

浒苔硫酸化鼠李聚糖缓解葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎作用研究

杨德昭¹, 孙海红², 刘钟毓¹, 李惠汝¹, 张楚乔¹, 程昭菁¹, 李红燕^{1*}

¹青岛科技大学生物工程学院, 山东 青岛

²青岛农业科学研究院, 山东 青岛

收稿日期: 2026年5月7日; 录用日期: 2026年7月7日; 发布日期: 2026年7月16日

摘要

为探究浒苔多糖对溃疡性结肠炎的影响。本研究采用冷水提法从浒苔中提取多糖, 经分离纯化得到浒苔多糖(EP), 其分子量为132.6 kDa, 总糖含量为64.6%, 硫酸基含量为15.1%。单糖组成分析发现EP主要由鼠李糖组成, 其次还含有葡萄糖和阿拉伯糖。在葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的溃疡性结肠炎小鼠模型中, EP干预可显著改善小鼠体重、结肠长度及DAI评分, 修复结肠组织病理损伤, 减少炎性浸润并保护杯状细胞。EP能够上调紧密连接蛋白ZO-1和occludin的表达, 增强肠道屏障功能; 还能通过抑制NLRP3激活, 下调促炎因子TNF- α 和IL-1 β 水平, 并促进抗炎因子IL-10的分泌, 从而缓解肠道炎症反应。同时, EP可有效增加肠道菌群的多样性, 降低厚壁菌门/拟杆菌门比例, 促进*Faecalibaculum*和*Lactococcus*等有益菌增殖, 抑制*Escherichia-Shigella*和*Staphylococcus*等致病菌生长, 从而重塑肠道微生态。综上, 浒苔多糖EP可通过修复肠道屏障、抑制炎症反应、调节肠道菌群等, 有效缓解DSS引起的结肠炎症。研究结果为浒苔多糖改善溃疡性结肠炎提供实验数据, 为浒苔资源高值化利用提供理论依据。

关键词

溃疡性结肠炎, 硫酸化鼠李聚糖, 抗炎活性, 肠道屏障, 肠道菌群

Study on the Alleviative Effect of the Sulfated Rhamnan from *Enteromorpha prolifera* on Dextran Sulfate Sodium-Induced Ulcerative Colitis

Dezhao Yang¹, Haihong Sun², Zhongyu Liu¹, Huiru Li¹, Chuqiao Zhang¹, Zhaojing Cheng¹, Hongyan Li^{1*}

*通讯作者。

文章引用: 杨德昭, 孙海红, 刘钟毓, 李惠汝, 张楚乔, 程昭菁, 李红燕. 浒苔硫酸化鼠李聚糖缓解葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎作用研究[J]. 生物医学, 2026, 16(4): 735-748. DOI: 10.12677/hjbm.2026.164075

Abstract

To investigate the effect of *Enteromorpha prolifera* polysaccharide on ulcerative colitis. In this study, *E. prolifera* polysaccharide (EP) was extracted and purified from *E. prolifera* by cold water extraction. EP had a molecular weight of 132.6 kDa, a total sugar content of 64.6%, and a sulfate group content of 15.1%. Monosaccharide composition analysis revealed that EP was mainly composed of rhamnose, followed by glucose and arabinose. In a mouse model of ulcerative colitis induced by dextran sulfate sodium (DSS), EP intervention significantly improved body weight, colon length, and DAI score, repaired colonic histopathological damage, reduced inflammatory infiltration, and protected goblet cells. EP upregulated the expression of tight junction proteins ZO-1 and occludin to enhance intestinal barrier function. It also alleviated intestinal inflammation by inhibiting NLRP3 activation, downregulating the levels of pro-inflammatory cytokines TNF- α and IL-1 β , and promoting the secretion of anti-inflammatory cytokine IL-10. Meanwhile, EP effectively increased the diversity of gut microbiota, decreased the Firmicutes/Bacteroidetes ratio, promoted the proliferation of beneficial bacteria such as *Faecalibaculum* and *Lactococcus*, and inhibited the growth of pathogenic bacteria including *Escherichia-Shigella* and *Staphylococcus*, thereby remodeling intestinal microecology. In conclusion, *E. prolifera* polysaccharide EP can effectively alleviate DSS-induced colitis by repairing the intestinal barrier, suppressing inflammatory responses, and regulating gut microbiota. These findings provide experimental data for the application of *E. prolifera* polysaccharide in ameliorating ulcerative colitis and a theoretical basis for the high-value utilization of *E. prolifera* resources.

Keywords

Ulcerative Colitis, Sulfated Rhamnan, Anti-Inflammatory Activity, Intestinal Barrier, Gut Microbiota

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

溃疡性结肠炎(Ulcerative Colitis, UC)是一种慢性、反复发作的肠道炎症性疾病,主要表现为腹痛、腹泻以及便血等症状,结肠炎的发病机制与肠道菌群失调和结肠屏障损伤有关[1]。临床治疗药物,如皮质类固醇、5-氨基水杨酸盐和免疫抑制剂等,在治疗结肠炎的同时,伴随着严重的毒副作用[2]。近年来,天然多糖因其优异的抗炎活性和良好的生物安全性而备受关注。

研究发现,在葡聚糖硫酸钠(Dextran Sulfate Sodium, DSS)诱导的小鼠结肠炎模型中,硫酸化多糖能够通过调节炎症因子的表达、修复肠道屏障功能损伤和调控肠道菌群缓解结肠炎症。例如,马尾藻中硫酸化岩藻多糖可缓解结肠组织损伤、减少促炎因子 TNF- α 和 IL-1 β 的分泌,减轻肠道炎症[3]。在结肠炎小鼠模型中,江蓠硫酸半乳聚糖可通过促进蛋白 ZO-1、occludin 和 MUC2 的表达,来保护肠道屏障功能[4]。

海带硫酸化岩藻多糖能够增加肠道菌中阿克曼氏菌属(*Akkermansia*)和乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)的丰度,减少致病菌埃希氏菌-志贺菌属(*Escherichia-Shigella*)和肠球菌属(*Enterococcus*)的数量[5],缓解结肠炎小鼠的肠道菌群失调。综上,海洋来源的硫酸化多糖在调节肠道菌群、增强肠道屏障功能、缓解肠道炎症方面发挥着重要的作用。

浒苔为绿藻门石莼科石莼属藻类,具有软坚散结、利水消肿、清热解毒等作用[6],广泛分布在我国江苏、浙江、福建、山东等沿海地区。研究表明,浒苔富含多糖、多酚、黄酮等活性成分,浒苔中的多糖主要为硫酸化鼠李聚糖[7]。浒苔多糖具有抗炎、抗肿瘤、抗氧化及调节肠道菌群等多种活性[6]。然而,关于浒苔多糖对 UC 的缓解作用研究较少。

因此,本研究通过冷水提取法从浒苔中提取多糖,对多糖的理化性质、单糖组成、分子量等进行表征;建立 DSS 诱导的溃疡性结肠炎小鼠模型,从组织病理学、炎症应激、肠道屏障功能及肠道菌群等方面探究浒苔多糖对结肠炎的缓解作用,为海洋硫酸化多糖改善结肠炎提供理论依据。

2. 实验部分

2.1. 材料与仪器

浒苔,青岛海大生物集团股份有限公司;透析袋(截留分子量 3500),上海源叶生物科技有限公司;普鲁兰分子量标准品(6.3、9.8、22、49.7、107、216、348 及 739 kDa),日本昭和电工株式会社;古洛糖醛酸、甘露糖醛酸、甘露糖、葡萄糖胺、半乳糖醛酸、葡萄糖醛酸、半乳糖、葡萄糖、鼠李糖、阿拉伯糖、木糖和岩藻糖,美国 Sigma 公司;ZO-1、occludin、 β -actin、HRP 标记的山羊抗兔 IgG 抗体,武汉赛维尔生物科技有限公司;NLRP3 抗体,沈阳万类生物科技有限公司;葡聚糖硫酸钠(DSS, 36~50 kDa),美国 MP Biomedical 公司;ELISA 检测试剂盒(TNF- α 、IL-1 β 和 IL-10),上海樊克威生物技术有限公司;DNA 提取试剂盒,德国凯杰。

