

白敏, 张颖, 李泉积, 等. 枸杞叶多糖对小鼠代谢、抗氧化、免疫功能及肠道微生物的影响 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(17): 413–419. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022110055

BAI Min, ZHANG Ying, LI Quanji, et al. Effect of *Lycium barbarum* Leaves Polysaccharides on Biological Metabolism, Antioxidant Capacity, Immune Function and Intestinal Microbiota in Mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(17): 413–419. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022110055

· 营养与保健 ·

枸杞叶多糖对小鼠代谢、抗氧化、免疫功能及肠道微生物的影响

白 敏¹, 张 颖¹, 李泉积², 姬 锦², 金亚婷², 王 琦^{1,*}, 赵嘉庆^{1,3,4,5,*}

(1. 宁夏医科大学基础医学院, 宁夏银川 750004;

2. 宁夏医科大学公共卫生与管理学院, 宁夏银川 750004;

3. 宁夏医科大学医学科学技术研究中心, 宁夏银川 750004;

4. 宁夏常见传染病防控重点实验室, 宁夏银川 750004;

5. 宁夏回族自治区医学科学研究所, 宁夏银川 750004)

摘 要:目的: 以 C57BL/6 雌性小鼠为研究对象, 连续灌胃 7 周不同剂量 (50、100、150 mg/kg) 枸杞叶多糖, 探究未灌胃枸杞叶多糖的正常组与灌胃不同剂量枸杞叶多糖组对小鼠代谢、抗氧化、免疫功能及肠道微生物的影响。方法: 扫描电镜观察各组小鼠肠粘膜超微结构, 检测血清丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 和总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 的活性来评价不同剂量枸杞叶多糖的抗氧化能力, 采用流式细胞术检测脾脏中 T、B、树突状细胞 (DC) 的数量, 全自动生化分析仪检测小鼠血清中的生化指标, 通过 16S RNA 测序检测小鼠粪便样本中肠道菌群的变化。结果: 各组小鼠肠粘膜超微结构无差异。高剂量枸杞叶多糖可升高 T-SOD (45.27±2.73 U/g) 和 GSH-Px (1585.76±33.69 U/g) 的活性, 降低 MDA (6.15±1.03 nmol/g) 水平。高剂量组枸杞叶多糖可显著提高 T、DC 细胞数量 ($P<0.05$), 降低血清中甘油三酯 (0.30±0.04 mmol/L) 及谷草转氨酶的活性 (161.48±14.98 U/L) 并提高了肠道益生菌属的相对丰度, 如杜氏杆菌、嗜黏蛋白阿克曼菌、乳杆菌等。结论: 灌胃枸杞叶多糖对小鼠肠粘膜结构无影响, 同时可提高机体抗氧化能力、增强免疫系统功能、改善肠道微生物区系, 对小鼠甘油三酯及谷草转氨酶的生物代谢具有一定的促进作用。这将为枸杞叶多糖在食品、药品和保健品等方面的开发利用提供理论基础和参考依据。

关键词: 枸杞叶多糖, 代谢, 抗氧化, 免疫功能, 肠道菌群

中图分类号: Q815

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)17-0413-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022110055



本文网刊:

Effect of *Lycium barbarum* Leaves Polysaccharides on Biological Metabolism, Antioxidant Capacity, Immune Function and Intestinal Microbiota in Mice

BAI Min¹, ZHANG Ying¹, LI Quanji², JI Jin², JIN Yating², WANG Qi^{1,*}, ZHAO Jiaqing^{1,3,4,5,*}

(1. School of Basic Medical Science, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China;

2. School of Public Health and Management, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China;

3. Science and Technology Center of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China;

4. Ningxia Key Laboratory of Prevention and Control of Common Infectious Diseases, Yinchuan 750004, China;

5. Ningxia Hui Autonomous Region Medical Research Institute, Yinchuan 750004, China)

收稿日期: 2022-11-07

基金项目: 宁夏回族自治区重点研发计划项目 (2020BEG03014)。

作者简介: 白敏 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 感染与免疫, E-mail: baimin1998@163.com。

* 通信作者: 王琦 (1963-), 男, 硕士, 教授, 研究方向: 感染与免疫, E-mail: wqmxm@126.com。

赵嘉庆 (1973-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 感染免疫, E-mail: nxmczhaojq@163.com。

Abstract: Objective: To investigate the effects of normal group without gavage of LBP and various doses of *Lycium barbarum* leaves polysaccharides (LBP) on mouse metabolism, antioxidant, immune function, and intestinal microorganisms, C57BL/6 female mice were continuously gavaged with 50, 100, and 150 mg/kg of LBP for 7 weeks. Methods: The ultrastructure of the intestinal mucosa of each group of mice was observed by scanning electron microscopy, and the levels of serum malondialdehyde (MDA), activities of glutathione peroxidase (GSH-Px) and total superoxide dismutase (T-SOD) were detected to evaluate the antioxidant capacity of different doses of LBP, the number of T, B and dendritic cells (DC) in the spleen was detected by flow cytometry, fully automated biochemical analyzer for the detection of biochemical indicators in mouse serum, and the changes of intestinal flora in mouse fecal samples were detected by 16S RNA sequencing. Results: There were no variations in the intestinal mucosa's ultrastructure between the groups. The activity of T-SOD (45.27 ± 2.73 U/g) and GSH-Px (1585.76 ± 33.69 U/g) was increased by high-dose LBP, while MDA levels (6.15 ± 1.03 nmol/g) were decreased. The high dose group of LBP could significantly boost the number of T and DC cells, lower serum levels of aspartate aminotransferase (161.48 ± 14.98 U/L) and triglycerides (0.30 ± 0.04 mmol/L) and can increase the relative abundance of probiotic genera like *Dubosiella*, *Akkermansia*, and *Lactobacillus*, and others in the gut. Conclusions: The findings of this study demonstrated that LBP given orally to mice had no effect on the structure of the intestinal mucosa, while also improving antioxidant capacity, enhancing immune system function, enhancing intestinal microflora, and promoting triglyceride and aspartate aminotransferase biological metabolism in mice. This will provide the theoretical basis for the development and utilization of LBP in food, medicine and health products.

