

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research红芪多糖对脾虚型 DGP 大鼠肠道黏膜屏障的
保护作用Protective effect of hedysarum polybotrys polysacchcaide on the intestinal mucosal
barrier of rats with spleen deficiency DGP魏昭晖, 万生芳, 李荣科,
郭倩, 马欣欣(甘肃中医药大学 基础医学院, 甘肃 兰州
730000)WEI Zhao-hui, WAN Sheng-fang,
LI Rong-ke, GUO Qian,
MA Xin-xin(Basic Medicine College, Gansu
University of Traditional Chinese
Medicine, Lanzhou 730000, Gansu
Province, China)

基金项目:国家自然科学基金地区基金资助项目
(82060914);甘肃省优秀博士生基
金资助项目(23JRR1225);甘肃中
医药大学研究生创新基金资助项目
(2022-07)

作者简介:魏昭晖(1994-),女,博士研究生,主
要从事中医药防治糖尿病方面的
研究

通信作者:万生芳,教授,博士生导师

MP:15339822679

E-mail:wanshengfang@163.com

摘要:目的 探讨红芪多糖(HPS)对脾虚型糖尿病胃轻瘫(DGP)大鼠肠黏膜屏障的保护作用。方法 用多因素联合小剂量腹腔多次注射链脲佐菌素(STZ)法制备脾虚型DGP大鼠模型。将大鼠随机分为空白组(纯水灌胃)、模型组(纯水灌胃)、阳性对照组($0.09\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 盐酸二甲双胍缓释片)和高、中、低剂量实验组(0.20 、 0.10 、 $0.05\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ HPS),各组均每天灌胃给药1次,连续8周。检测血糖,用酶联免疫吸附实验(ELISA)法检测血清中二胺氧化酶(DAO)、脂多糖(LPS)、D-乳酸(D-LA)含量,用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)和蛋白质印迹法检测回肠组织中闭锁蛋白1(Claudin-1)、闭合蛋白(Occludin)、连接复合物蛋白1(ZO-1)mRNA及蛋白相对表达水平。结果 空白组、模型组、阳性对照组和高剂量实验组的血糖分别为(5.04 ± 0.40)、(30.71 ± 1.21)、(18.63 ± 6.72)和(19.90 ± 3.30) $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,血清DAO分别为(49.56 ± 6.13)、(192.19 ± 24.40)、(130.63 ± 19.90)和(120.24 ± 17.53) $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$,LPS分别为(41.11 ± 4.56)、(99.67 ± 6.63)、(64.51 ± 8.59)和(63.07 ± 4.89) $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$,D-LA分别为(506.45 ± 52.22)、(1826.49 ± 224.17)、(1166.47 ± 121.78)和(1344.82 ± 130.65) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,Claudin-1 mRNA相对表达水平分别为 1.03 ± 0.32 、 0.25 ± 0.12 、 0.94 ± 0.40 和 0.71 ± 0.21 ,Occludin mRNA相对表达水平分别为 1.07 ± 0.48 、 0.26 ± 0.06 、 1.23 ± 0.42 、 0.99 ± 0.47 ,ZO-1 mRNA相对表达水平分别为 1.00 ± 0.13 、 0.43 ± 0.18 、 0.85 ± 0.07 和 0.69 ± 0.08 ,Claudin-1蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.00 、 0.21 ± 0.19 、 0.56 ± 0.31 和 0.87 ± 0.31 ,Occludin蛋白相对表达水平分别为 1.01 ± 0.27 、 0.38 ± 0.11 、 0.88 ± 0.10 和 0.85 ± 0.18 ,ZO-1蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.14 、 0.43 ± 0.04 、 0.77 ± 0.02 和 0.67 ± 0.16 。模型组的上述指标与空白组比较,在统计学上差异均有统计学意义($P<0.01$, $P<0.05$);高剂量实验组的上述指标与模型组比较,在统计学上差异均有统计学意义($P<0.01$, $P<0.05$)。结论 HPS可降低脾虚型DGP大鼠肠黏膜损伤,维持脾虚型DGP大鼠肠道黏膜屏障完整性。