7 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠(体重 20~22 g),济南朋悦实验动物繁育有限公司(许可证号:SCXK(鲁)2023 0002)。

DHG-9036A 型电热恒温鼓风干燥箱,上海精宏实验设备有限公司;TGL-20K 型台式高速离心机,上海安亭科学仪器厂;Entris II 型电子天平,德国赛多利斯公司;JB-L5 型组织包埋机,武汉俊杰电子有限公司;SM2010R 型病理切片机,上海徕卡仪器有限公司;DYCZ-24DN 型垂直电泳仪、WD-9405F 脱色摇床,北京六一生物科技有限公司;DSX1000 型光学显微镜,日本奥林巴斯株式会社;Nicolet iS 10 傅里叶变换红外光谱仪、Multiskan FC 型酶标仪,美国赛默飞科技公司;高效液相色谱仪,美国安捷伦科技有限公司;Heidolph 旋转蒸发仪,德国海道尔夫公司。

2.2. 浒苔多糖的提取与分离纯化

将浒苔藻体烘干粉碎,称取 100 g 干粉,按料液比 1:15 加入蒸馏水,室温提取 2 h,以 4000 r/min 离心 5 min。所得滤渣重复提取 1 次。合并提取液并浓缩,加入 95%乙醇进行醇沉,使其终浓度达 75% (v/v)。4℃冰箱静置过夜,离心将沉淀重新溶于蒸馏水,在截留分子量为 3500 Da 的透析袋中透析 72 h,浓缩后冷冻干燥,得到冷水提浒苔粗多糖。

称取 300 mg 浒苔粗多糖,溶于 10 mL 蒸馏水中,采用 Q Sepharose Fast Flow 强阴离子交换色谱柱(2.6×40 cm)分离,以蒸馏水、0.5、1.0 和 2.0 mol/L NaCl 溶液依次进行洗脱,自动收集器收集洗脱液,硫酸-苯酚法检测收集多糖组分[8]。经浓缩、透析、冷冻干燥,得浒苔多糖组分 EP0、EP0.5 和 EP1 (图 1(a))。

采用 Sephacryl S-400 HR 凝胶渗透色谱柱(2.6×100 cm)对得率最高的多糖组分 EP1 进行进一步纯化,

以 0.1 mol/L 的 NH_4HCO_3 溶液洗脱, 硫酸 - 苯酚法检测, 收集多糖组分(图 1(b)), 冷冻干燥得浒苔多糖 (*Enteromorpha prolifera* polysaccharide, EP)。

2.3. 理化性质检测

以鼠李糖为标准品, 采用苯酚 - 硫酸法测定 EP 的总糖含量; 以牛血清白蛋白为标准品, 采用福林酚法测定 EP 中蛋白质含量; 以葡萄糖醛酸为标准品, 采用硫酸咔唑法测定 EP 中糖醛酸含量; 以硫酸钾为标准品, 采用氯化钡 - 明胶比浊法测定 EP 中硫酸基含量[8]。

2.4. 单糖组成测定

采用 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(1-Phenyl-3-methyl-5-pyrazolone, PMP)柱前衍生 - 高效液相色谱法测定多糖的单糖组成, 参照 Li 等[9]的方法稍加调整。取 2 mg 多糖样品, 加 2 mL 2 mol/L 三氟乙酸, 105℃ 水解 8 h, 加入 120 μL PMP 和 100 μL 0.3 mol/L 的 NaOH 溶液, 70℃ 水浴加热 1 h, 加入 100 μL 0.3 mol/L 的 HCl 溶液终止反应。二氯甲烷萃取, 上清液经 0.22 μm 滤膜过滤后进样。色谱条件: ZORBAX SB-C18 柱(4.6 mm $\times$ 250 mm), 流动相为 pH 6.7 磷酸盐缓冲液 - 乙腈(83:17), 柱温 35℃, 流速 1.0 mL/min, 进样量为 10 μL , 检测波长 245 nm。甘露糖(Man)、氨基葡萄糖(GlcN)、鼠李糖(Rha)、葡萄糖醛酸(GlcA)、半乳糖醛酸(GalA)、葡萄糖(Glc)、半乳糖(Gal)、木糖(Xyl)、阿拉伯糖(Ara)和岩藻糖(Fuc)等单糖标准品在相同条件下进行衍生和检测。通过分析单糖标准品的出峰时间和峰面积, 对样品的单糖组成和摩尔比进行分析。

2.5. 分子量测定

采用高效凝胶渗透色谱法(HPGPC)测定多糖的分子量, 参照 Li 等[9]的方法并稍加修改。配制 5 mg/mL 多糖溶液进行分析, 色谱条件为: Shodex SB-804 色谱柱(7.8 mm $\times$ 30.0 cm), 以 0.1 mol/L 硫酸钠为流动相, 进样量为 10 μL , 流速为 0.6 mL/min, 柱温为 40℃, 使用示差折光检测器进行检测。配制 5 mg/mL 普鲁兰标准品溶液(6.3、9.8、22、49.7、107、216、348、739 kDa)以其分子量对数为纵坐标, 保留时间为横坐标, 绘制标准曲线, 计算多糖样品的分子量。

2.6. 傅里叶红外光谱测定

采用 KBr 压片法[10], 将浒苔多糖与干燥的 KBr 混合, 研磨细碎, 压片后利用 Nicolet iS 10 傅里叶变换红外光谱仪在 4000~400 cm^{-1} 范围内对样品进行检测。

2.7. 动物实验与分组设计

小鼠饲养在温度为 25℃ $\pm$ 0.5℃、湿度 40%~60%、光暗交替 12/12 h 的 SPF 级小鼠房中。适应性喂养一周, 自由摄食饮水, 将小鼠随机分为四组($n = 8$): 阴性对照组(Control)、模型组(Model)、阳性对照组(Positive)和浒苔多糖组(EP)。除正常组外, 其余各组小鼠连续 5 d 饮用含 3% DSS 的饮水诱导结肠炎。同时, 参考预实验结果, 阳性对照组与浒苔多糖组小鼠分别灌胃 50 mg/kg 的 5-氨基水杨酸(5-Amino Salicylic Acid, 5-ASA)和 EP, 持续 8 d (图 2(a))。在实验期间, 每天记录小鼠的体重变化、粪便状态和便血情况, 评价疾病活动指数(Disease Activity Index, DAI) [5]。实验结束后, 小鼠腹腔注射戊巴比妥钠麻醉后眼球取血, 颈椎脱臼处死小鼠并收集结肠组织和结肠内容物等进行分析。

2.8. 组织病理学染色

将经 4%多聚甲醛固定的结肠组织进行石蜡包埋, 并切成 4 μm 薄片。切片经二甲苯脱蜡和梯度酒精

水化后,用苏木素-伊红(H&E)和阿利新蓝(AB)进行染色,染色后切片经梯度酒精脱水、二甲苯透明和中性树胶封片后,于光学显微镜下观察并拍照。

2.9. 免疫组化染色

结肠组织切片脱蜡和复水后,在柠檬酸钠缓冲液(pH = 6.0)中修复抗原,以 3%过氧化氢溶液避光阻断内源性过氧化物酶。用 5%山羊血清封闭 30 min 阻断非特异性结合点。依次以一抗 ZO-1、occludin 及 MUC2 和生物素标记的羊抗兔 IgG 抗体进行孵育。通过 3,3'-二氨基联苯胺显色,采用光学显微镜观察并分析。

2.10. 结肠炎症因子检测

将结肠组织置于预冷 PBS 中匀浆,在 4℃, 8000 r/min 离心 10 min,收集上清液,采用 BCA 法测定蛋白质含量,按照 ELISA 试剂盒说明书,检测小鼠结肠组织中炎症因子(TNF- α 、IL-1 β 和 IL-10)的水平。