Key words: *Lycium barbarum* leaf polysaccharide; metabolism; antioxidation; immune function; intestinal flora

枸杞是中国传统的中草药,也是一种食品补充剂。随着研究的深入,已证明枸杞是一种能够增强免疫力^[1-2]、缓解炎症^[3]、抗肿瘤^[4]、降糖调脂^[5]、保肝护肝^[6]功效的药食两用植物。在发展食用枸杞果的同时,作为副产业的枸杞叶在市场上创造的效益也相当可观^[7],不仅因其含有枸杞多糖和特殊的营养成分,更由于其既可作茶饮又可作为药材食用,因此人们对枸杞叶的需求量呈逐年递增的趋势^[8]。研究表明枸杞叶的化学成分,无论在活性成分、营养成分还是微量元素方面,与果实基本一致,而且在量上某些成分甚至超过果实^[9]。增加对枸杞叶的研究开发可以变废为宝,扩大资源并有效利用资源。

枸杞多糖作为枸杞叶中的主要有效成分,关于其提取工艺及食用疗效的研究也在逐渐增加。目前的研究表明枸杞叶多糖对糖尿病^[10]、过敏性哮喘^[11]、阿尔茨海默症^[12]等多种疾病表现出有益作用。但关于枸杞叶多糖的使用剂量与功效仍不明确,对机体健康水平的评估如生物代谢、抗氧化能力及免疫功能等方面的研究鲜有报道,因此本工作主要研究不同剂量的枸杞叶多糖对小鼠肠粘膜的变化、抗氧化能力、免疫功能指标、生物代谢及肠道菌群的影响,从而评估枸杞叶多糖对机体的健康水平是否具有促进作用,为枸杞叶多糖的功效研究和产品开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

6~8 周 C57BL/6 雌性小鼠 40 只,平均体重 18~22 g,购买于北京维通利华实验动物技术有限公司(合格证号:SCXK 京 2016-0006,伦理审查批准号:2019-121)。随机分为 4 组分别为正常对照组、枸杞叶多糖低、中、高剂量组,每组 10 只。喂养于湿度为 50%~60%,温度 20~26 °C 明暗交替 12 h 的 SPF 级的动物房内,用高压灭菌处理的饮用水和饲料

进行饲养。

枸杞叶多糖(含量为 60%) 由宁夏森森科技集团股份有限公司提供;小鼠饲料 购自江苏省协同医药生物有限公司;流式抗体抗小鼠 CD3-APC、APC Rat IgG2b κ (CD3 同型对照)标记 T 细胞、抗小鼠 CD19-PE、PE Rat IgG2a κ (CD19 同型对照)标记 B 细胞、抗小鼠 CD11c-FITC、FITC Armenian Hamster IgG(CD11c 同型对照)标记树突状细胞(DC)细胞 美国 Biolegend 公司;小鼠脾脏淋巴试剂盒、胎牛血清、磷酸盐缓冲液(pH7.2~7.4)、培养基 1640、红细胞裂解液 中国索莱宝公司;总超氧化物歧化酶(SOD)测定试剂盒、丙二醛(MDA)测定试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)测定试剂盒 南京建成生物工程研究所;文库定量试剂盒 美国 Kapa Illumina 公司。

BD Accuri C6 型流式细胞仪 美国 BD Biosciences; THZ-98 型气浴恒温振荡器 上海博讯实业有限公司;Z326k 型台式冷冻离心机 德国 Hermle 公司;S-3400N 型扫描电镜 日本日立公司;2100 型生物分析仪 美国 Agilent 公司;AU400 型全自动生化分析仪 日本 Olympus。

1.2 实验方法

1.2.1 枸杞叶多糖干预小鼠 正常对照组灌服生理盐水 200 μ L。枸杞叶多糖低、中、高剂量组每日灌服等体积纯枸杞叶多糖的剂量为 50、100、150 mg/kg 枸杞叶多糖。以上操作 1 次/d,连续 7 周。灌胃剂量的选择参考之前的报道^[13],其实验结果表明在小鼠模型中灌服枸杞多糖在 17.5~140 mg/kg 区间,免疫量效关系呈现上升趋势。因此设置将 50、100、150 mg/kg 三个剂量作为本次枸杞叶多糖低、中、高剂量的研究对象,从而探究枸杞叶多糖对机体的影响。

1.2.2 扫描电镜观察 7周灌胃结束后,麻醉小鼠,从距 Treitz 韧带约 10 cm 处取下一段空肠,纵行切开肠管,用生理盐水充分冲洗肠内容物,冲洗干净后浸入 2.5% 戊二醛固定液中 4 ℃ 固定 2 h, 0.1 mol/L 磷酸缓冲液清洗三次,每次 10 min; 加入 1% 锇酸, 4 ℃, 固定 1 h, 0.1 mol/L 磷酸缓冲液清洗两次; 梯度乙醇脱水: 30%、50%、70%、80%、90%、100% 乙醇室温各 10 min。75%、100% 的叔丁醇中干燥两次,每次 15 min,置于-20 ℃ 冰箱冰冻 10 min。真空干燥后,进行真空镀膜喷涂,使用 S-3400N 扫描式电子显微镜观察^[14]。

