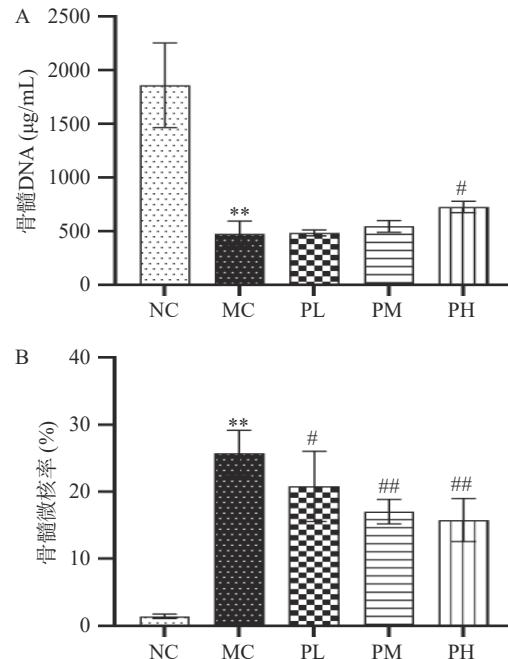


图4 诺丽多糖对辐射损伤小鼠骨髓DNA含量和MN-PCE率的影响

Fig.4 Effects of Noni polysaccharide on DNA content in bone marrow and micronucleus rate of polychromatic erythrocytes in radiation-damaged mice

2.5 诺丽多糖对辐射损伤小鼠血清和肝脏中MDA含量及SOD、CAT和GSH-Px活性的影响

如图5所示,血清中MDA含量随诺丽多糖浓度的增加呈下降趋势,与MC组相比,下降率分别为6.79%、38.46%和57.92%。PM组和PH组MDA含量显著低于MC组($P<0.01$),但PL组与MC组相比无显著差异($P>0.05$)。与NC组比较,辐射损伤后MC组小鼠血清中SOD活性、CAT活性和GSH-Px活性极显著下降($P<0.01$)。与MC组相比,PH组能够显著提高SOD活性,提高了10.55%($P<0.05$);

PM 组、PH 组能够极显著提高 GSH-Px 活性, 分别提高了 61.62% 和 73.18% ($P<0.01$); 诺丽多糖防护组均能极显著提高 CAT 活力 ($P<0.01$)。与 NC 组比较, 辐射损伤导致 MC 组小鼠肝组织中 MDA 含量上升, SOD、CAT 和 GSH-Px 活力下降。与 MC 组相比, 诺丽多糖 PM 和 PH 组能够极显著降低 MDA 含量 ($P<0.01$), 降低率分别为 53.72% 和 63.49%; PH 组显著提高了 CAT 和 GSH-Px 活力, 提高率为 24.09% 和 57.56% ($P<0.05$ 和 $P<0.01$), PL、PM 组

CAT 活力均有提升, 但无统计学意义 ($P>0.05$), 其 GSH-Px 活力提升率分别为 44.40% 和 47.16% ($P<0.05$); SOD 随多糖浓度增加有上升的趋势, 但无统计学意义 ($P<0.05$)。

氧是生命机体能量的来源之一, 经过机体代谢会产生一些含氧的代谢产物及衍生物, 这些物质统称为氧自由基(ROS)。正常情况下 ROS 不会对机体造成损伤, 因为机体内含有 CAT、SOD、GSH-Px 等抗氧化酶可以清除 ROS, 抑制氧化作用。但当电离辐射作用于机体时, 会诱发机体产生大量的 ROS, 自由基作为生物信号分子, 诱导相关基因表达, 并产生脂质过氧化和生化级联反应, 最终造成细胞结构的改变和细胞功能的缺失^[22–24]。自由基的平衡对生物体保持正常的生理功能至关重要, 机体内 SOD、GSH-Px、CAT 等内源性酶相互作用, 通过催化过氧化氢和脂质过氧化物还原清除体内过剩的自由基, 使组织细胞免受自由基的损害。MDA 是生物体内自由基作用于脂质发生过氧化反应的终产物, 因此 MDA 含量可反映机体脂质过氧化的程度, 间接反映机体细胞损伤的程度。本实验的结果表明, 诺丽多糖可以提高小鼠的抗氧化酶活性, 降低 MDA 含量, 对抗氧化系统有保护作用。