关键词:红芪多糖;脾虚;糖尿病胃轻瘫;肠黏膜屏障

DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.04.015

中图分类号:R28 文献标志码:A

文章编号:1001-6821(2025)04-0522-05

Abstract: Objective To investigate the protective effect of hedysarum polybotrys polysacchcaide (HPS) on intestinal mucosal barrier in rats with splenic deficiency type diabetic gastroparesis. **Methods** The rat model of spleen deficiency DGP was prepared by multifactorial combined with low-dose intraperitoneal injection of Streptozotocin. The rats were randomly divided into blank group (pure water gavage), model group (pure water gavage), positive control group ($0.09\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ metformin

hydrochloride sustained-release tablet) and experimental-H, -M, -L groups ($0.20, 0.10, 0.05 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ HPS), each group was administered by gavage once a day for 8 W. Measured blood glucose, diamine oxidase (DAO), lipopolysaccharides (LPS), *D*-lactate contents (*D*-LA) in serum by enzyme linked immunosorbent assay method; Claudin-1, Occludin, Zonula Occluden-1 (ZO-1) mRNA and protein expressions in ileal tissue were detected by reverse transcription-polymerase chain reaction and Western blot. **Results** The blood glucose in the blank group, model group, positive control group, experimental-H, -M, -L groups were (5.04 ± 0.40), (30.71 ± 1.21), (18.63 ± 6.72) and (19.90 ± 3.30) $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; the DAO were (49.56 ± 6.13), (192.19 ± 24.40), (130.63 ± 19.90) and (120.24 ± 17.53) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$; the LPS were (41.11 ± 4.56), (99.67 ± 6.63), (64.51 ± 8.59) and (63.07 ± 4.89) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$; the *D*-LA were (506.45 ± 52.22), ($1\,826.49 \pm 224.17$), ($1\,166.47 \pm 121.78$) and ($1\,344.82 \pm 130.65$) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; the relative expression levels of Claudin-1 mRNA were 1.03 ± 0.32 , 0.25 ± 0.12 , 0.94 ± 0.40 and 0.71 ± 0.21 ; the relative expression levels of Occludin mRNA were 1.07 ± 0.48 , 0.26 ± 0.06 , 1.23 ± 0.42 and 0.99 ± 0.47 ; the relative expression levels of ZO-1 mRNA were 1.00 ± 0.13 , 0.43 ± 0.18 , 0.85 ± 0.07 and 0.69 ± 0.08 ; the relative expression levels of Claudin-1 protein were 1.00 ± 0.00 , 0.21 ± 0.19 , 0.56 ± 0.31 and 0.87 ± 0.31 ; the relative expression levels of Occludin protein were 1.01 ± 0.27 , 0.38 ± 0.11 , 0.88 ± 0.10 and 0.85 ± 0.18 ; the relative expression levels of ZO-1 protein were 1.00 ± 0.14 , 0.43 ± 0.04 , 0.77 ± 0.02 and 0.67 ± 0.16 . Compared with the blank group, the above indexes in the model group had statistical significance ($P < 0.01$, $P < 0.05$); compared with the model group, the above indexes in the experimental-H had statistical significance ($P < 0.01$, $P < 0.05$). **Conclusion** HPS can reduce intestinal mucosal injury and maintain the integrity of the intestinal mucosal barrier in spleen deficiency DGP rats.

Key words: hedysarum polybotrys polysacchcaide; spleen deficiency; diabetic gastroparesis; intestinal mucosal barrier

糖尿病胃轻瘫 (diabetic gastroparesis, DGP) 是糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 常见的消化系统并发症之一, 约 75% 的 DM 患者会出现明显的胃肠道症状^[1]。DGP 发病机制复杂, 多与自主神经病变、Cajal 间质细胞缺损、高血糖等有关^[2], DGP 伴有肠黏膜免疫屏障受损、炎症反应等表现^[3]。红芪多糖 (hedysarum polybotrys polysacchcaide, HPS) 是甘肃道地药材红芪干燥根提取的多糖活性成分, 本课题组前期研究表明, HPS 可提高 DGP 大鼠胃肠运动, 保护大鼠胃肠黏膜组织^[4-5]。本研究旨在探讨 HPS 对脾虚型 DGP 大鼠肠道黏膜屏障的保护机制, 为中药多糖活性成分防治 DGP 提供可靠的实验依据。