2.11. 蛋白免疫印迹试验

将结肠组织置于 RIPA 裂解液中匀浆,裂解物在 10000 r/min、4℃条件下离心 10 min,收集上清液。使用 BCA 蛋白测定试剂盒测定总蛋白含量,然后通过 10%聚丙烯酰胺凝胶电泳进行蛋白分离,并转印至 PVDF 膜。5%脱脂奶粉封闭膜 30 min, TBST 进行洗涤,以 NLRP3 及 β -actin 抗体室温孵育 2 h, TBST 再次洗涤。加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗,在室温下孵育 2 h,再用 TBST 进行洗涤,DAB 显色剂显色后,通过凝胶成像系统拍照,Image J 软件扫描蛋白条带的灰度值并分析。

2.12. 肠道菌群高通量测序

采用 DNA 提取试剂盒从小鼠肠道内容物提取肠道菌群的总基因组。以 338F 和 806R 引物扩增肠道菌 16S rDNA 的 V3-V4 可变区域。在 Illumina Miseq PE300 平台上测序,通过上海美吉生物云平台进行数据分析。对肠道菌群的 α 多样性、 β 多样性和维恩图进行分析作图,通过群落柱状图来评估门水平和属水平的肠道菌群结构。采用线性判别分析效应量(LEfSe)和热图分析各组间差异肠道菌的丰度和组成。

2.13. 数据处理

数据以平均值 $\pm$ 标准差(SD)表示,采用 GraphPad Prism 9.0 软件对数据进行统计学分析。数据采用单因素方差分析,用 Tukey 进行多重比较检验, $P < 0.05$ 被认为具有显著性差异。

3. 结果与分析

3.1. 多糖 EP 的结构表征

采用冷水提取法从浒苔中提取多糖,其得率为 11.0%。多糖经透析后,采用 Q Sepharose Fast Flow 阴离子交换色谱柱与 Sephacryl S-400 HR 凝胶渗透色谱柱分离纯化,得到均一的多糖组分 EP。理化性质分析显示,EP 的总糖含量为 64.6%,糖醛酸含量为 14.3%,蛋白质含量为 3.6%,硫酸基含量为 15.1%。HPGPC(图 1(c))分析发现 EP 的分子量为 132.6 kDa。HPLC 分析(图 1(d)、图 1(e))显示,EP 主要由鼠李糖、葡萄糖和阿拉伯糖组成,摩尔比为 2.63:1.45:1。在红外光谱(图 1(f))中,3420 cm^{-1} 波数为糖环 O-H 的伸缩振动峰。2920 cm^{-1} 与 1620 cm^{-1} 波数分别归属于 C-H 和 C=O 的伸缩振动峰[9]。1254 cm^{-1} 与 852 cm^{-1} 波数分别为硫酸基 S=O 与 C-O-S 的伸缩振动峰,这表明多糖 EP 中硫酸基团的存在[5]。在 1612 cm^{-1} 与 1428 cm^{-1} 波数分别对应羰基 C=O 与 C-O 的伸缩振动峰[4],这说明 EP 中含有糖醛酸。综上,EP 主要为含有糖醛酸的硫酸化鼠李聚糖。

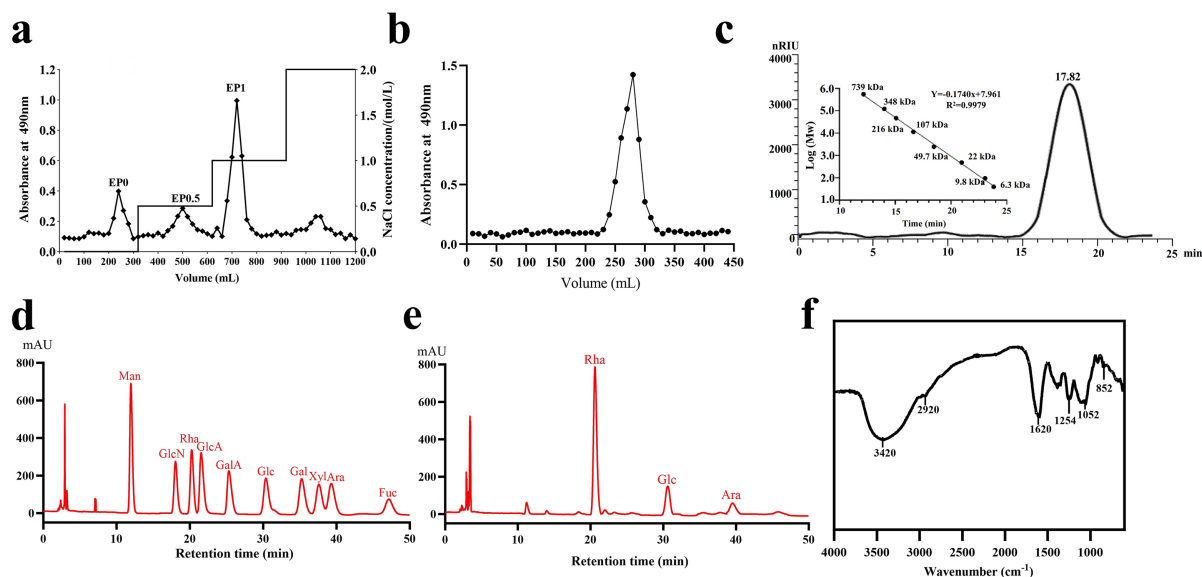


Figure 1. Isolation, purification and structural characterization of EP. Q Sepharose Fast Flow chromatogram detected by sulfuric acid-phenol method (a) and Sephacryl S-400HR gel permeation chromatogram of polysaccharide EP1 detected by sulfuric acid-phenol method (b), HPGPC chromatogram of polysaccharide EP (c), HPLC chromatograms of monosaccharide standards (d) and EP (e), Fourier transform infrared spectrum of polysaccharide EP (f)

图 1. 浒苔多糖的分离纯化及结构表征。Q Sepharose Fast Flow 色谱柱硫酸-苯酚检测曲线(a)和多糖 EP1 的 Sephacryl S-400HR 凝胶渗透色谱柱硫酸-苯酚检测曲线(b)、多糖 EP 的 HPGPC 色谱图(c)、单糖标准品(d)和 EP (e) 的 HPLC 色谱图、多糖 EP 红外光谱图(f)

3.2. EP 对结肠炎小鼠表观指标的影响

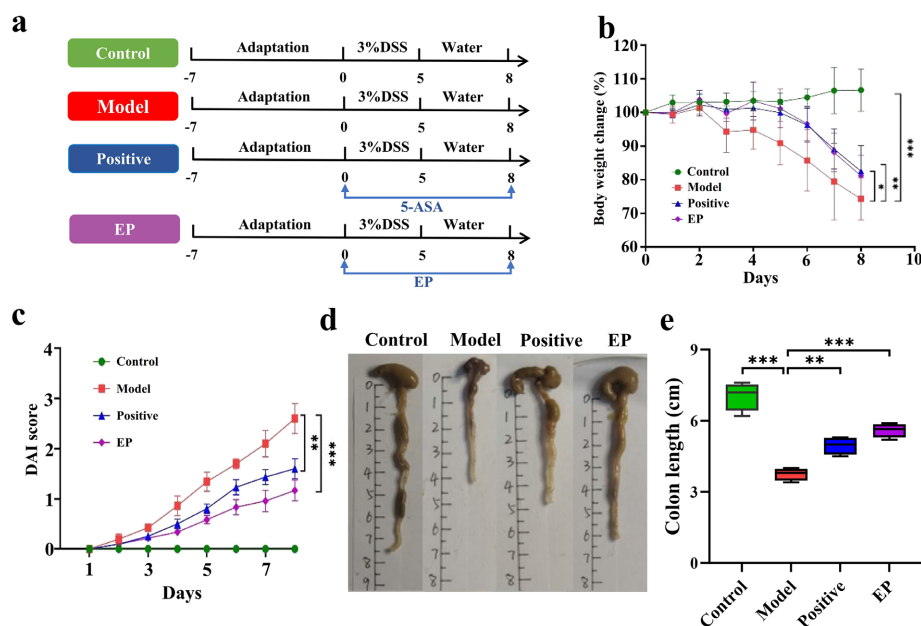


Figure 2. EP improved the clinical symptoms of colitis mice. Mice experiment design diagram (a); Body weight change (b), DAI score (c); Representative pictures of colon tissues (d), Colon length (e). All data were shown as the mean $\pm$ SD. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