2.6 诺丽多糖对辐射损伤小鼠肠道菌群多样性的影响

为了能较为全面地评估微生物群落的多样性, 本研究以 Chao1 指数表征丰富度, 以 Simpson、Shannon 指数来评估多样性, 探究诺丽多糖对辐射损伤小鼠肠道菌群物种多样性的影响。结果如图 6 所示, 发现 MC 组肠道菌群的 Chao1、Shannon 和 Simpson 指数均下降, 诺丽多糖可以增加小鼠肠道菌群的 Chao1、Shannon 和 Simpson 指数。这提示诺丽多糖有利于改善电离辐射损伤小鼠肠道菌群的相

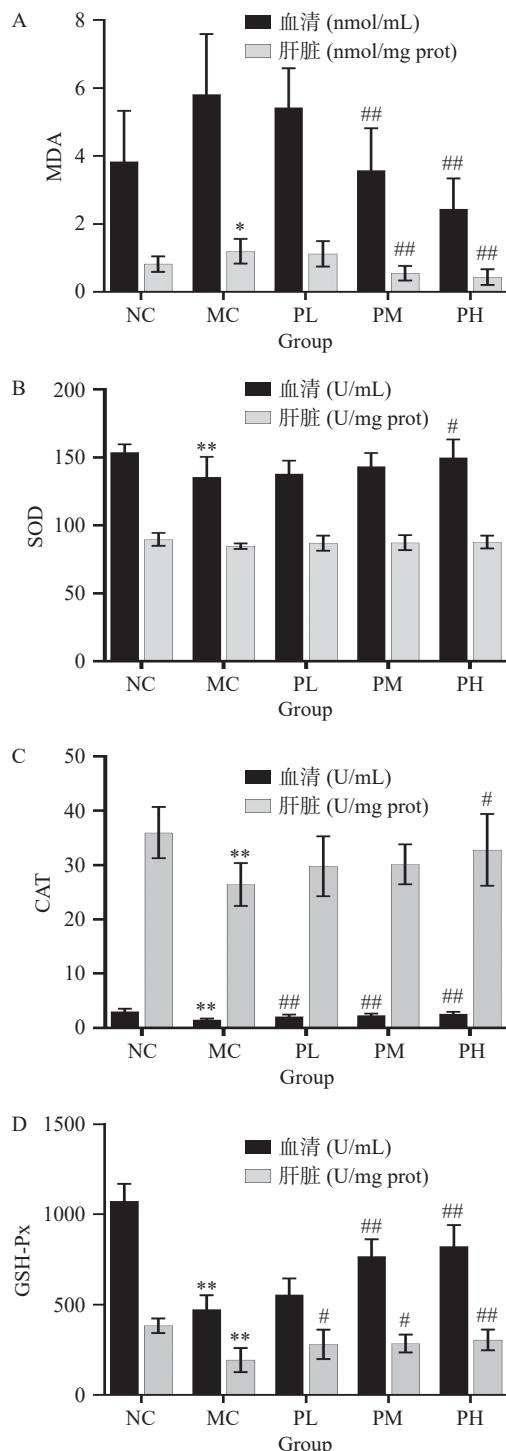
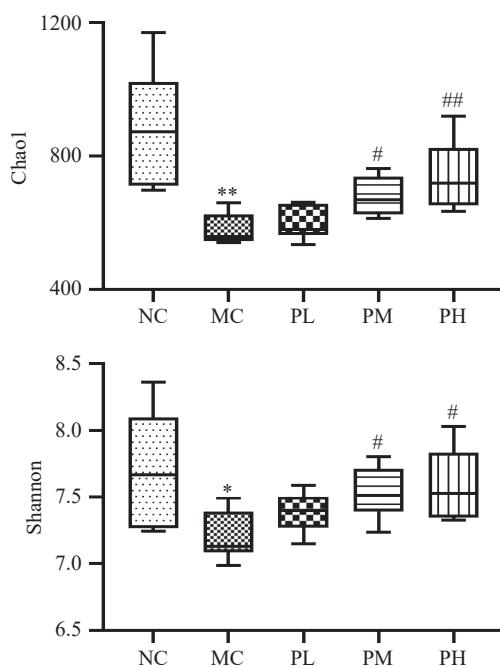