材料与方法

1 材料

动物 SPF 级雄性 Wistar 大鼠, 鼠龄 5 周, 体质量 (180 ± 10) g, 由甘肃中医药大学实验动物中心提供。动物生产许可证号: SCXK(甘)2020-0001, 动物使用许可证号: SYXK(甘)2020-0009。本实验方案经甘肃中医药大学实验动物伦理委员会批准 (伦理批号: 2022-817)。

药物与试剂 红芪多糖, 规格: 每袋 1 kg, 纯度: 72.4%, 批号: 20200315, 陕西省宝鸡市方昇生物开发

公司生产; 盐酸二甲双胍缓释片, 规格: 每片 0.5 g, 批号: 20210506, 批准文号: 国药准字 H20052118, 山东明仁福瑞达制药股份有限公司生产; 番泻叶颗粒, 规格: 每袋 3 g, 批号: 20211117, 批准文号: 国药准字 Z10910006, 江苏艾迪药业股份有限公司生产。高糖高脂饲料, 购于北京科奥协力饲料有限公司; 柠檬酸、柠檬酸钠, 均购于北京索莱宝公司; 链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ), 规格: 每瓶 100 mg, 批号: V800900, 购于美国 Sigma 公司; 二胺氧化酶 (diamine oxidase, DAO)、脂多糖 (lipopolysaccharides, LPS)、*D*-乳酸 (*D*-lactate, *D*-LA) 试剂盒, 均购于上海酶联免疫公司; 连接复合物蛋白 1 (Zonula Occluden-1, ZO-1)、闭锁蛋白 1 (Claudin-1)、闭合蛋白 (Occludin) 抗体, 均购于美国 GeneTex 公司; 辣根过氧化物酶标志物, 购于美国 Affinity 生物公司; 超敏 ECL 化学发光试剂盒, 购于苏州新赛美生物科技有限公司; 总 RNA 提取试剂盒, 购于翌圣生物科技有限公司; 荧光定量试剂盒、PrimeScript RT reagent kit, 均购于宝日医生物技术有限公司。

仪器 Accu-Chek Performa 血糖仪, 德国罗氏公司产品; Benchmark plus 酶标仪、QuantStudio TM3 实时荧光定量仪, 均为 Thermo Fisher Scientific 公司产品; DYCZ 电泳转印系统, 北京六一生物有限公司产品;

Gel View 6000 Plus 凝胶成像分析系统,广州博鹭腾生物科技有限公司产品。

2 实验方法

2.1 模型构建^[6]、动物分组与给药方法

SPF级雄性 Wistar 大鼠 72 只,随机分为空白组 12 只和造模组 60 只。造模组用饮食失节法(常规喂养 1 d 禁食 1 d) + 苦寒泻下法(番泻叶颗粒灌胃 2 mL) + 劳倦过度法(力竭性游泳每次 30 min,以大鼠下沉鼻尖没于水中 10 s,连续 3 次不能上浮为力竭标准)以制备脾虚模型。造模期间正常饮水,常规饲料喂养,记录大鼠一般情况。

实验第 3 周末,将符合大鼠连续 3 d 小剂量腹腔注射 $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ STZ,进行 DM 模型制备,72 h 后检测血糖 $>16.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 确定为 DM 大鼠,不符合者剔除实验。同时给予高糖高脂饲料喂养共计 3 周。于实验第 6 周末检测血糖 $>16.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,同时伴有腹部胀大、体质量减轻等与正常大鼠有显著性差异者,提示脾虚型 DGP 大鼠模型建立成功。

实验第 6 周末,将造模成功的大鼠随机分为模型组、阳性对照组和高、中、低剂量实验组,每组 12 只。按照体表面积比换算动物用药量。空白组和模型组给予纯水灌胃,阳性对照组给予 $0.09 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 盐酸二甲双胍缓释片灌胃,高、中、低剂量实验组分别给予 0.20 、 0.10 、 $0.05 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ HPS 灌胃,各组的连续灌胃 8 周。