图 2. 多糖 EP 改善小鼠结肠炎症状表观指标分析。动物实验流程图(a)、小鼠体重(b)、DAI 评分(c)、结肠组织代表性照片(d)、结肠长度(e)。所有数据以平均值 $\pm$ 标准差表示, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

小鼠体重减轻、精神不济、粪便稀疏松散、血便等是溃疡性结肠炎建模成功的典型特征[3]。如图 2(b) 所示,在实验期间,Control 组小鼠的体重随着时间延长呈持续上升趋势,Model 组在给予 DSS 后,小鼠体重持续降低,至第 8 天时体重下降至初始水平的约 74%,经灌胃 5-ASA 和 EP 后,小鼠体重的下降趋势均有所减缓,且两组小鼠的体重变化趋势相似。疾病活动指数(DAI)可反映结肠炎小鼠肠道炎症状态[11]。如图 2(c)所示,在实验期间,所有给予 DSS 的小鼠,其 DAI 评分呈增长趋势,而与 Model 组相比,EP 组和 Positive 组小鼠的 DAI 评分上升趋势明显减缓,并且显著低于 Model 组。结肠缩短是肠道炎症引发的典型病理特征[12]。相较于 Control 组,Model 组小鼠结肠长度显著缩短,EP 组和 Positive 组小鼠结肠缩短现象明显减轻,且 EP 组小鼠的结肠形态更接近 Control 组(图 2(d)、图 2(e))。上述结果表明,EP 可显著改善 DSS 诱导结肠炎小鼠的体重下降、DAI 评分升高和结肠缩短等表现症状,且 EP 的作用优于 5-ASA。

DSS 能够引起肠道炎症反应、肠黏膜及肠上皮细胞受损,导致食物摄入减少和营养吸收受损,从而引起小鼠体重下降、DAI 评分升高和结肠长度缩短等症状[13]。而 EP 处理改善了这些症状,提示 EP 可能通过抑制肠道炎症,保护肠道黏膜完整性等途径发挥保护作用。已有研究发现,石莼来源的硫酸化鼠李聚糖能够抑制 DSS 引起的炎症反应,促进肠道杯状细胞和黏蛋白 MUC2 的表达,修复了肠道黏液层,并有效减轻了结肠炎小鼠的体重下降[14],这与我们的研究结果相一致,此外,结肠缩短多由炎症引发的组织损伤和细胞凋亡导致,马尾藻来源的硫酸化岩藻多糖可通过抑制促炎因子的表达和改善上皮细胞的增殖,缓解结肠炎小鼠结肠组织的缩短[3]。

3.3. 结肠组织病理学分析

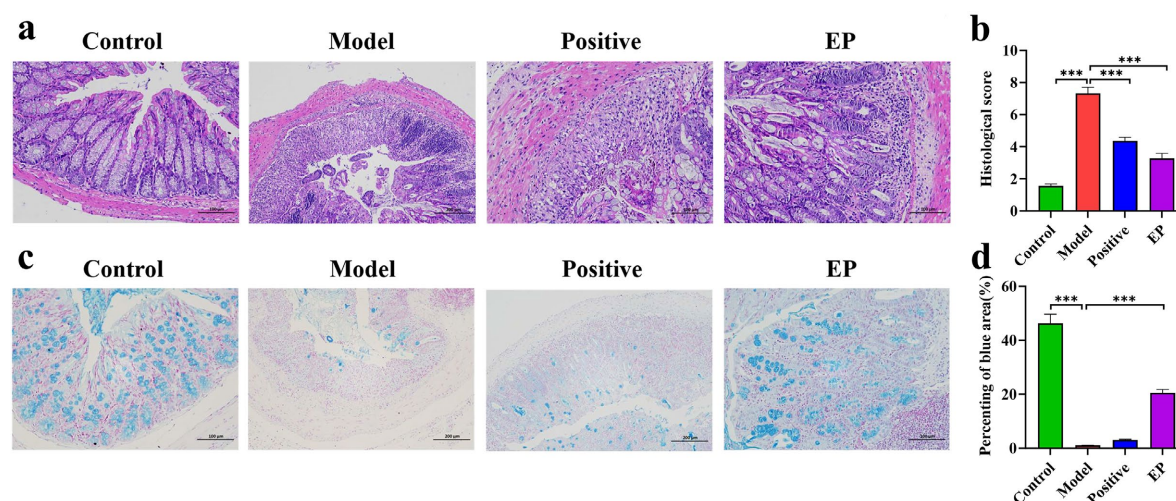


Figure 3. Effect of EP on histopathology changes of colon tissues of colitis mice. Images of H&E staining (a) and histopathological scores (b); Images of Alcian blue staining (c) and percentage of AB positive staining area (d). All data were shown as the mean $\pm$ SD. *** $p < 0.001$

图 3. 多糖 EP 对结肠炎小鼠结肠组织病理变化的影响。H&E 染色(a)及病理学评分(b); AB 染色(c)及染色阳性面积比例(d)。数据以平均值 $\pm$ 标准差表示, *** $p < 0.001$

采用 H&E 与 AB 染色评估多糖 EP 对小鼠结肠组织病理学损伤的改善情况。由图 3(a)、图 3(b)可知,Control 组小鼠结肠组织结构完好,上皮组织完整且隐窝边界清晰,而 Model 组小鼠结肠组织呈现严重的病理损伤,包括上皮结构破坏和显著的炎性细胞浸润,组织病理学评分显著升高。与 Model 组相比,EP 组小鼠结肠组织隐窝结构与整体形态明显改善,炎性细胞浸润显著减少。AB 染色(图 3(c)、图 3(d))发现,

与 Control 组相比, Model 组中 AB 染色阳性细胞即杯状细胞的数量明显减少。而 EP 干预后 AB 染色阳性面积增多, 杯状细胞数量明显增加, 且 EP 对杯状细胞的改善作用优于 5-ASA。以上结果表明, EP 干预能有效修复 DSS 引起的结肠组织病理学损伤。肠道黏液屏障受损与肠上皮细胞完整性破坏是溃疡性结肠炎黏膜损伤的核心病理特征[13]。肠道黏液屏障中重要的功能性成分 - 黏蛋白主要由杯状细胞合成和分泌, 杯状细胞数量在保护肠黏液屏障, 缓解肠道炎症中发挥着重要的作用[15]。研究发现, 裙带菜来源的硫酸化岩藻多糖显著改善 DSS 导致的结肠黏膜溃疡的发生与肠上皮组织的损伤[16]。石莼来源的硫酸化鼠李聚糖能够缓解杯状细胞的病理变化, 促进黏液层的修复, 减少炎症细胞浸润[14]。这进一步提示, 硫酸化多糖在保护结肠组织完整性和杯状细胞中发挥着重要作用。

3.4. 肠道屏障分析

肠道屏障完整性对于抵抗肠道炎症反应至关重要。通过免疫组化染色, 对小鼠肠道屏障功能进行评价。从图 4 可知, Control 组小鼠结肠组织中紧密连接蛋白 ZO-1 和 occludin 呈现高表达, 说明正常组小鼠结肠组织机械屏障功能完整。而给予 DSS 后, Model 组小鼠结肠组织中 ZO-1 和 occludin 的表达水平显著降低, 这表明 DSS 可引起结肠组织机械屏障功能损伤。而 EP 组小鼠结肠组织中 ZO-1 和 occludin 的含量相较于 Model 组显著增加。结果表明, EP 能够有效改善 UC 小鼠肠道屏障损伤。