图 5 诺丽多糖对辐射损伤小鼠体内氧化应激指标的影响

Fig.5 Effects of Noni polysaccharide on oxidative stress indexes in radiation-damaged mice



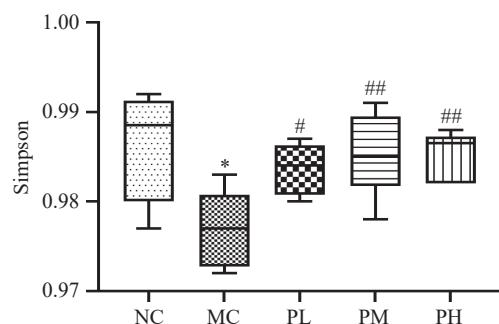


图 6 小鼠肠道菌群物种丰富度和多样性

Fig.6 Bacterial richness and diversity of gut microbiota in mice

对多样性和丰富度。

2.7 肠道菌群分类结构变化

2.7.1 门水平相对丰度 基于测序分类注释结果, 图 7 为在门分类水平上相对丰度前 10 的物种, 分析了各组小鼠肠道菌群在门水平上的变化, 绘制物种堆积图(图 7)和含量变化图(图 8)。在门水平上, 厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidota)、放线菌

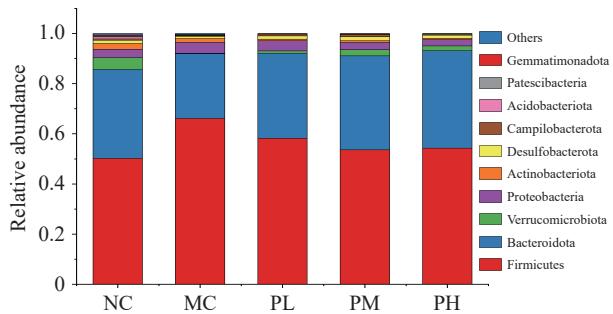


图 7 小鼠肠道菌群在门水平的相对丰度

Fig.7 Relative abundance of gut microbiota in the phylum levels

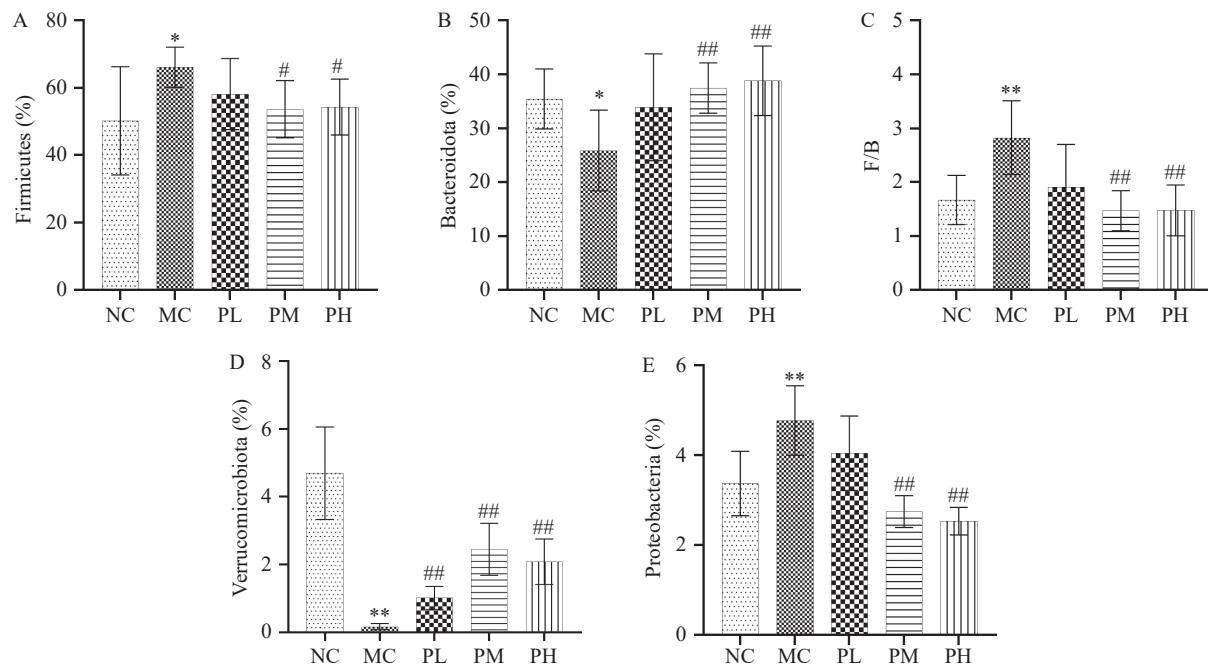


图 8 门水平肠道菌群含量变化

Fig.8 Changes in the content of intestinal flora at the phylum level

门(Actinobactrota)、疣微菌门(Verrucomicrobiota)和变形菌门(Proteobacteria)为主的优势菌群, 它们所占的比例约为总菌群的 90%。脱硫菌门(Desulfobacterota)、弯曲杆菌门(Campylobacterota)酸杆菌门(Acidobacteriota)、髌骨细菌门(Patescibacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadota)占剩余的 10% 左右。图 7 所示, Firmicutes 所占比例可达到总细菌比例的 50% 以上。