2.2 样本采集

用药第 8 周末,大鼠称质量,3% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,腹主动脉取血,离心,分离血清,分装于 1.5 mL 冻存管中,用酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 法检测各类指标。收集回肠组织,去除附着的脂肪和肠系膜,取小肠组织回肠部装入 EP 管中于 -80°C 冰箱保存,用于检测相关信号因子 mRNA 和蛋白相对表达水平。

2.3 血糖仪检测脾虚型 DGP 大鼠血糖^[7]

每组尾静脉采血,用血糖仪检测给药前、给药 4 周、给药 8 周大鼠的血糖值。

2.4 ELISA 法检测血清中 DAO、LPS 和 D-LA 含量^[8]

取大鼠血清,按照试剂盒说明书进行操作,检测血清中 DAO、LPS 和 D-LA 含量。空白孔调零,450 nm 波长下依序测量测定 DAO、LPS 和 D-LA 各孔光密度值,计算样品浓度。

2.5 逆转录聚合酶链反应 (reverse transcription - polymerase chain reaction, RT-PCR) 法检测回肠组织 ZO-1、Occludin 和 Claudin-1 mRNA 相对表达水平^[9]

取大鼠回肠组织,以 Trizol 提取总 RNA,检测

RNA 纯度,配制反转录体系, 37°C 孵育 15 min, 85°C 孵育 5 s, 所得反应液即为 cDNA。设置 RT-PCR 程序为 95°C 预变性 30 s, 95°C 变性 5 s, 55°C 退火 30 s, 45 循环, 72°C 延伸 30 s。以 $\beta\text{-actin}$ 为内参,通过 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算 mRNA 相对表达水平。

2.6 蛋白质印迹法检测回肠组织 ZO-1、Occludin 和 Claudin-1 蛋白相对表达水平^[10]

取大鼠回肠组织,将回肠组织置于 EP 管, RIPA 裂解,匀浆,在 4°C 下,以 $3500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min; 取部分上清液进行 BCA 蛋白定量实验,其余上清液加入 $5 \times$ 上样缓冲液, 100°C 水浴锅加热变性, -80°C 保存; SDS-PAGE 电泳,转膜,封闭,孵育一抗, 4°C 过夜, $1 \times$ TBST 洗膜,孵育二抗,室温孵育, $1 \times$ TBST 洗膜, ECL 溶液显色, Gel View 6000 Plus 凝胶成像分析系统进行扫描,用 Image J 软件分析结果

3 统计学处理

用 SPSS 28.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,若计量资料服从正态分布,多组间比较用单因素方差分析,2 组间比较用 q 检验;不服从正态分布用秩和检验。

结 果

1 HPS 对血糖的影响

将大鼠随机分为空白组(灌胃纯水)、模型组(灌胃纯水)、阳性对照组(灌胃 $0.09 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 盐酸二甲双胍缓释片)和高、中、低剂量实验组(灌胃 0.2 、 0.1 、 $0.05 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ HPS)。

给药前,模型组和高、中、低剂量实验组与空白组比较,血糖均显著升高(均 $P < 0.01$); 用药第 4 周末,阳性对照组和高、中剂量实验组与模型组比较,血糖均显著降低(均 $P < 0.01$); 用药第 8 周末,阳性对照组和高、中、低剂量实验组与模型组比较,血糖均显著降低($P < 0.01$, $P < 0.05$),见表 1。

2 HPS 对 DAO、D-LA 和 LPS 含量影响

模型组与空白组比较,大鼠血清中 DAO、LPS、D-LA 含量均显著升高(均 $P < 0.01$); 阳性对照组及高、中剂量实验组与模型组比较,血清中 DAO、LPS、D-LA 含量均显著下降($P < 0.01$, $P < 0.05$),见表 2。

3 HPS 对 ZO-1、Occludin 和 Claudin-1 mRNA 相对表达水平的影响

模型组与空白组比较,回肠组织 Claudin-1、Occludin 和 ZO-1 mRNA 相对表达水平均显著降低($P < 0.01$, $P < 0.05$); 阳性对照组、高剂量实验组与