1.2.3 小鼠血清抗氧化能力的测定 7周灌胃结束后麻醉小鼠,眼球取血于 1.5 mL 高压灭菌后的 EP 管中, 4 ℃、2000 r/min、离心 15 min, 分离出血清。进行 T-SOD、GSH-Px 活性及 MDA 含量的检测,其检测均采用南京建成生物工程研究所试剂盒,操作步骤按照说明书进行。

1.2.4 脾脏组织单细胞悬液的制备 采血取眼球血后,处死小鼠,打开小鼠腹腔,分离脾脏,将其浸浴在预冷的完全培养基中。将脾脏放在两层 300 目尼龙网膜中间,浸浴在完全培养基中,用 5 mL 注射器活塞沿同一方向侧向研磨脾脏,使脾细胞游离出来。用 300 目尼龙网膜过滤研磨好的脾细胞悬液, 15 mL 离心管收集滤液。4 ℃、400×g、5 min 离心,弃上清,留沉淀。向沉淀中加入 5 mL 1×红细胞裂解液,混匀,冰上孵育 5 min。用适量的磷酸盐缓冲液重悬细胞沉淀,显微镜下计数,调整细胞浓度至 1×10^7 个/mL。

1.2.5 流式细胞术检测脾脏免疫细胞数量 取出 100 μ L 制备好的脾脏组织单细胞悬液,其细胞数量为 1×10^6 个/mL,各加入 2 μ L CD3-APC 标记 T 细胞、CD19-PE 标记 B 细胞、CD11c-FITC 标记 DC 细胞。同时设置同型对照组,分别加入同型抗体 APC Rat IgG2b κ 、PE Rat IgG2a κ 、FITC Armenian Hamster IgG。冰上孵育 30 min,染色缓冲液洗涤两次,流式细胞仪 BD Accuri C6 上机检测。

1.2.6 小鼠血清生化指标的测定 取各组小鼠全血于抗凝管中,将全部全血样本置于高速离心机 3000×g 离心 15 min 分离血清,进行生化指标的测定。测定

指标包括血糖、胆红素、谷草转氨酶、谷丙转氨酶、甘油三酯、胆固醇、总蛋白、白蛋白、球蛋白、肌酐、尿酸、尿素氮等 18 项生化指标的检测,所有生化检测指标均由宁夏医科大学科技中心医学分析检测中心 OlympusAU400 全自动生化分析仪检测。

1.2.7 小鼠粪便 16S RNA 测序 收集连续灌胃 7 周后,正常对照组及高剂量枸杞叶多糖组小鼠粪便。十六烷基三甲基溴化铵法提取各组粪便样本中的总 DNA,采用紫外分光光度计对 DNA 进行定量。用引物 341F(5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3') 805R(5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3') PCR 扩增 16S rRNA 基因的 V3-V4 区。PCR 扩增产物通过 2% 琼脂糖凝胶电泳检测,对纯化后的 PCR 产物使用 Agilent 2100 生物分析仪和 Illumina 的文库定量试剂盒进行评估。根据测序所到的样本中的序列信息与 Silva 和 NT-16S 数据库进行比对作物种分类及后续分析。

1.3 数据处理

使用 Graphpad Prism 6.0 软件进行统计学分析,各组实验数据用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,枸杞叶低、中、高剂量组分别同正常对照组进行两样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 枸杞叶多糖干预后对小鼠肠粘膜的影响

根据 1.2.2 节的方法,结果发现小鼠肠绒毛呈比较宽厚的叶片状,排列整齐、规则,表面有纵横交错,深浅不一的裂隙,不同剂量的枸杞叶多糖干预后同正常对照组相比无明显变化(见图 1)。表明不同剂量的枸杞叶多糖不会对小鼠肠粘膜造成损伤。

2.2 枸杞叶多糖干预后对小鼠抗氧化能力的影响

大多数植物多糖都有抗氧化功能^[15-16],谭连杰^[17]在评估多糖对机体产生的影响时,对实验动物抗氧化能力、免疫功能及生物代谢等方面的作用进行了评估,因此进行了参考。为了进一步验证枸杞叶多糖对小鼠机体抗氧化能力的影响,通过口服不同剂量枸杞叶多糖后,检测小鼠血清中丙二醛(MDA),谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px),总超氧化物歧化酶(T-SOD)指标。T-SOD 具有抗氧化能力,且消除代谢过程中

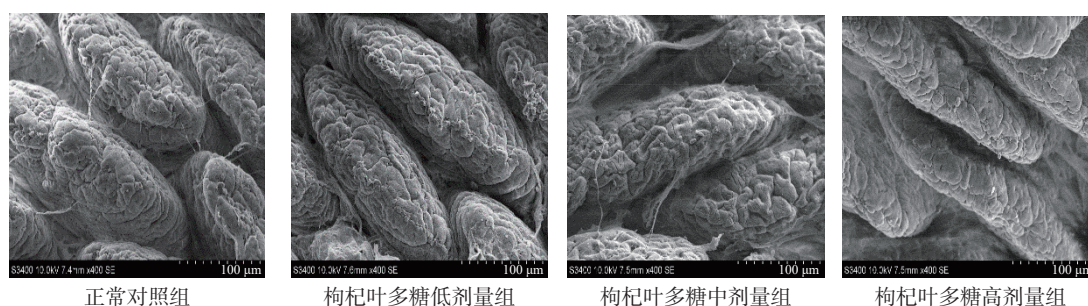


图 1 枸杞叶多糖干预后对肠粘膜的影响

Fig.1 The effect of *Lycium barbarum* leaves polysaccharides intervention on intestinal mucosa