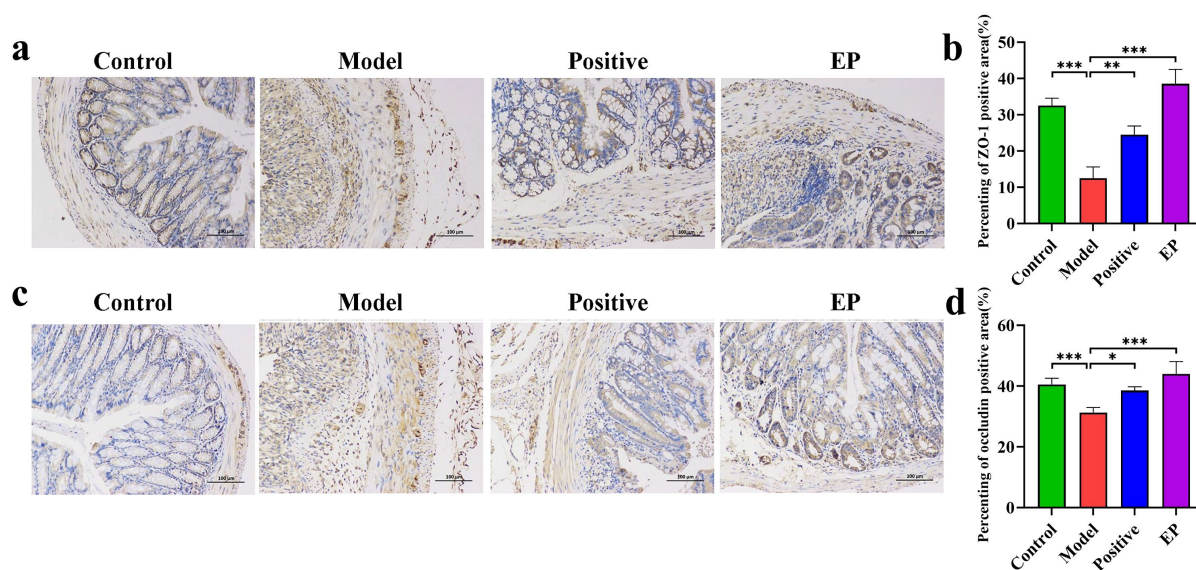


Figure 4. Effects of EP on intestinal barrier changes in colitis mice colon tissues. Immunostaining images of tight junction protein ZO-1 (a) and statistical analysis of ZO-1 positive area (b); Immunostaining images of occluding (c) and statistical analysis of occludin positive area (d). All data were shown as the mean $\pm$ SD. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

图 4. 多糖 EP 对结肠炎小鼠机械屏障的影响。紧密连接蛋白 ZO-1 免疫组化染色(a)及统计学分析(b); occludin 免疫组化染色(c)及统计学分析(d)。数据以平均值 $\pm$ 标准差表示, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

肠道屏障受损被认为是结肠炎的主要特征。紧密连接蛋白 ZO-1 和 occludin 的表达量减少能够增加肠道通透性和肠内细菌易位, 引发肠道炎症[17]。天然硫酸化多糖对 DSS 引起的肠道黏膜屏障损伤具有显著的改善作用。海带硫酸化岩藻多糖可通过提高结肠组织中 ZO-1 和 occludin 水平, 有效改善 DSS 诱导的肠屏障损伤[5]。EP 也可有效上调结肠炎小鼠紧密连接蛋白 ZO-1 和 occludin 的表达, 增强结肠屏障功能, 这与 Son 等[14]研究发现石莼多糖能通过上调结肠组织中 occludin 和 ZO-1 表达, 修复肠道黏膜屏障的结果一致。

3.5. 肠道炎症分析

炎症反应是导致结肠炎小鼠结肠组织损伤的重要诱因, 炎症细胞因子的异常释放会加剧肠道的炎症级联反应[3]。从图 5(a)~(c)可知, 与 Control 相比, Model 组促炎因子 TNF- α 和 IL-1 β 的表达水平显著升高, 而抗炎因子 IL-10 的水平显著下调。EP 和 5-ASA 干预后, Positive 组和 EP 组中, TNF- α 与 IL-1 β 的分泌显著减少, 而 IL-10 水平显著升高。Western blot 分析(图 5(d)、图 5(e))表明, Model 组中 NLRP3 蛋白含量相较于 Control 组显著增加, 而 5-ASA 和 EP 显著降低了 NLRP3 在结肠组织中的表达, 且 EP 的效果强于 5-ASA。这说明 EP 可通过抑制 NLRP3 的过度激活, 下调 TNF- α 和 IL-1 β 的水平, 促进 IL-10 的分泌, 缓解结肠组织炎症反应。在结肠炎模型中, IL-1 β 和 TNF- α 作为关键的炎症因子, 不仅有效激活炎症细胞, 还能够引起结肠组织损伤, 而 IL-10 作为一种抗炎因子, 发挥着调节免疫反应和缓解炎症的作用[18]。马尾藻中硫酸化岩藻多糖通过降低 IL-1 β 和 TNF- α 水平, 促进抗炎因子 IL-10 的表达, 减轻结肠炎小鼠的肠道炎症反应。NLRP3 炎症小体的激活会触发 IL-1 β 的成熟与释放, 进而进一步加剧炎症反应[4]。研究发现, 硫酸化鼠李聚糖能够通过抑制 NLRP3 炎症小体的激活, 降低 DSS 诱导结肠炎中 IL-1 β 和 TNF- α 的表达[14]。这说明, 海洋来源的硫酸化多糖可通过调节肠道 NLRP3 和炎症因子的表达水平, 缓解结肠炎。

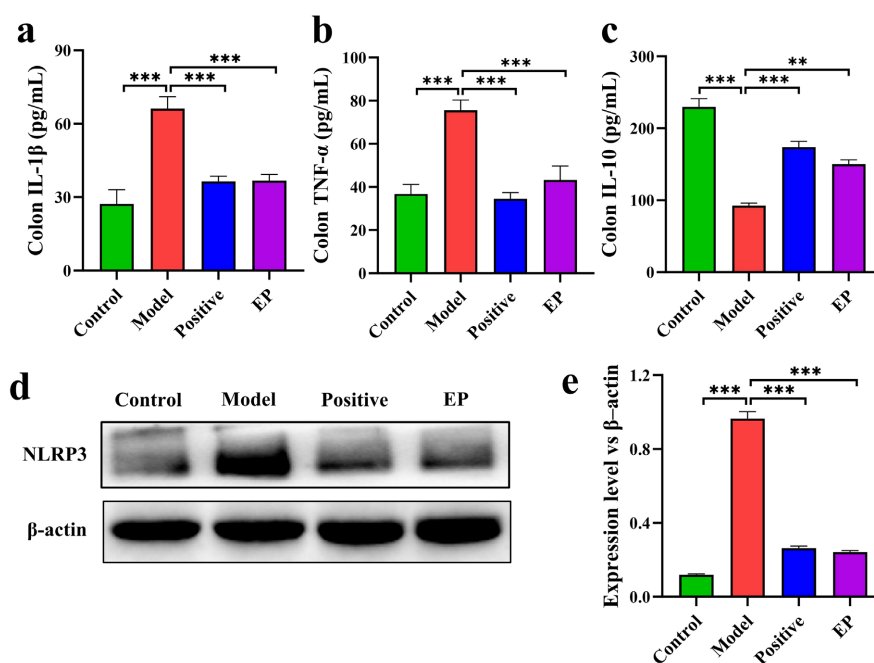


Figure 5. Effects of EP on inflammatory responses in colonic tissue of colitis mice. Expression levels of IL-1 β (a), TNF- α (b), IL-10 (c) in colon tissues of colitis mice. Western blot results of inflammation related protein NLRP3 (d) and its relative protein expression levels compared with β -actin (e). All data were shown as the mean $\pm$ SD. ** p < 0.01, *** p < 0.001

图 5. 多糖 EP 对结肠炎小鼠结肠组织炎症的影响。结肠组织中 IL-1 β (a)、TNF- α (b)、IL-10 (c) 的水平; NLRP3 蛋白免疫印迹检测(d)及相对表达量(e)。数据以平均值 $\pm$ 标准差表示, ** p < 0.01, *** p < 0.001