表 1 各组大鼠给药前后血糖的变化 ($\bar{x} \pm s$, mmol · L⁻¹)Table 1 Blood glucose changes before and after dosing in rats of each group ($\bar{x} \pm s$, mmol · L⁻¹)

Group	Dose(g · kg ⁻¹)	n	Before dosing	Dosing for 4 weeks	Dosing for 8 weeks
Blank	—	12	5.20 ± 0.62	4.75 ± 0.52	5.04 ± 0.40
Model	—	12	32.29 ± 0.71 ^{##}	30.09 ± 1.41 ^{##}	30.71 ± 1.21 ^{##}
Positive control	0.09	12	31.54 ± 1.08 ^{##}	20.13 ± 1.79 ^{**}	18.63 ± 6.72 ^{**}
Experimental - H	0.20	12	32.23 ± 0.62 ^{##}	25.09 ± 4.29 ^{**}	19.90 ± 3.30 ^{**}
Experimental - M	0.10	12	31.27 ± 0.88 ^{##}	25.49 ± 2.90 ^{**}	24.37 ± 2.51 ^{**}
Experimental - L	0.05	12	31.22 ± 0.87 ^{##}	27.67 ± 2.25	26.18 ± 2.04 [*]

Compared with blank group, ^{##}*P* < 0.01; Compared with model group, ^{*}*P* < 0.05, ^{**}*P* < 0.01.

表 2 各组大鼠二胺氧化酶(DAO)、D-乳酸(D-LA)和脂多糖(LPS)含量变化 ($\bar{x} \pm s$)Table 2 The contents of diamine oxidase (DAO), D-lactate (D-LA) and lipopolysaccharides (LPS) in rats of each group were changed ($\bar{x} \pm s$)

Group	DAO(pg · mL ⁻¹)	LPS (ng · L ⁻¹)	D-LA(μg · L ⁻¹)
Blank	49.56 ± 6.13	41.11 ± 4.56	506.45 ± 52.22
Model	192.19 ± 24.40 ^{##}	99.67 ± 6.63 ^{##}	1 826.49 ± 224.17 ^{##}
Positive control	130.63 ± 19.90 ^{**}	64.51 ± 8.59 ^{**}	1 166.47 ± 121.78 ^{**}
Experimental - H	120.24 ± 17.53 ^{**}	63.07 ± 4.89 ^{**}	1 344.82 ± 130.65 ^{**}
Experimental - M	162.30 ± 9.46 ^{**}	81.18 ± 3.23 ^{**}	1 608.82 ± 36.35 [*]
Experimental - L	186.87 ± 10.28	99.70 ± 6.63	1 823.68 ± 218.85

Dose and *n* refer to table 1; Compared with blank group, ^{##}*P* < 0.01; Compared with model group, ^{*}*P* < 0.05, ^{**}*P* < 0.01.

表 3 各组大鼠闭锁蛋白 1(Claudin-1)、闭合蛋白(Occludin)和连接复合物蛋白 1(ZO-1) mRNA 相对表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 3 Comparison of mRNA expression of Claudin-1, Occludin and zonula occluden-1 (ZO-1) in rats of each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	Claudin-1	Occludin	ZO-1
Blank	1.03 ± 0.32	1.07 ± 0.48	1.00 ± 0.13
Model	0.25 ± 0.12 ^{##}	0.26 ± 0.06 ^{##}	0.43 ± 0.18 ^{##}
Positive control	0.94 ± 0.40 ^{**}	1.23 ± 0.42 ^{**}	0.85 ± 0.07 ^{**}
Experimental - H	0.71 ± 0.21 [*]	0.99 ± 0.47 [*]	0.69 ± 0.08 [*]
Experimental - M	0.50 ± 0.14	0.52 ± 0.23	0.58 ± 0.11
Experimental - L	0.39 ± 0.06	0.42 ± 0.06	0.42 ± 0.03

Dose and *n* refer to table 1; Compared with blank group, [#]*P* < 0.05, ^{##}*P* < 0.01; Compared with model group, ^{*}*P* < 0.05, ^{**}*P* < 0.01.