产生的氧自由基,保护细胞免受损伤。MDA 是膜脂过氧化最重要的产物之一,其浓度与细胞损伤程度呈正相关性,其浓度可间接反映膜脂过氧化程度^[18]。GSH-Px 是机体内广泛存在的一种重要的过氧化物分解酶,通过将脂质过氧化氢还原为相应的醇,并将 H_2O_2 还原为水来保护机体免受氧化损伤^[19]。由表 1 可知,与正常对照组比较,中、高剂量枸杞叶多糖组均可以升高血清中 T-SOD 水平,差异有统计学意义 ($P<0.05$);高剂量枸杞叶多糖组可以降低血清中 MDA 水平,差异有统计学意义 ($P<0.05$);中、高剂量枸杞叶多糖可升高 GSH-Px 的活性,差异有统计学意义 ($P<0.01$)。目前的研究中许多植物多糖均有抗氧化的能力^[20],在一些动物如,虾^[21]、鲤鱼^[22]、鸡^[23]、小鼠^[24]等动物的饲料中添加多糖或以口服的方式灌胃多糖类食品均可起到抗氧化的能力,同时起到提高免疫力的作用。研究结果表明,来源于枸杞叶中的多糖同样具有一定的抗氧化作用。

2.3 枸杞叶多糖干预后对小鼠免疫应答能力的影响

T 细胞具有直接杀伤靶细胞、辅助和抑制 B 细胞产生抗体、分泌细胞因子等作用,可以抵御疾病的感染和肿瘤的形成。B 细胞受到抗原刺激后就会转变成浆细胞,浆细胞可以合成和分泌各种抗体,发挥

体液免疫的功能。树突状细胞是机体免疫系统中功能最强大、最有效的抗原递呈细胞,能高效地摄取、加工处理和递呈抗原^[25]。一些植物多糖已经表现出对免疫细胞的调节能力^[26-28]。为了评价枸杞叶多糖对小鼠免疫功能的影响,采用 1.2.4 与 1.2.5 节的方法,口服不同剂量的枸杞叶多糖后,同正常对照组相比,脾脏淋巴细胞流式结果横坐标表示抗体类型,纵坐标表示相对细胞数,发现枸杞叶多糖低、中、高剂量组的 T 细胞水平显著提升,具有统计学差异 ($P<0.05$) (见图 2)。同正常对照组相比,低、中、高剂量枸杞叶多糖组 B 细胞数量无明显变化(见图 3)。同正常对照组相比,枸杞叶多糖低、中、高剂量组 DC 细胞数量显著上升 ($P<0.05$) (见图 4)。不同种类免疫细胞数量的统计结果见图 5,纵坐标为细胞在脾脏总细胞中所占比例。实验通过检测小鼠脾脏的淋巴细胞数量变化探究枸杞叶多糖对免疫细胞的作用可知,枸杞叶多糖可增强机体特异性免疫中的 T 细胞免疫,但对 B 细胞数量产生无明显变化。有报道显示,DC 细胞是机体免疫系统中重要的抗原提呈细胞,功能强大,可活化初始 T 细胞从而调控天然免疫和获得性免疫^[29],因此枸杞叶多糖可提高天然免疫与特异性免疫功能。这对提高机体免疫力具有重要意义。

表 1 枸杞叶多糖干预对小鼠血清抗氧化能力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Effect of *Lycium barbarum* leaves polysaccharides intervention on serum antioxidant capacity of mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量(mg/kg)	T-SOD (U/g)	MDA (nmol/g)	GSH-Px (U/g)
正常对照组	—	36.76±3.48	7.38±2.51	814.69±2.75
枸杞叶多糖低剂量组	50	45.27±2.73	6.90±1.35	766.05±18.64
枸杞叶多糖中剂量组	100	48.48±6.52**	7.24±1.09	1334.00±22.49**
枸杞叶多糖高剂量组	150	45.27±2.73*	6.15±1.03*	1585.76±33.69**

注:与正常对照组相比,*表示差异显著 ($P<0.05$),**表示差异极显著 ($P<0.01$)。

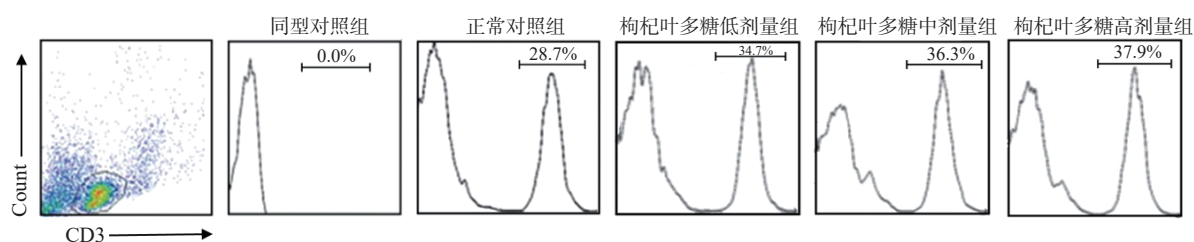


图 2 枸杞叶多糖干预对小鼠 T 细胞的影响

Fig.2 Effect of *Lycium barbarum* leaves polysaccharides intervention on T cells in mice