3.6. 肠道菌群分析

为探究浒苔多糖 EP 对结肠炎小鼠肠道菌群的调控作用, 我们对小鼠肠道内容物中菌群的 16S rDNA 进行测序分析。从图 6(a)~(d)可知, 与正常小鼠相比, DSS 引起肠道菌群的 α 多样性(Ace、Sobs、Shannon 和 Chao1 指数)显著降低, 而 EP 干预能显著改善菌群的 α 多样性。通过 PCoA 和 NMDS (图 6(e)、图 6(f)),

对肠道菌群的 β -多样性进行分析。从图中可知, Model 组与 Control 组中小鼠的肠道菌群结构呈现显著的分離, 这表明 DSS 干预可改变小鼠肠道菌群的群落结构, 而 EP 干预后, 小鼠肠道菌群的群落结构均向 Control 组趋近。维恩图分析(图 6(g))显示, Control 组、Model 组、Positive 组及 EP 组的独特菌落 OTU 数量分别为 77、29、51、48, 这进一步证实多糖 EP 可有效改善 DSS 引起的肠道菌群多样性与丰富度降低。

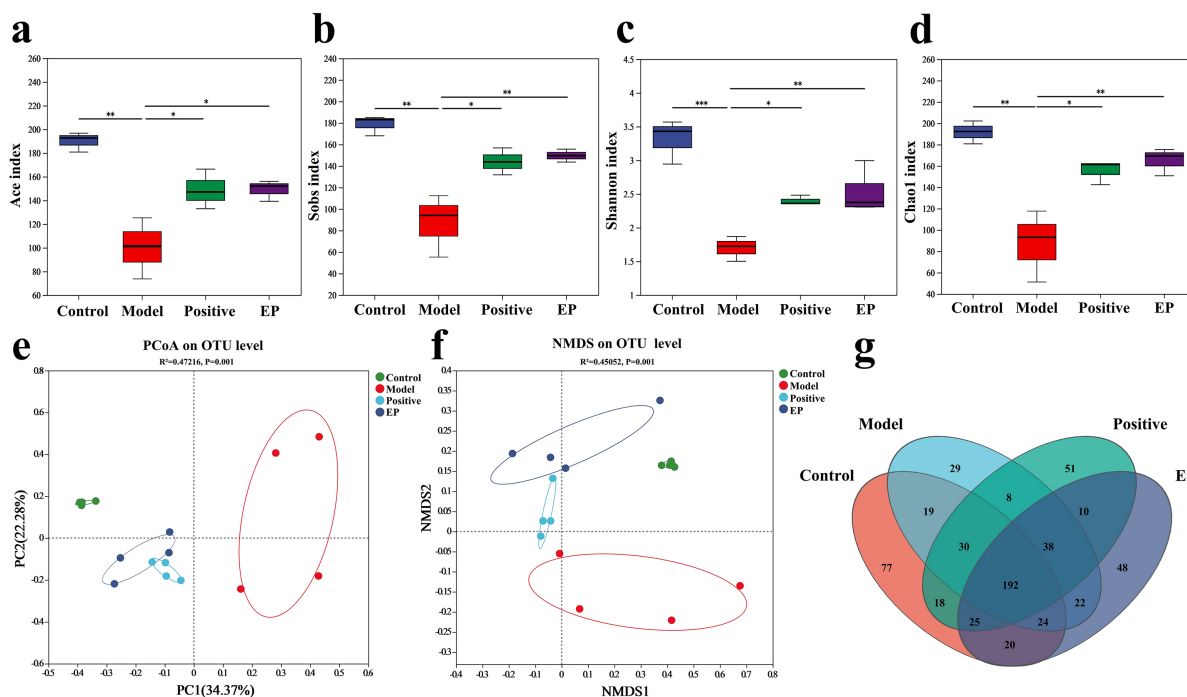


Figure 6. Effect of EP on gut microbiota of colitis mice. Alpha diversity analysis of the gut microbiota in mice: Ace index (a), Sobs index (b), Shannon index (c), and Chao1 index (d); Beta diversity analysis: PCoA (e) and NMDS at the OTU level (f); Venn diagrams (g)

图 6. 多糖 EP 对结肠炎小鼠肠道菌群的影响。肠道菌群的 α 多样性: Ace 指数(a)、Sobs 指数(b)、Shannon 指数(c)和 Chao1 指数(d); β 多样性: OTU 水平的 PCoA 分析(e)和 NMDS 分析(f); 韦恩图(g)

在门水平上, 小鼠肠道菌群组成分析如图 7(a)所示。正常小鼠的肠道菌群组成以 Firmicutes (厚壁菌门)、Actinobacteriota (放线菌门)和 Bacteroidota (拟杆菌门)为主。Model 组小鼠菌群中 Actinobacteriota (放线菌门)和 Bacteroidota (拟杆菌门)的相对丰度降低, Firmicutes (厚壁菌门)和 Proteobacteria (变形菌门)的丰度明显上升, 而 Firmicutes 与 Bacteroidota 的比值升高。Firmicutes 与 Bacteroidota 的比值(F/B 值)是评估结肠炎严重程度的重要指标, 其升高与肠道炎症的加剧呈正相关[19]。据报道, Firmicutes 和 Proteobacteria 丰度的增加与肠道屏障功能损伤和肠道炎症有关[20][21]。而 EP 干预下调了 F/B 值, 并且降低了 Proteobacteria 的相对丰度, 升高了 Actinobacteriota 的相对比例, 显著改善了小鼠肠道菌群的组成和丰度。

属水平肠道菌群组成分析表明(图 7(b)), Control 组的优势菌属为 *Lactobacillus* (乳酸杆菌属)和 *Dubosiella* (杜氏杆菌属)。DSS 处理后, Model 组中 *Lactobacillus* 与 *Dubosiella* 的相对丰度下降。其中 *Lactobacillus* 作为益生菌, 可通过促进黏蛋白和紧密连接蛋白的表达, 增强肠道屏障功能[22]。而 *Dubosiella* 可通过增加抗炎因子的分泌, 缓解肠道炎症[23]。EP 干预提高了 *Lactobacillus* 与 *Dubosiella* 的丰度, 5-ASA 表现出与多糖 EP 相似的肠道菌群调控作用。

为进一步探究 EP 处理后肠道菌群群落的组间差异, 采用 LEfSe 分析显著差异的关键菌群(图 7(c))。

从图中可知, Control 组中 *Lactobacillus* 和 *Muribaculum* (鼠杆菌属)显著富集, Model 组中 *Escherichia-Shigella* (大肠杆菌 - 志贺氏菌属)和 *Staphylococcus* (葡萄球菌属)的丰度显著升高, 而 EP 处理后, 显著变化菌属是 *Faecalibaculum* (粪杆菌属)和 *Lactococcus* (乳球菌属)。研究表明, *Escherichia-Shigella* 和 *Staphylococcus* 在正常情况下不会损害人体健康, 但当肠道菌群稳态失衡后, 其能够产生毒素, 破坏肠道黏液屏障, 增加肠道通透性, 进而诱发炎症[24] [25]。此外, *Escherichia-Shigella* 还与促炎因子 IL-1 β 和 TNF- α 的变化呈正相关[26]。而 *Faecalibaculum* 和 *Lactococcus* 可以通过提高黏蛋白的表达和增加黏液层厚度, 改善肠道黏膜屏障的完整性, 同时抑制促炎细胞因子 TNF- α 和 IL-1 β 的分泌, 并增加抗炎细胞因子 IL-10 的表达, 缓解结肠炎[27] [28]。

属水平热图分析显示(图 7(d)), Model 组中 *Escherichia-Shigella*、*Turicibacter*、*Staphylococcus* 等菌属丰度显著升高, 而 *Dubosiella*、*Faecalibaculum* 等菌属的比例显著降低。而 EP 干预降低了致病菌 *Escherichia-Shigella* 和 *Staphylococcus* 的数量, 升高了有益菌 *Dubosiella*、*Faecalibaculum* 和 *Lactococcus* 的相对丰度。这说明 EP 干预能够有效重塑 DSS 引起的肠道菌群失调。