表 4 各组大鼠 Claudin-1、Occludin 和 ZO-1 蛋白相对表达水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 4 Comparison of protein expression of Claudin-1, Occludin and ZO-1 in rats of each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	Claudin-1	Occludin	ZO-1
Blank	1.00 ± 0.00	1.01 ± 0.27	1.00 ± 0.14
Model	0.21 ± 0.19 ^{##}	0.38 ± 0.11 ^{##}	0.43 ± 0.04 ^{##}
Positive control	0.56 ± 0.31	0.88 ± 0.10 ^{**}	0.77 ± 0.02 ^{**}
Experimental - H	0.87 ± 0.31 ^{**}	0.85 ± 0.18 ^{**}	0.67 ± 0.16 [*]
Experimental - M	0.83 ± 0.13 [*]	0.64 ± 0.14	0.56 ± 0.15
Experimental - L	0.54 ± 0.15	0.44 ± 0.08	0.29 ± 0.13

Dose and *n* refer to table 1; Compared with blank group, ^{##}*P* < 0.01; Compared with model group, ^{*}*P* < 0.05, ^{**}*P* < 0.01.

模型组比较,回肠组织 Claudin-1、Occludin 和 ZO-1 mRNA 相对表达水平均显著升高 (*P* < 0.01, *P* < 0.05),见表 3。

4 HPS 对 ZO-1、Occludin 和 Claudin-1 蛋白相对表达水平的影响

如表 4 所示,模型组与空白组比较,回肠组织

Claudin-1、Occludin 和 ZO-1 蛋白相对表达水平均显著降低(均 *P* < 0.01);阳性对照组高剂量实验组与模型组比较,Occludin 和 ZO-1 蛋白相对表达水平均显著升高(均 *P* < 0.01, *P* < 0.05);高、中剂量实验组与模型组比较,Claudin-1 蛋白相对表达水平均显著升高(*P* < 0.01, *P* < 0.05)。

讨 论

肠道屏障完整可以防止病原微生物从肠腔转移到血液中,当肠屏障功能完整性被破坏引起肠漏,诱发全身慢性低水平炎症状态,加速DM患者病情的发展^[11]。肠道是机体抵御外来污染的第一道屏障,研究表明,当肠黏膜屏障破坏时,肠黏膜损伤标志物DAO、LPS、D-LA间接反映肠黏膜通透性变化及肠屏障损伤程度^[12]。同时,Claudin-1、ZO-1和Occludin是肠黏膜免疫中的3个关键蛋白,对维持肠道上皮的致密性有重要意义^[13]。

DAO广泛存在于肠道绒毛上层中,是肠道黏膜细胞的标志酶。正常情况下血液中DAO含量极少,但当肠道黏膜上皮细胞损伤时,DAO释放入血导致血液中水平增高,反映肠上皮细胞完整性被破坏^[14]。LPS是革兰氏阴性细菌细胞外壁的组织成分,在生理状态下,完整的黏膜屏障对LPS有防御作用,当肠道菌群失调时,肠道屏障通透性增加,LPS进入血液,激活炎症反应^[15]。生理状态下D-LA无法穿透肠道屏障进入血液循环,当肠道屏障受损时D-LA进入血液循环,D-LA水平升高被认为是肠道黏膜屏障受损的敏感指标^[16]。与D-LA相对应的是肠黏膜免疫关键蛋白Claudin-1、ZO-1、Occludin。Claudin-1在正常结肠上皮细胞内稳态起关键作用,ZO-1、Occludin被认为是连接肠道紧密连接的关键,三者维持肠道上皮及紧密连接完整性起关键作用^[17]。本研究也发现模型组血清DAO、D-LA和LPS含量均显著升高,表明此时脾虚型DGP大鼠肠黏膜通透性增加,肠屏障受损,Claudin-1、ZO-1和Occludin表达均显著下降,证明DGP紧密连接被破坏,肠道屏障完整性降低。而通过HPS干预,血清中DAO、D-LA和LPS含量降低,Claudin-1、ZO-1和Occludin蛋白及mRNA表达均显著升高,HPS干预效果虽然没有量效间关系,但总以HPS高剂量效果最佳。

本研究提示:HPS降低血清中DAO、D-LA和LPS含量,上调回肠组织中Claudin-1、ZO-1和Occludin mRNA及蛋白表达,降低肠黏膜损伤,维护脾虚型DGP大鼠肠道屏障完整性。

参考文献:

[1] AHMED M S O, FORDE H, SMITH D. Diabetic gastroparesis;

Clinical features, diagnosis and management[J]. *Ir J Med Sci*, 2023,192(4):1687—1694.