注:纵坐标 Count 表示相对细胞数;图 2~图 4 同。

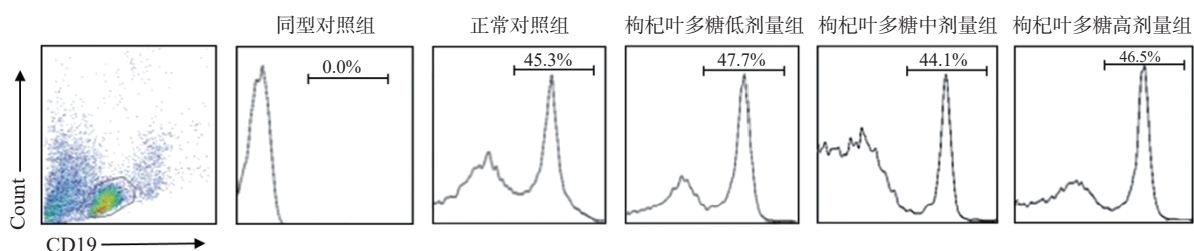


图 3 枸杞叶多糖干预对小鼠 B 细胞的影响

Fig.3 Effect of *Lycium barbarum* leaves polysaccharides intervention on B cells in mice

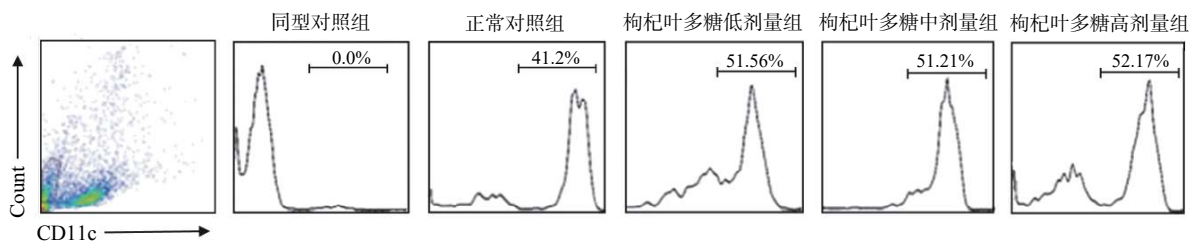


图 4 枸杞叶多糖干预对小鼠 DC 细胞的影响

Fig.4 Effect of *Lycium barbarum* leaves polysaccharides intervention on DC cells in mice

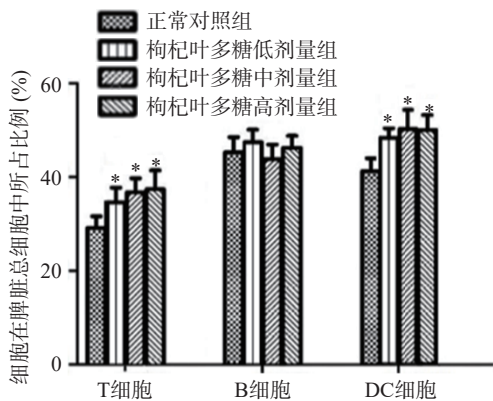


图 5 枸杞叶多糖干预后对小鼠脾脏淋巴细胞数量的影响

Fig.5 Effect of *Lycium barbarum* leaves polysaccharides intervention on the number of spleen lymphocytes in mice

注: 与正常对照相比, *表示差异显著($P<0.05$)。

2.4 枸杞叶多糖干预后对小鼠机体生物代谢的影响

通过不同剂量枸杞叶多糖对小鼠肠粘膜的影响结果可知, 高剂量的枸杞叶多糖对小肠粘膜无损害。其次, 根据枸杞叶多糖对小鼠的抗氧化能力和免疫功能的研究结果发现, 高剂量的枸杞叶多糖对小鼠的促进作用最佳。因此, 检测高剂量枸杞叶多糖组对小鼠生物代谢的改变。结果显示, 同正常对照组相比较, 枸杞叶多糖高剂量组甘油三酯、谷草转氨酶水平显著低于正常对照组($P<0.05$), 有统计学意义(见表 2)。其它生化指标无显著差异。甘油三酯来自于脂肪物质的分解, 甘油三酯过多会导致皮下脂肪的堆积, 引起肥胖^[30], 表明服用高剂量的枸杞叶多糖可在一定程度上帮助机体分解脂肪。谷草转氨酶存在于肝细胞中, 当肝功能受到损伤时谷草转氨酶会升高^[31], 口服高剂量的枸杞叶多糖可降低谷草转氨酶的含量, 表明高剂量枸杞叶多糖的摄入对正常小鼠肝脏的保护具有一定的促进作用。其次其它生化指标没有影响, 表明高剂量的枸杞叶多糖不会对机体的基本生物代谢产生损害。

2.5 枸杞叶多糖干预后小鼠体内肠道菌群的变化

为了确定灌胃枸杞叶多糖后, 小鼠肠道微生物区系是否发生变化, 使用 16S RNA 测序技术检测正常对照组及高剂量枸杞叶多糖组小鼠粪便菌种的 RNA, 并进行差异性分析, 筛选 P 值小于 0.05 的物

表 2 枸杞叶多糖干预后对小鼠血清生化指标的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Effect of *Lycium barbarum* leaves polysaccharides intervention on serum biochemical indexes ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

生化指标	正常对照组	枸杞叶多糖高剂量组	P 值
葡萄糖(mmol/L)	8.03±1.78	5.60±0.61	0.07
总胆红素(μmol/L)	1.25±0.40	0.43±0.45	0.05
直接胆红素(μmol/L)	0.40±0.08	0.40±0.082	1.00
非结合胆红素(μmol/L)	0.85±0.33	0.17±0.29	0.04*
谷草转氨酶(U/L)	205.45±23.45	161.48±14.98	0.02*
谷丙转氨酶(U/L)	44.90±7.53	53.70±7.23	0.14
谷草/谷丙转氨酶的比值	3.70±0.94	3.83±0.24	0.81
甘油三酯(mmol/L)	0.75±1.73	0.30±0.03	0.01*
总胆固醇(mmol/L)	1.54±0.24	1.30±0.08	0.10
高密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	0.93±0.14	0.78±0.10	0.13
低密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	0.35±0.10	0.30±0.04	0.39
血清总蛋白(g/L)	51.13±4.89	56.15±3.35	0.14
白蛋白(g/L)	30.50±2.92	32.68±2.22	0.28
球蛋白(g/L)	20.62±2.19	23.48±1.27	0.65
白蛋白/球蛋白	1.5±0.82	1.43±0.05	0.17
肌酐(μmol/L)	38.00±4.50	38.33±3.23	0.91
尿酸(μmol/L)	72.93±10.75	82.58±12.65	0.29
尿素氮(mmol/L)	6.83±1.76	8.43±1.45	0.21

