DOI:10.16016/j.1000-5404.202005239

枸杞多糖通过线粒体途径抑制放射性肠损伤小鼠小肠上皮细胞凋亡

张 磊,王政杰,李文波,李 佳,黄 欢,王 英,曹熠熠,庞 华 400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院核医学科

[摘要] **目的** 研究枸杞多糖(*lycium barbarum* polysaccharide,LBP)对辐射损伤小鼠小肠上皮细胞(intestinal epithelial cells,IECs)的辐射防护机制。**方法** 利用直线加速器构建放射性肠损伤小鼠模型,各 LBP 干预组接受辐射后,通过灌胃分别给予不同剂量 LBP(200、400、800 mg/kg),连续 7 d,辐射组接受射线处理,并给予等量生理盐水,LBP 组仅使用 800 mg/kg LBP 灌胃不经过 X 线照射,正常组不作任何处理。镜下观察近十二指肠上段小肠上皮病理变化情况,采用 CCK-8 检测 IECs 活力,流式细胞仪检测 IECs 细胞凋亡率,分光光度法检测 IECs 细胞抗氧化指标超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)活性及丙二醛(malondialdehyde,MDA)含量,Western blot 检测 IECs 细胞凋亡调节因子 Bcl-2(B-cell lymphoma-2)和 Bcl-2 同源的水溶性相关蛋白 Bax(Bcl-2-Associated X)的表达,以探究 LBP 对肠黏膜的辐射防护机制。**结果** X 线照射小鼠后 7 d,与辐射组相比,经不同剂量 LBP 处理的各组小鼠肠绒毛长度及隐窝数量均有一定增加,且 IECs 细胞活力均较高($P<0.05$)。随着枸杞多糖剂量增加,经过枸杞多糖处理的各组 IECs 细胞中 SOD 活性逐渐升高[(1.22±0.05) *vs* (1.32±0.06) *vs* (1.53±0.03) U/mL],凋亡率及 MDA 含量出现逐渐降低趋势。经枸杞多糖干预的各组 IECs 细胞较辐射组 Bcl-2 表达量明显增加(当 LBP 为 800 mg/kg 时,Bcl-2 表达增加近 1 倍),Bax 表达量降低(当 LBP 剂量为 800 mg/kg 时,Bax 表达减少近 0.5 倍)。**结论** LBP 可能通过作用于凋亡相关蛋白 Bcl-2 和 Bax 来减少 IECs 细胞凋亡,提高 SOD 活性,减低 MDA 含量,增强 IECs 细胞抗氧化能力。

[关键词] 枸杞多糖;辐射;小肠上皮细胞;细胞凋亡;X 线;Bcl-2;Bax

[中图法分类号] R285.5; R322.45; R818.72 [文献标志码] A

Lycium barbarum polysaccharide inhibits apoptosis of intestinal epithelial cells through mitochondrial pathway in mice with radiation-induced intestinal injury

ZHANG Lei, WANG Zhengjie, LI Wenbo, LI Jia, HUANG Huan, WANG Ying, CAO Yiyi, PANG Hua Department of Nuclear Medicine, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China

[**Abstract**] **Objective** To study the protective effect of *Lycium barbarum* polysaccharide (LBP) against apoptosis of small intestinal epithelial cells (IECs) in mice with radiation-induced intestinal injury and explore the pathway that mediates this effect. **Methods** A mouse model of radiation-induced intestinal injury was established using a linear accelerator. In 2 h after the radiation exposure, the mice were treated with 200, 400, or 800 mg/kg LBP by gavage for 7 d (LBP intervention groups) or with normal saline (radiation group), and the mice without any treatment and those treated with 800 mg/kg LBP by gavage without X-ray radiation served as the control groups. After the treatments, the intestinal segment near the duodenum was dissected for pathological examination. The viability of the IECs isolated from the intestines of the mice was

[基金项目] 重庆市科委基础科学与前沿技术研究一般项目(CSTC2017jcyjAX0117)

[通信作者] 庞 华,E-mail:phua1973@163.com

evaluated with CCK-8 assay, the cell apoptosis rate was detected with flow cytometry, and superoxide dismutase (SOD) activity and malondialdehyde (MDA) content were determined by spectrophotometry; Western blotting was performed to detect the expression levels of apoptosis regulators Bcl-2 and Bax in the IECs. **Results** Compared with the mice in the radiation group, those in LBP intervention groups showed greater intestinal villus length and crypt number and higher viability of the IECs at 7 d after the radiation ($P<0.05$). The increase of LBP concentration significantly increased SOD activity (1.22±0.05 U/mL at 200 mg/kg, 1.32±0.06 U/mL at 400 mg/kg, and 1.53±0.03 U/mL at 800 mg/kg) and lowered the apoptotic rate and MDA content in the IECs. Compared with the IECs in the radiation group, the cells from LBP intervention groups showed significantly increased expression of Bcl-2 (nearly doubled at the LBP dose of 800 mg/kg) and lowered expression of Bax (by about 50% at the LBP dose of 800 mg/kg). **Conclusion** For mice with radiation-induced intestinal injury, LBP treatment suppresses apoptosis of IECs by regulating Bcl-2 and Bax expressions and enhances their antioxidant capacity by increasing SOD activity and decreasing the content of MDA.