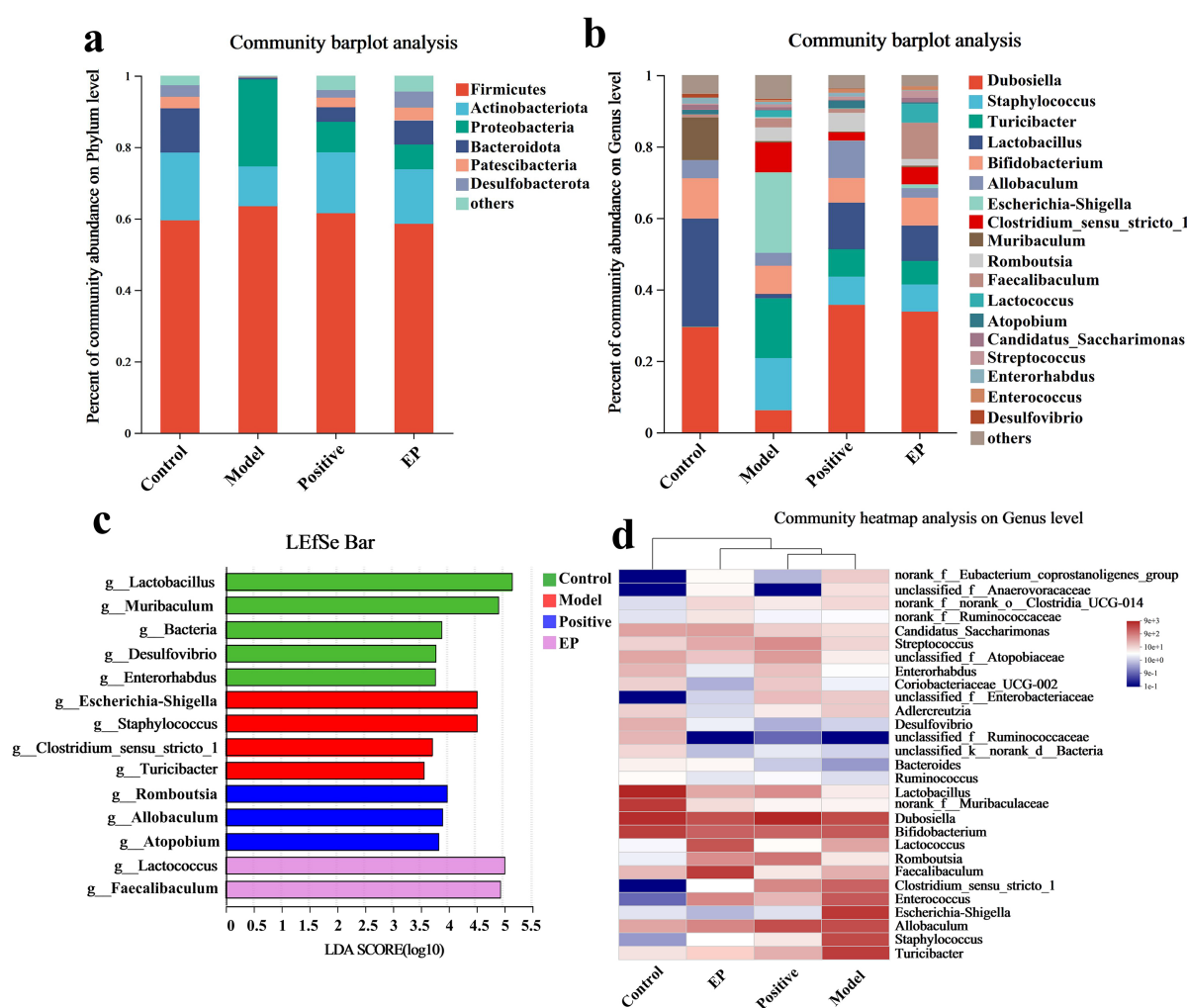


Figure 7. Effects of EP on the composition of gut microbiota in colitis mice. Relative abundance of gut microbiota at the phylum level (a) and genus level (b); Linear discriminant analysis (LDA) (c) and community heatmap (d) at the genus level

图 7. 多糖 EP 对结肠炎小鼠肠道菌群组成的影响。肠道菌群在门水平(a)和属水平(b)的相对丰度; 属水平线性判别分析(LDA) (c)和群落热图(d)

肠道菌群在维护肠道健康方面发挥着重要作用,通过调节肠道菌群稳态可有效缓解结肠炎症[19]。研究证实,硫酸化半乳聚糖通过增加有益菌的丰度,降低有害菌的比例,缓解结肠炎小鼠肠道菌群失调[29]。而浒苔多糖可显著促进 *Dubosiella* 和 *Lactococcus* 等有益菌的相对丰度,改善 DSS 引起的肠道菌群失衡[30]。这与我们的研究结果相符,EP 在提高有益菌 *Dubosiella* 和 *Lactococcus* 上存在优势,并且还能减少 UC 小鼠中致病菌 *Escherichia-Shigella* 和 *Staphylococcus* 的丰度。说明硫酸化多糖能够有效调节 DSS 引起的肠道菌群紊乱。

综上,浒苔硫酸化鼠李聚糖 EP 可通过重塑肠道微生态、增强肠道屏障功能和抑制炎症蛋白的表达有效改善 DSS 引起的肠道炎症反应。

4. 结论

本研究从浒苔中提取分离得到硫酸化鼠李聚糖 EP,其分子量为 132.6 kDa,硫酸基含量达 15.1%。在结肠炎小鼠中,EP 能够有效缓解结肠长度缩短、体重减轻及组织病理损伤等症状。EP 能够下调 NLRP3 蛋白表达,提高抗炎因子 IL-10 水平,同时抑制促炎因子 TNF- α 与 IL-1 β 分泌。EP 可促进紧密连接蛋白 ZO-1 与 Occludin 的表达增强肠道机械屏障功能。在肠道菌群调节方面,EP 能够提高 Actinobacteriota 和 Bacteroidetes 的丰度,降低 Firmicutes 和 Proteobacteria 的比例。在属水平上,EP 通过增加有益菌 *Faecalibaculum* 和 *Lactococcus* 的相对丰度,减少 *Escherichia-Shigella* 和 *Staphylococcus* 的富集,改善肠道菌群的组成和丰度。EP 通过修复结肠屏障及调控肠道菌群来缓解肠道炎症。

声 明

动物实验经青岛科技大学科技伦理委员会批准(动物实验伦理号: QUST-SYXK2025-0716)。

参考文献

- [1] 弓艳霞,唐艳萍,牛薇,刘思邈,徐阳. 溃疡性结肠炎发病机制及治疗研究进展[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2018, 24(4): 512-516.
- [2] 林轩永. 溃疡性结肠炎治疗现状及进展[J]. 临床医药文献电子杂志, 2020, 7(12): 191-193.
- [3] Chen, X., Li, X., Sun-Waterhouse, D., Zhu, B., You, L. and Hileuskaya, K. (2021) Polysaccharides from *Sargassum fusiforme* after Uv/H₂O₂ Degradation Effectively Ameliorate Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis. *Food & Function*, **12**, 11747-11759. <https://doi.org/10.1039/d1fo02708e>
- [4] Liu, X., Zhang, Y., Li, W., Zhang, B., Yin, J., Liuqi, S., et al. (2022) Fucoidan Ameliorated Dextran Sulfate Sodium-Induced Ulcerative Colitis by Modulating Gut Microbiota and Bile Acid Metabolism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **70**, 14864-14876. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c06417>
- [5] Xue, M., Ji, X., Liang, H., Liu, Y., Wang, B., Sun, L., et al. (2018) The Effect of Fucoidan on Intestinal Flora and Intestinal Barrier Function in Rats with Breast Cancer. *Food & Function*, **9**, 1214-1223. <https://doi.org/10.1039/c7fo01677h>
- [6] Wassie, T., Niu, K., Xie, C., Wang, H. and Xin, W. (2021) Extraction Techniques, Biological Activities and Health Benefits of Marine Algae *Enteromorpha prolifera* Polysaccharide. *Frontiers in Nutrition*, **8**, Article 747928. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.747928>
- [7] Zhang, S., Zhang, M., Li, W., Ma, L., Liu, X., Ding, Q., et al. (2023) Research Progress of Natural Plant Polysaccharides Inhibiting Inflammatory Signaling Pathways and Regulating Intestinal Flora and Metabolism to Protect Inflammatory Bowel Disease. *International Journal of Biological Macromolecules*, **253**, Article ID: 126799. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.126799>
- [8] Roy, D., Sobuj, M.K.A., Islam, M.S., Haque, M.M., Islam, M.A., Islam, M.M., et al. (2024) Compositional, Structural, and Functional Characterization of Fucoidan Extracted from *Sargassum polycystum* Collected from Saint Martin's Island, Bangladesh. *Algal Research*, **80**, 103542. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2024.103542>
- [9] Li, H., Xie, W., Qiao, X., Cui, H., Yang, X. and Xue, C. (2020) Structural Characterization of Arabinogalactan Extracted from *Ixeris chinensis* (Thunb.) Nakai and Its Immunomodulatory Effect on RAW264.7 Macrophages. *International Journal of Biological Macromolecules*, **143**, 977-983. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.158>