注: 与正常对照组相比, *表示差异显著($P<0.05$)。

种绘制柱状图。图中横坐标为分组, 纵坐标为物种相对丰度。枸杞叶多糖高剂量组与对照组相比(图 6), 在门水平上, 灌胃高剂量枸杞叶多糖的小鼠疣微菌门显著增加($P<0.05$)。在属水平上, 灌胃了高剂量枸杞多糖的小鼠肠道菌群中杜氏杆菌(*Dubosiella*)、粪杆菌属(*Faecalibaculum*)、乳杆菌 HT002(*Lactobacillaceae* HT002)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、瘤胃球菌属(*Ruminococcus*)、嗜黏蛋白阿克曼菌(*Akkermansia*)这些有益菌均增加。这些菌参与调节代谢途径, 例如参与碳水化合物代谢、氨基酸代谢、短链脂肪酸代谢和信号转导途径等^[32-34]。疣微菌门的代表菌属——嗜黏蛋白阿克曼菌, 它利用肠道粘蛋白作为能量来源, 保护肠道免受病原体的侵袭, 是一种潜在的益生菌^[35]; 乳杆菌和瘤胃球菌属通过产生抑制病原体增殖和减少肠道炎症的短链脂肪酸来减少细菌感染^[36]。这一研究表明服用枸杞叶多糖能够改善肠道菌群, 增加益生菌的丰度, 能够抵抗和预防更多疾病。

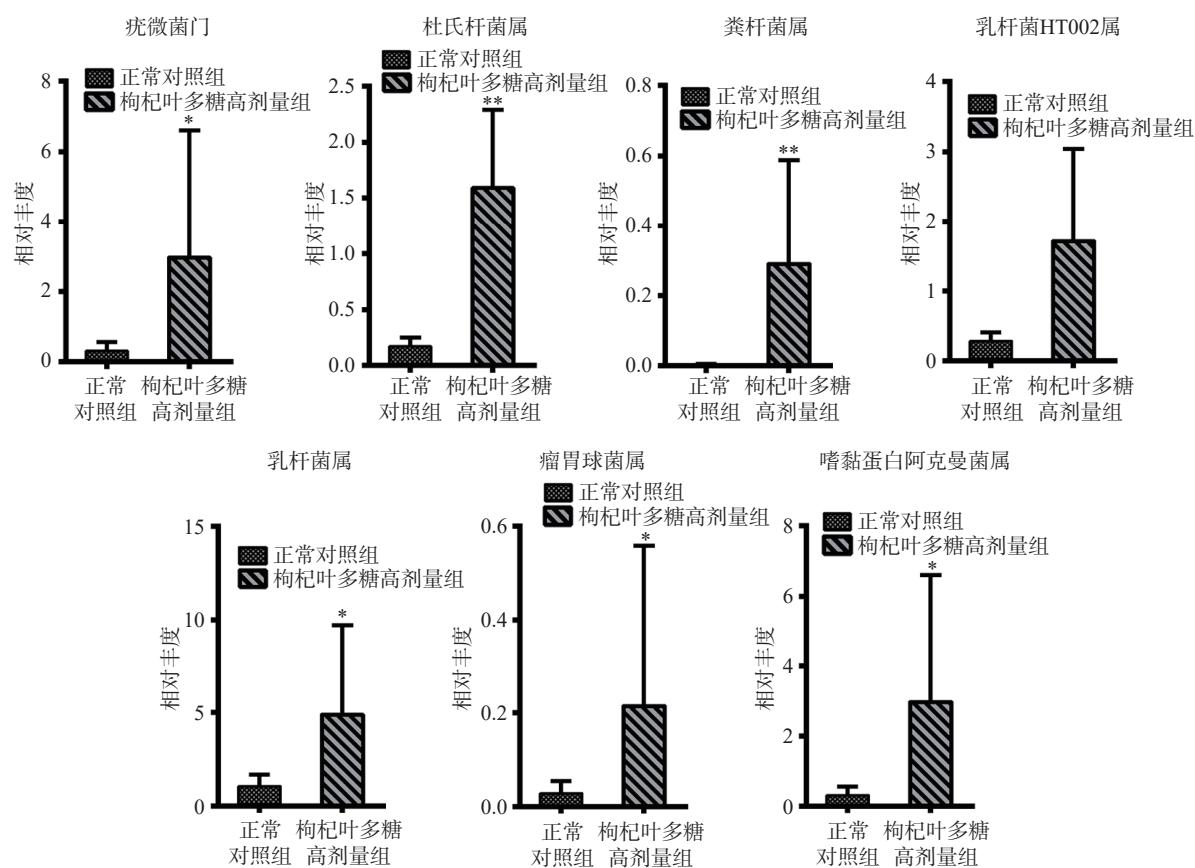


图6 枸杞叶多糖干预后对小鼠体内肠道菌群的影响

Fig.6 Effect of *Lycium barbarum* leaves polysaccharides intervention on intestinal flora in mice注: 与空白组相比, *表示差异显著($P < 0.05$), **表示差异极显著($P < 0.01$)。