厚壁菌门(Firmicutes)是一类最大的细菌群, 其中大多数可归类为革兰氏阳性菌, 包括乳酸杆菌、瘤胃球菌、链球菌、梭菌等。拟杆菌门(Bacteroidota)与生物体内结肠的碳水化合物的发酵、含氮物质的充分利用、胆汁酸的生物转化等许多代谢活动有关, 并在其中起着重要作用, 可以防止细菌的定殖和传染, 从而对宿主的健康起到必要的保护作用, 同时拟杆菌门(Bacteroidota)参与蛋白质分解时的毒性物质的释放, 对炎症起到促进或抑制作用。厚壁菌门(Firmicutes)与拟杆菌门(Bacteroidota)两者比值 F/B(Firmicutes/Bacteroidota, F/B)与肠道微生物群组成有重要关系, 能反映肠道菌群失调情况, 是鉴定肠道菌群紊乱的重要参数, 二者的比值也与胃肠道疾病密切相关^[25]。与 NC 组相比, MC 组肠道菌群稳态被破坏, 具体表现在厚壁菌门和拟杆菌门的相对丰度比值 F/B 显著增大, 诺丽多糖给药后, F/B 逐渐恢复。表明诺丽多糖促进肠道菌群向有益于宿主健康的方向生长, 变化具有显著差异。疣微菌门(Verrucomicrobiota)是肠道内主要的定植菌, 其中阿克曼菌属(Akkermansia)占疣微菌门的 83%^[26]。实验结果表明, 电离辐射显著降低了疣微菌门的水平, 而诺丽多糖给药后扭转了这一现象, 变化具有显著差异。

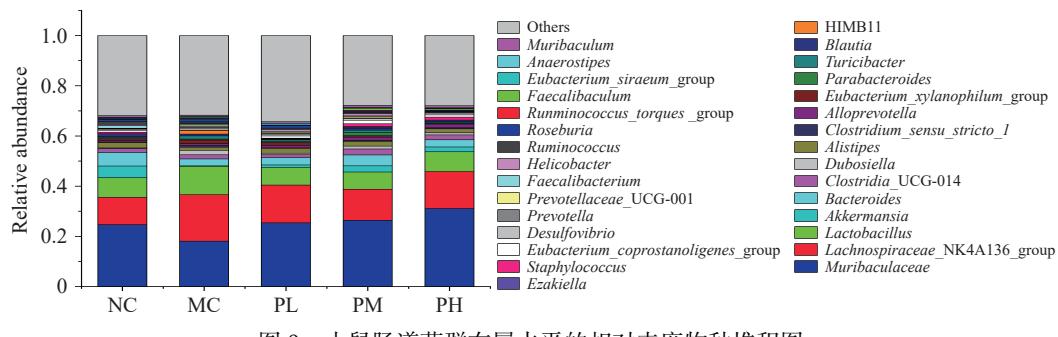


图 9 小鼠肠道菌群在属水平的相对丰度物种堆积图

Fig.9 Species stacking diagram of the relative abundance of the mouse gut microbiota at the genus level