[2] 陈琼,沈贤敏,王斐,等. 中医药治疗糖尿病胃轻瘫作用机制的研究现状[J]. *中国临床药理学杂志*, 2024,40(3):459—463.

[3] 杨旭,岳仁荣,徐萌,等. 探讨糖尿病胃轻瘫大鼠肠道菌群失衡致免疫功能失调的机制研究及半夏泻心汤的干预作用[J]. *中药药理与临床*, 2019,35(2):17—21.

[4] 张倩,万生芳,张磊,等. 基于干细胞生长因子/酪氨酸激酶受体信号通路探讨红芪多糖治疗糖尿病胃轻瘫大鼠的作用[J]. *中国临床药理学杂志*, 2023,39(12):1758—1762.

[5] 魏昭晖,万生芳,舒畅,等. 红芪多糖对糖尿病胃轻瘫大鼠小肠组织c-kit、Cx43基因和蛋白表达的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2020,27(8):46—50.

[6] 魏昭晖,李荣科,张磊,等. 基于多因素建模法改良脾胃气虚型糖尿病胃轻瘫大鼠模型制备方法研究[J]. *中医药信息*, 2024,41(7):7—12.

[7] 贾二霞,徐娜,李帅,等. 维生素D介导MEK/ERK通路对妊娠糖尿病大鼠心肌损伤的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2024,40(7):1014—1018.

[8] 李泽,谭军,明秋丽,等. 5'-N-乙酰氨基基腺苷对大鼠脑缺血再灌注氧化损伤和脑组织miR-29b、miR-125b水平的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2024,40(10):1448—1452.

[9] 袁超,孔思琪,梁建庆,等. 基于PI3K/Akt/mTOR信号通路探讨归芪益元膏联合顺铂治疗Lewis肺癌的作用[J]. *中国临床药理学杂志*, 2024,40(10):1424—1428.

[10] 李晓晓,白艳杰,张铭,等. 通督醒神针刺法对血管性痴呆大鼠p38MAPK磷酸化及炎症反应的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2024,44(10):2429—2434.

[11] 房春娟,姜雯雯,马丹丹,等. 黄芩苷保护2型糖尿病大鼠的肠黏膜屏障损伤的作用及机制[J]. *中国临床药理学杂志*, 2023,39(21):3121—3124.

[12] WANG G, LI X, ZHAO J, et al. Lactobacillus casei CCFM419 attenuated type 2 diabetes via gut microbiota dependent mechanism[J]. *Food Funct*, 2017,8(9):3155—3164.

[13] 孔灿,徐鹏远. 肠屏障功能受损评估指标的研究进展[J]. *医学综述*, 2017,23(17):3348—3353.

[14] LINSALATA M, RIEZZO G, D'ATTOMA B, et al. Noninvasive biomarkers of gut barrier function identify two subtypes of patients suffering from diarrhoea predominant-IBS: A case-control study[J]. *BMC Gastroenterol*, 2018,18(1):167—180.

[15] 廖慧敏. Graves病患者肠道屏障损伤循环标志物水平的特征与关联分析[D]. 广东广州:南方医科大学,2022.

[16] CAMARA-LEMARROY C R, SILVA C, GREENFIELD J, et al. Biomarkers of intestinal barrier function in multiple sclerosis are associated with disease activity[J]. *Mult Scler*, 2020,26(11):1340—1350.

[17] 王波,陈艳萍,张立德,等. 中药槐花对溃疡性结肠炎小鼠肠道黏膜通透性的实验研究[J]. *中华中医药学刊*, 2024,42(9):158—161,286—288.

(收稿日期 2024-07-26)