3 结论

本研究着重于枸杞叶多糖对机体的功效, 通过服用不同剂量的枸杞叶多糖, 表明服用高剂量(150 mg/kg)枸杞叶多糖对肠粘膜的结构及生物代谢无任何损伤, 且有助于甘油三酯的分解及肝脏的保护。同时, 增加机体的抗氧化能力、调节免疫功能、改善肠道菌群, 使机体抵御病原体的侵害, 从而达到预防疾病的目的。而低、中剂量枸杞叶多糖与正常对照组相比有较小差异或无差异, 造成此现象最大的原因是由于动物实验中灌胃的时间有限, 低、中剂量的效果发挥可能需要更长的时间。其次通过不同剂量的比较时发现, 枸杞叶多糖高剂量(150 mg/kg)服用时效果最佳, 为枸杞叶多糖剂量的选择提供参考。同时, 为枸杞叶的开发利用提供了理论支撑, 提高枸杞叶的利用率, 具有创新和实用性。

参考文献

- [1] BO R, SUN Y, ZHOU S, et al. Simple nanoliposomes encapsulating *Lycium barbarum* polysaccharides as adjuvants improve humoral and cellular immunity in mice[J]. *Int J Nanomedicine*, 2017 (12): 6289–6301.
- [2] DING Y, YAN Y, CHEN D, et al. Modulating effects of polysaccharides from the fruits of *Lycium barbarum* on the immune response and gut microbiota in cyclophosphamide-treated mice[J]. *Food Funct*, 2019, 10(6): 3671–3683.
- [3] KANG Y, XUE Y, DU M, et al. Preventive effects of goji

berry on dextran-sulfate-sodium-induced colitis in mice[J]. *J Nutr Biochem*, 2017, 40: 70–76.

[4] DENG X, LUO S, LUO X, et al. Fraction from *Lycium barbarum* polysaccharides reduces immunotoxicity and enhances antitumor activity of doxorubicin in mice[J]. *Integr Cancer Ther*, 2018, 17(3): 860–866.

[5] LIAO J, LIU B, ZHONG W, et al. Protective effect of *Lycium barbarum* polysaccharides against high-fat diet-induced renal injury and lipid deposition in rat kidneys[J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2019, 33(1): 7–17.

[6] YAN Y, WU W, LU L, et al. Study on the synergistic protective effect of *Lycium barbarum* L. polysaccharides and zinc sulfate on chronic alcoholic liver injury in rats[J]. *Food Sci Nutr*, 2019, 7(11): 3435–3442.

[7] 孙红亮. 枸杞叶的研究及利用[J]. *山西农业科学*, 2017, 45(6): 1037–1039. [SUN H L. Research and utilization of *Lycium barbarum* leaves[J]. *Shanxi Agricultural Science*, 2017, 45(6): 1037–1039.]

[8] 周祥锋, 石志国, 陆振江. 叶用枸杞建园技术[J]. *热带农业工程*, 2019, 43(3): 29–31. [ZHOU X F, SHI Z G, LU Z J. Gardening techniques for leafy wolfberry[J]. *Tropical Agricultural Engineering*, 2019, 43(3): 29–31.]

[9] POTTERAT O. Goji (*Lycium barbarum* and *L. chinense*): Phytochemistry, pharmacology and safety in the perspective of traditional uses and recent popularity[J]. *Planta Med*, 2010, 76(1): 7–19.

[10] 项艳曾, 李进贵, 廖国玲, 等. 桑叶及枸杞叶多糖的降糖降脂作用研究[J]. *长治医学院学报*, 2018, 32(6): 404–407. [XIANG Y Z, LI J G, LIAO G L, et al. Study on hypoglycemic and lipid-low-