与 NC 组相比, MC 组的变形菌门(Proteobacteria)相对丰度升高。变形菌门(Proteobacteria)属革兰氏阴性菌, 其细胞壁外壁的组成成分脂多糖可促进肠源性内毒素血症、加重肠道炎症反应^[27]。变形菌门(Proteobacteria)包含致病性大肠杆菌、沙门氏菌、幽门螺旋杆菌等多种类扰乱免疫反应的病原菌, 病原菌数量的持续增加会引起肠道菌群失衡, 对机体健康产生影响。变形菌门是肠道菌群营养不良的微生物特征, 本研究发现电离辐射导致变形菌门水平显著增加, 而诺丽多糖可以明显缓解这种变化, 说明诺丽多糖可以促进肠道菌群营养吸收过程, 维持肠道菌群平衡。上述结果表明诺丽多糖促进益生菌的生长并抑制有害菌的定植, 从而对辐射损伤小鼠发挥保护作用。

2.7.2 属水平相对丰度 进一步对各组小鼠肠道菌群进行属水平上的分析, 基于数据库, 通过 ASV 序列比对分析各组小鼠肠道菌群属水平组成, 绘制物种堆积图(图 9)和含量变化图(图 10)。所有小鼠的肠道菌群相对丰度最高的 10 个属为: 内拟杆菌属(*Muribaculaceae*)、毛螺菌属(*Lachnospiraceae_NK4A136_group*)、乳酸菌属(*Lactobacillus*)、阿克曼氏菌属(*Akkermansia*)、拟杆菌属(*Bacteroides*)、梭菌属(*Clostridia_UCG_014*)、杜氏杆菌属(*Dubosella*)、另枝菌属(*Alistipes*)、梭菌属(*Clostridium_sensu_stricto_1*)、拟普雷沃菌(*Alloprevotella*)。

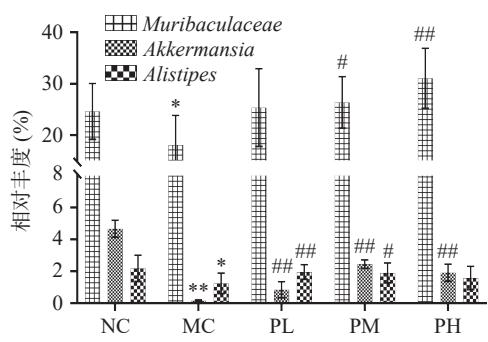


图 10 属水平肠道菌群含量变化

Fig.10 Changes in the content of intestinal flora at the genus level

如图 9 所示, 模型组出现大量的乳酸菌属(*Lactobacillus*), 而内拟杆菌属(*Muribaculaceae*)、

阿克曼氏菌属(*Akkermansia*)的丰度明显降低。与 MC 组相比, 诺丽多糖给药组乳酸菌属(*Lactobacillus*)的丰度恢复到正常水平, 内拟杆菌属(*Muribaculaceae*)、阿克曼氏菌属(*Akkermansia*)的丰度明显增加。内拟杆菌属(*Muribaculaceae*)丰度与结肠内黏液层的形成和屏障功能有关, 与免疫应答呈正相关^[28-29]。阿克曼氏菌属(*Akkermansia*)在 NC 组以及诺丽多糖防护组组小鼠中含量丰富, 在 MC 组最少。阿克曼氏菌属(*Akkermansia*)是富集于肠道黏液层疣微菌门(*Verrucomicrobia*)的代表菌属, 在小鼠模型中与结肠炎疾病活动呈负相关关系^[30], 对维持肠道粘液层的稳态至关重要, 被称为下一代有益微生物, 可以直接或间接参与代谢和免疫反应^[31], 减少肥胖、糖尿病、心脏疾病和轻度炎症的发展。此外研究中还发现阿克曼氏菌属(*Akkermansia*)能够抑制促炎途径, 改善代谢, 延缓衰老, 延长早衰综合征小鼠的寿命^[32-33]。另枝菌属(*Alistipes*)发现的时间较晚, 根据相关研究的结论, 另枝菌属(*Alistipes*)的存在与促进健康表型相关, 另枝菌属(*Alistipes*)的丰度与炎症相关基因的表达水平显著相关, 在结肠炎、自闭症谱系障碍以及各种肝脏和心血管纤维化等疾病中有一定的保护作用^[34-36]。相对于 MC 组, 诺丽多糖防护组另枝菌属(*Alistipes*)丰度有所升高。总的来说, 诺丽多糖改善了内拟杆菌属(*Muribaculaceae*)、阿克曼氏菌属(*Akkermansia*)、另枝菌属(*Alistipes*)的相对丰度, 促进益生菌的生长并有效地恢复电离辐射引起的肠道菌群变化, 对辐射损伤小鼠肠道菌群属水平的平衡具有一定的调节作用。