- [10] Yu, M., Xu, G., Qin, M., Li, Y., Guo, Y. and Ma, Q. (2022) Multiple Fingerprints and Spectrum-Effect Relationship of Polysaccharides from *Saposhnikovia radix*. *Molecules*, **27**, Article 5278. <https://doi.org/10.3390/molecules27165278>
- [11] 钱轩韬, 郝微微, 张尔馨, 时艺榕, 刘畅, 尚小青. 基于NLRP3探究健脾化湿颗粒对溃疡性结肠炎小鼠血管生成与黏附分子表达的影响[J/OL]. 中国实验动物学报: 1-11. <https://link.cnki.net/urlid/11.2986.q.20260411.1131.012>, 2026-06-22.
- [12] Ma, X., Wang, D., Liu, Y., Liu, B., Feng, X. and Yang, W. (2023) Transcriptomics and Experimental Validation-Based Approach to Understand the Effect and Mechanism of Huangqin Tang Interference with Colitis Associated Colorectal Cancer. *Heliyon*, **9**, e13739. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13739>
- [13] Peuhkuri, K. (2010) Even Low-Grade Inflammation Impacts on Small Intestinal Function. *World Journal of Gastroenterology*, **16**, 1057. <https://doi.org/10.3748/wjg.v16.i9.1057>
- [14] Son, S., Suh, H.J. and Shin, K. (2024) Characterization of a Novel Sulfated-Rhamnogalacturonan Isolated from Korean Seaweed *Ulva pertusa* and Its Efficacy for Treatment of Inflammatory Bowel Disease in Mice. *Carbohydrate Polymers*, **342**, 122373. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.122373>
- [15] 蔡聪会, 罗晓英, 张炳勇. 肠黏膜杯状细胞功能缺陷在溃疡性结肠炎发病中的作用[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2026, 35(1): 122-126.
- [16] Li, S., Qian, Q., Yang, H., Wu, Z., Xie, Y., Yin, Y., *et al.* (2024) Fucoidan Alleviated Dextran Sulfate Sodium-Induced Ulcerative Colitis with Improved Intestinal Barrier, Reshaped Gut Microbiota Composition, and Promoted Autophagy in Male C57BL/6 Mice. *Nutrition Research*, **122**, 1-18. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2023.11.009>
- [17] Wang, L., Zhang, P., Li, C., Xu, F. and Chen, J. (2022) A Polysaccharide from *Rosa roxburghii* Tratt Fruit Attenuates High-Fat Diet-Induced Intestinal Barrier Dysfunction and Inflammation in Mice by Modulating the Gut Microbiota. *Food & Function*, **13**, 530-547. <https://doi.org/10.1039/d1fo03190b>
- [18] Fang, D. and Zhu, J. (2019) Molecular Switches for Regulating the Differentiation of Inflammatory and IL-10-Producing Anti-Inflammatory T-Helper Cells. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **77**, 289-303. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03277-0>
- [19] Qiu, P., Ishimoto, T., Fu, L., Zhang, J., Zhang, Z. and Liu, Y. (2022) The Gut Microbiota in Inflammatory Bowel Disease. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **12**, Article 733992. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.733992>
- [20] Wu, Y., Zhang, X., Liu, X., Zhao, Z., Tao, S., Xu, Q., *et al.* (2024) Galactooligosaccharides and *Limosilactobacillus reuteri* Synergistically Alleviate Gut Inflammation and Barrier Dysfunction by Enriching *Bacteroides Acidifaciens* for Pentadecanoic Acid Biosynthesis. *Nature Communications*, **15**, Article No. 9291. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-53144-1>
- [21] Shin, N., Whon, T.W. and Bae, J. (2015) *Proteobacteria*: Microbial Signature of Dysbiosis in Gut Microbiota. *Trends in Biotechnology*, **33**, 496-503. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.06.011>
- [22] Haque, M., Kaminsky, L., Abdulqadir, R., Engers, J., Kovtunov, E., Rawat, M., *et al.* (2024) *Lactobacillus acidophilus* Inhibits the TNF- α -Induced Increase in Intestinal Epithelial Tight Junction Permeability via a TLR-2 and PI3K-Dependent Inhibition of NF- κ B Activation. *Frontiers in Immunology*, **15**, Article 1348010. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1348010>
- [23] Zhang, Y., Tu, S., Ji, X., Wu, J., Meng, J., Gao, J., *et al.* (2024) *Dubosiella newyorkensis* Modulates Immune Tolerance in Colitis via the L-Lysine-Activated AhR-IDO1-Kyn Pathway. *Nature Communications*, **15**, Article No. 1333. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-45636-x>
- [24] Castaño-Rodríguez, N., Underwood, A.P., Merif, J., Riordan, S.M., Rawlinson, W.D., Mitchell, H.M., *et al.* (2018) Gut Microbiome Analysis Identifies Potential Etiological Factors in Acute Gastroenteritis. *Infection and Immunity*, **86**, e00060-18. <https://doi.org/10.1128/iai.00060-18>
- [25] 胡付豪, 刘玉晖, 梁新丽, 杨辉, 许汉林, 韩飞. 基于肠道菌群和炎症因子探讨牛至油对溃疡性结肠炎小鼠的作用[J]. 中成药, 2023, 45(4): 1294-1300.
- [26] 韩舒晨, 李柏阳, 董芷嘉, 石杰, 张正海, 李国巍, 姬妍茹, 杨庆丽, 潘静, 刘淑霞, 高宇, 肖湘, 胡明. 黑海棠果粗多糖对小鼠结肠炎的缓解作用[J/OL]. 食品工业科技: 1-20. <https://link.cnki.net/doi/10.13386/j.issn1002-0306.2025100111>, 2026-06-22.
- [27] Yu, S., Xie, J., Guo, Q., Yan, X., Wang, Y., Leng, T., *et al.* (2024) *Clostridium butyricum* Isolated from Giant Panda Can Attenuate Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis in Mice. *Frontiers in Microbiology*, **15**, Article 1361945. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1361945>
- [28] Kim, W., Min, S., Kwon, H., Park, S., Jo, M.J. and Ko, G. (2023) *Lactobacillus rhamnosus* KBL2290 Ameliorates Gut Inflammation in a Mouse Model of Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis. *Journal of Microbiology*, **61**, 673-682. <https://doi.org/10.1007/s12275-023-00061-5>
- [29] Wang, Y., Song, X., Wang, Z., Li, Z. and Geng, Y. (2023) Effects of Pine Pollen Polysaccharides and Sulfated

Polysaccharides on Ulcerative Colitis and Gut Flora in Mice. *Polymers*, **15**, Article 1414.
<https://doi.org/10.3390/polym15061414>

- [30] Ma, M., Quan, M., Zhang, J., Zhang, A., Gao, P., Shang, Q., *et al.* (2023) *In Vitro* Fermentation of Polysaccharide from Edible Alga *Enteromorpha clathrata* by the Gut Microbiota of Patients with Ulcerative Colitis. *Nutrients*, **15**, Article 4122. <https://doi.org/10.3390/nu15194122>