- ering effects of mulberry leaf polysaccharides and *Lycium barbarum* leaf polysaccharides[J]. Journal of Changzhi Medical College, 2018, 32(6): 404–407.]
- [11] CUI F, SHI C L, ZHOU X J, et al. *Lycium barbarum* polysaccharide extracted from *Lycium barbarum* leaves ameliorates asthma in mice by reducing inflammation and modulating gut microbiota[J]. *J Med Food*, 2020, 23(7): 699–710.
- [12] 苗珍花, 于建春, 苗永霸, 等. 枸杞叶及枸杞多糖对快速老化模型小鼠行为学的影响[J]. 宁夏医科大学学报, 2013, 35(2): 117–121. [MIAO Z H, YU J C, MIAO Y B, et al. Effects of *Lycium barbarum* leaf and *Lycium barbarum* polysaccharide on behavior of rapid aging model mice[J]. Journal of Ningxia Medical University, 2013, 35(2): 117–121.]
- [13] WANG J D, MA J F, LI Y Y, et al. Effect of different concentration gradients of LBP on immune function of mice[J]. Heilongjiang Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2016(7): 207–209.
- [14] 李月芹. 粪菌移植对非酒精性脂肪性肝病大鼠肝脏及肠黏膜屏障保护作用的研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2016. [LI Y Q. Study on the protective effect of fecal microbiota transplantation on liver and intestinal mucosal barrier in rats with non-alcoholic fatty liver disease[D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2016.]
- [15] 汪彬慧, 陈寒青. 莲雾果多糖的结构及抗氧化活性测定[J]. 合肥工业大学学报(自然科学版), 2020, 43(6): 849–854. [WANG B H, CHEN H Q. Study on the structure and antioxidant activity of polysaccharides from *Fructus lobilis*[J]. Journal of Hefei University of Technology (Natural Science Edition), 2020, 43(6): 849–854.]
- [16] 王余宸铭, 黄快乐, 黄留瑶, 等. 蝉花孢梗束多糖的抗氧化及对环磷酰胺致肝损伤小鼠的保护作用[J]. 食品工业科技, 2019, 40(24): 45–50. [WANG Y C, HUANG K L, HUANG L Y, et al. Antioxidant and protective effects of polysaccharide from spore bundles of *Cicadellia* sp. on cyclophosphamide-induced liver injury in mice[J]. Food Industry Science and Technology, 2019, 40(24): 45–50.]
- [17] 谭连杰, 林黑着, 黄忠, 等. 枸杞多糖对卵形鲳鲷生长性能、抗氧化能力及血清免疫、生化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2019, 31(1): 418–427. [TAN L J, LIN H Z, HUANG Z, et al. Effects of *Lycium barbarum* polysaccharide on growth performance, antioxidant capacity and serum immune and biochemical parameters of ovine pompano trevally[J]. Journal of Animal Nutrition, 2019, 31(1): 418–427.]
- [18] NOTARBARTOLO M, LABBOZZETTA M, POJERO F, et al. Potential therapeutic applications of MDA-9/Syntenin-NF- κ B-RKIP loop in human liver carcinoma[J]. Current Molecular Medicine, 2018, 18(9): 630–639.
- [19] RUIXIA L, QINGQING C, LILONG A, et al. Dietary supplementation with chitosan oligosaccharides alleviates oxidative stress in rats challenged with hydrogen peroxide[J]. *Animals*, 2019, 10(1): 55.
- [20] FAN J, FENG H, YU Y, et al. Antioxidant activities of the polysaccharides of *Chuanminshen violaceum*[J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 157: 629–636.
- [21] LIU X L, XI Q Y, YANG L, et al. The effect of dietary *Panax ginseng* polysaccharide extract on the immune responses in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*[J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2011, 30(2): 495–500.
- [22] JOHNSON D A. Changes in rat parotid saliva protein composition following chronic reserpine treatment and their relation to inanition[J]. *Arch Oral Biol*, 1988, 33(7): 463–466.
- [23] YE J, ZHANG C, FAN Q, et al. *Antrodia cinnamomea* polysaccharide improves liver antioxidant, anti-inflammatory capacity, and cecal flora structure of slow-growing broiler breeds challenged with lipopolysaccharide[J]. *Front Vet Sci*, 2022, 9: 994782.
- [24] LIU N, CHEN M, SONG J, et al. Effects of *Auricularia auricula* polysaccharides on gut microbiota composition in type 2 diabetic mice[J]. *Molecules*, 2022, 27(18): 6061.
- [25] 武莎, 瞿萍, 万金华, 等. 黄芪多糖对免疫细胞调控作用研究进展[J]. 江西中医药, 2022, 53(3): 75–77. [WU S, QU P, WAN J H, et al. Research progress of astragalus polysaccharides on immune cell regulation[J]. Jiangxi Traditional Chinese Medicine, 2022, 53(3): 75–77.]
- [26] REN L, ZHANG J, ZHANG T. Immunomodulatory activities of polysaccharides from *Ganoderma* on immune effector cells[J]. *Food Chem*, 2021, 340: 127933.
- [27] PAN G, XIE Z, HUANG S, et al. Immune-enhancing effects of polysaccharides extracted from *Lilium lancifolium* Thunb[J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 52: 119–126.
- [28] OH M J, CHOI H D, HA S K, et al. Immunomodulatory effects of polysaccharide fraction isolated from *Fagopyrum esculentum* on innate immune system[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 496(4): 1210–1216.
- [29] RUONAN B, ZHENGUANG L, JING Z, et al. Mechanism of *Lycium barbarum* polysaccharides liposomes on activating murine dendritic cells[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 205: 540–549.
- [30] 潘玫君, 杨燕子, 罗胜琴, 等. 电针对高脂饮食诱导的肥胖鼠总胆固醇及甘油三酯的影响[J]. 医学信息, 2020, 33(4): 160–161. [PAN M J, YANG Y Z, LUO S Q, et al. Effect of electroacupuncture on total cholesterol and triglyceride in obese rats induced by high-fat diet[J]. Chinese Journal of Medical Informatics, 2020, 33(4): 160–161.]
- [31] KIM H J, KIM S Y, SHIN S P, et al. Immunological measurement of aspartate/alanine aminotransferase in predicting liver fibrosis and inflammation[J]. *Korean J Intern Med*, 2020, 35(2): 320–330.
- [32] LAN Y, SUN Q, MA Z, et al. *Seabuckthorn* polysaccharide ameliorates high-fat diet-induced obesity by gut microbiota-SCFA-liver axis[J]. *Food Funct*, 2022, 13(5): 2925–2937.
- [33] QIU X, MACCHIETTO M G, LIU X, et al. Identification of gut microbiota and microbial metabolites regulated by an antimicrobial peptide lipocalin 2 in high fat diet-induced obesity[J]. *Int J Obes (Lond)*, 2021, 45(1): 143–154.
- [34] YUAN Y, LU L, BO N, et al. Allicin ameliorates intestinal barrier damage via microbiota-regulated short-chain fatty acids-TLR4/MyD88/NF- κ B cascade response in acrylamide-induced rats[J]. *J Agric Food Chem*, 2021, 69(43): 12837–12852.
- [35] ZHANG T, LI Q, CHENG L, et al. *Akkermansia muciniphila* is a promising probiotic[J]. *Microb Biotechnol*, 2019, 12(6): 1109–1125.
- [36] ZOU C, CHEN Y, LI H, et al. Engineered bacteria EcN-MT alleviate liver injury in cadmium-exposed mice via its probiotics characteristics and expressing of metallothionein[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 857869.