3 结论

诺丽多糖能够改善辐射损伤小鼠的生存质量, 提高胸腺和脾脏指数、外周血白细胞数、脾结节数、骨髓 DNA 含量, 降低骨髓嗜多染红细胞微核数, 提高血清及肝脏中的抗氧化酶 SOD、CAT、GSH-Px 的活性, 降低 MDA 含量。研究结果显示实验小鼠 MDA 水平与 F/B 比值、变形菌门数量成正比, 与内拟杆菌属、阿克曼氏菌属、另枝菌属菌群数量呈反比; SOD、CAT 和 GSG-Px 活性与内拟杆菌属、阿克曼氏菌属、另枝菌属菌群数量呈正比, 与 F/B 比值、变形菌门数量成反比。由此推测诺丽多糖对辐射损

伤小鼠的防护机制可能为:通过调节辐射诱导的机体氧化还原状态变化从而影响肠道菌群结构组成,促进肠道菌群向有益于宿主健康的方向生长,同时促进益生菌的生长并抑制有害菌的定植恢复电离辐射引起的肠道菌群变化,维持肠道健康。研究表明了诺丽多糖对X射线辐射损伤小鼠的防护作用,为辐射损伤的防护与治疗提供思路,为辐射防护剂的进一步开发及其临床研究与应用提供参考。

© The Author(s) 2024. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] LI X Y, YANG J X, QIAO Y J, et al. Effects of radiation on drug metabolism: A review[J]. *Curr Drug Metab*, 2019, 20(5): 350–360.
- [2] KIM J Y, PARK J H, SEO S M, et al. Radioprotective effect of newly synthesized toll-like receptor 5 agonist, KMRC011, in mice exposed to total-body irradiation[J]. *J Radiat Res*, 2019, 60(4): 432–441.
- [3] 刘红艳, 刘建功, 党旭红, 等. 辐射防护剂和治疗剂的研究进展[J]. 核化学与放射化学, 2016, 38(6): 321–326. [LIU H Y, LIU J G, DANG X H, et al. Research progress of radiation protection agents and therapeutics[J]. Nuclear Chemistry and Radiochemistry, 2016, 38(6): 321–326.]
- [4] 郑颖, 殷祥昶, 赵阳, 等. 电离辐射对肠道菌群的影响及基于菌群调节的辐射防护研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2020, 34(7): 549–558. [ZHENG Y, YIN X C, ZHAO Y, et al. Effect of ionizing radiation on intestinal flora and research progress on radiation protection based on microbiota regulation[J]. Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology, 2020, 34(7): 549–558.]
- [5] 唐圆, 谢果珍. 多糖与肠道菌群的相互作用研究进展[J]. 现代农业科技, 2020, 49(9): 225–227. [TANG Y, XIE G Z. Research progress on the interaction of polysaccharides and intestinal microbiota[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2020, 49(9): 225–227.]
- [6] 于纯森, 于栋华, 国立东, 等. 食用菌多糖抗辐射损伤作用研究进展[J]. 食用菌, 2015, 37(3): 1–5. [[YU C M, YU D H, GUO L D, et al. Research progress on anti-radiation injury effect of edible mycological polysaccharides[J]. Edible Fungi, 2015, 37(3): 1–5.]
- [7] 彭勇, 肖伟, 刘勇, 等. 世界药用植物新宠——海巴戟果[J]. 国外医药(植物药分册), 2007(3): 93–96. [PENG Y, XIAO W, LIU Y, et al. A new favorite of the world's medicinal plants: *Euphorbia haiba*[J]. Foreign Medicine (Phytomedicine), 2007(3): 93–96.]
- [8] 晏永球, 童应鹏, 陆雨, 等. 诺丽的化学成分及药理活性研究进展[J]. 中草药, 2017, 48(9): 1888–1905. [YAN Y Q, TONG Y P, LU Y, et al. Research progress on chemical constituents of *Morinda citrifolia* and their pharmacological activities[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2017, 48(9): 1888–1905.]
- [9] 曲泰齐, 张家超, 汪瑞敏, 等. 诺丽发酵汁介导肠道菌群缓解小鼠DSS结肠炎[J]. 中国食品学报, 2022, 22(8): 118–126. [QU T Q, ZHANG J C, WANG R M, et al. Fermented Noni juice alleviates DSS colitis in mice by mediating intestinal microbiota[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2022, 22(8): 118–126.]
- [10] 张睿, 郑松蕊, 余淑惠, 等. 诺丽对氢化可的松致肾阳虚模型小鼠改善记忆的作用机制研究[J]. 中医药学报, 2022, 50(3): 17–22. [ZHANG R, DI S R, YU S H, et al. Mechanism of Noni in improving memory of model mice with Kidney-Yang deficiency[J]. Acta Chinese Medicine and Pharmacology, 2022, 50(3): 17–22.]
- [11] 左丽敏. 诺丽多糖的提取纯化和抗氧化及抗肿瘤的活性研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2020. [ZUO L M. Study on extraction and purification of polysaccharide with antioxidant and antitumor activity from *Morinda citrifolia*[D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2020.]
- [12] 许世浩, 刘宏炳, 何晨露, 等. 酒糟总氨基酸、总多酚、多糖含量测定及抗氧化活性研究[J]. 化学试剂, 2022, 44(1): 32–38. [XU S H, LIU H B, HE C L, et al. Determination of total amino acids, total polyphenols, polysaccharides and antioxidant activity of distiller's grains[J]. Chemical Reagents, 2022, 44(1): 32–38.]
- [13] 杨锐, 许凯, 张靖, 等. 考马斯亮蓝法检测 γ -环糊精中酶残留[J]. 中国新药杂志, 2022, 31(13): 1322–1325. [YANG Y, XU K, ZHANG J, et al. Coomassie brilliant blue method for the detection of enzyme residues in γ -cyclodextrin[J]. China New Drug Journal, 2022, 31(13): 1322–1325.]
- [14] 肖畅, 赵岩, 肖明松. 乌鳢不同组织DNA提取研究[J]. 现代农业科技, 2018(1): 223–224. [XIAO C, ZHAO Y, XIAO M S, et al. DNA extraction from different tissues of snakehead[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2018(1): 223–224.]
- [15] TANG J, CHEN Z. The protective effect of γ -aminobutyric acid on the development of immune function in chickens under heat stress[J]. Anim Physiol AnimN, 2015, 103(5): 99–102.
- [16] 曹金一, 楚建杰, 曹军, 等. 参力胶囊对辐射损伤小鼠的药效作用研究[J]. 药学服务与研究, 2013, 13(2): 150–152. [CAO J Y, CHU J J, CAO J, et al. Pharmacodynamic effect of Sanli capsule on radiation-damaged mice[J]. Pharmaceutical Service and Research, 2013, 13(2): 150–152.]
- [17] 金华, 王德文, 彭瑞云, 等. 电磁脉冲辐射后小鼠免疫器官损伤的病理研究[J]. 军事医学科学院院刊, 2004, 28(6): 537–540. [JIN H, WANG D W, PENG R Y, et al. Pathological study on immune organ damage in mice after electromagnetic pulse radiation[J]. Bulletin of Academy of Military Medical Sciences, 2004, 28(6): 537–540.]
- [18] 王安, 王艳, 石中玉, 等. 益气解毒中药复方对2 Gy⁶⁰Co γ 射线致小鼠急性辐射损伤的防护效应研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2020, 15(6): 1049–1053. [WANG A, WANG Y, SHI Z Y, et al. Study on the protective effect of Yiqi and detoxification traditional Chinese medicine compound on 2 Gy⁶⁰Co γ -ray-induced acute radiation injury in mice[J]. World Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 2020, 15(6): 1049–1053.]
- [19] 杨海玉. 金属铈有机框架仿生酶用于辐射防护的研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2023. [[YANG H Y. Researches on cerium metal organic frameworks with enzyme mimic property for radiation protection[D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2023.]
- [20] 曹佳, 林真, 余争平, 等. 微核实验-原理、方法及其在人群监测和毒性评价中的应用[M]. 北京: 军事医学科学出版社, 2000: 1–6. [CAO J, LIN Z, YU Z P, et al. Micronucleus experiment-principle, method and its application in population monitoring and toxicity evaluation[M]. Beijing: Military Medical Science Press, 2000: 1–6.]
- [21] YOKOYA A, SHIKAZONO N, FUJII K, et al. DNA damage induced by the direct effect of radiation[J]. Radiation Physics and Chemistry, 2008, 77(10): 1280–1285.
- [22] SPEAKMAN J R, SELMAN C. The free-radical damage the-

- ory: Accumulating evidence against a simple link of oxidative stress to ageing and lifespan[J]. *Bioessays*, 2011, 33(4): 255–259.
- [23] CHEN C, CHEN Z, XU F, et al. Radio-protective effect of catalpol in cultured cells and mice[J]. *Journal of Radiation Research*, 2013, 54(1): 76–82.
- [24] FOLKES L K, O’NEILL P. DNA Damage induced by nitric oxide during ionizing radiation is enhanced at replication[J]. *Nitric Oxide*, 2013, 34(1): 47–55.
- [25] LEY R E, TURNBAUGH P J, KLEIN S, et al. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity[J]. *Nature*, 2006, 444: 1022–1023.
- [26] BELZER C, DEVOS W M. Microbes inside from diversity to function: The case of Akkermansia[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(8): 1449–1458.
- [27] 王春妍, 曹宇, 郭远强, 等. 硫代乙酰胺所致急性肝损伤大鼠肠道菌群的变化[J]. *肝脏*, 2020, 25(12): 1334–1336, 1347. [WANG C Y, CAO Y, GUO Y Q, et al. Research on changes of intestinal flora in rats with acute liver injury induced by thioacetamide[J]. *Chinese Hepatology*, 2020, 25(12): 1334–1336, 1347.]
- [28] VOLK J K, NYSTRM E, POST S, et al. The nlrp6 inflammasome is not required for baseline colonic inner mucus layer formation or function[J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2019, 216(11): 2602–2618.
- [29] HUANG K Y, YAN Y M, CHEN D, et al. Ascorbic acid derivative 2-O-β-d-glucopyranosyl-l-l-ascorbic acid from the fruit of lycium barbarum modulates microbiota in the small intestine and colon and exerts an immunomodulatory effect on cyclophosphamide -treated BALB/c mice[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(40): 11128–11143.
- [30] 韩伟, 王超, 李晓敏, 等. 肠道中 *Akkermansia muciniphila* 数量影响因素的研究进展[J]. *中国微生态学杂志*, 2019, 31(3): 356–359, 364. [HAN W, WANG C, LI X M, et al. Research progress on the influencing factors of *Akkermansia muciniphila* quantity in intestinal tract[J]. *Chinese Journal of Microecology*, 2019, 31(3): 356–359, 364.]
- [31] NAITO Y, UCHIYAMA K, TAKAGI T. A next-generation beneficial microbe: *Akkermansia muciniphila*[J]. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 2018, 63(1): 33–35.
- [32] ZHAO S, LIU W, WANG J, et al. *Akkermansia muciniphila* improves metabolic profiles by reducing inflammation in chow diet-fed mice[J]. *Journal of Molecular Endocrinology*, 2017, 58(1): 1–14.
- [33] BARCENA C, VALDES-MAS R, MAYORAL P, et al. Healthspan and lifespan extension by fecal microbiota transplantation into progeroid mice[J]. *Nature Medicine*, 2019, 25(8): 1234–1242.
- [34] ZHAO Y, ZHANG X. Interactions of tea polyphenols with intestinal microbiota and their implication for anti-obesity[J]. *J Sci Food Agric*, 2020, 100(3): 897–903.
- [35] CHEN Z R, XIE Y R, ZHOU F, et al. Featured gut microbiomes associated with the progression of chronic hepatitis B Disease[J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 383.
- [36] JIANG W, WU N, WANG X, et al. Dysbiosis gut microbiota associated with inflammation and impaired mucosal immune function in intestine of humans with non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 8096.