[**Key words**] *Lycium barbarum* polysaccharide; radiation; intestinal epithelial cells; apoptosis; X-ray; Bcl-2; Bax

Supported by General Project of Basic Science and Frontier Technology Research Development Program of Chongqing Science and Technology Commission (CSTC2017jcyjAX0117). Corresponding author: PANG Hua, E-mail: phua1973@163.com

放射性肠病(radiation enteritis,RE)是指位于腹腔、盆腔等部位的恶性肿瘤经放疗后,对肠道产生一定损害所引起的疾病,主要表现为腹痛、腹泻和血便,少部分病情较重者甚至可能造成肠管狭窄、肠梗阻或肠瘘等[1],主要病理改变是组织结构被破坏、产生隐窝细胞坏死和黏膜上皮细胞脱落等。迄今为止,临床上治疗 RE 多采用细胞因子、激素类药物和巯基类化合物等辐射防护剂,但却有副作用多、价格高昂和毒性较大等使用条件限制[2]。

枸杞是被中医使用数千年的传统中草药,枸杞多糖(*lycium barbarum* polysaccharides,LBP)是枸杞的主要活性成分之一[3]。研究认为枸杞多糖具有多种生物学效应[4-8],特别是在消化系统,LBP 能够调节肠道菌群、维持肠道微生态系统健康[9]和提高肠道细胞抗氧化能力[10]。在调控细胞凋亡方面,LBP 可以通过上调 Bcl-2、下调 Bax 表达来抑制人晶状体上皮细胞及大鼠角膜上皮细胞凋亡[11-12]。

本研究通过建立小鼠放射性肠损伤模型,初步探讨 LBP 抑制 X 射线所致小肠上皮细胞(intestinal epithelial cells,IECs)凋亡中关键分子 Bcl-2 和 Bax 的作用,探究 LBP 对放射损伤小鼠小肠上皮的保护机制,为将来临床中进一步研究 LBP 防治电离辐射损伤提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

昆明小鼠 36 只(SPF 级),雌雄各半,6~8 周龄,体质量(20±2)g,由重庆医科大学实验动物中心提供。

1.2 试剂与仪器

枸杞多糖(纯度>950 mg/g)购自上海康舟真菌多糖有限公司(批号 KZ20160812);Percoll 细胞分离液购自重庆蒙博生物科技有限公司(批号 17-0891-09);CCK-8 溶液购自上海东仁化学科技有限公司(批号 KL700);AnnexinV-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)活性检测试剂盒、丙二醛(malondialdehyde,MDA)检测试剂盒、SDS-PAGE 凝胶快速配制试剂盒、BCA 蛋白浓度测定试剂盒及细胞裂解液均购自上海碧云天生物技术公司(批号分别为 C1062S、S1010、S0131、P0012AC、P0010S、P0013);SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液购自联科生物技术公司(批号 81701014);PVDF 膜购自美国 Bio-Rad 公司(批号 1620177);化学发光液购自赛默飞世尔科技公司(批号 SC249361);Bcl-2 抗体和 Bax 抗体购自 Cell Signaling Technology 公司(批号分别为 3498S、2772T);β-actin 抗体购自三箭生物有限公司(批号 KM9001)。

主要仪器:直线加速器(Varian 公司,型号 2300CD),超净台(美国 Baker 公司),恒温摇床(上海智诚分析仪器有限公司),电子天平(美国 Mettler Toledo 集团),全自动酶标仪(基因有限公司,型号 Symergy HT),流式细胞仪(Becton-Dickinson 公司,型号 CytoFLEX),Chemi-Touch 化学发光仪(成都百乐科技有限公司),离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

1.3 方法

1.3.1 小鼠放射性肠损伤模型的建立 参考文献[13-14],使用昆明小鼠行一次性腹部6 MV X线照射,上界为剑突以下,下界为耻骨联合以上(其他部位用铅砖屏蔽),吸收剂量率为300 cGy/min,皮源距100 cm,照射野25 cm×25 cm,照射时间2 min,剂量为6 Gy,以观察到小鼠明显的RE症状及小肠病理切片中典型的RE表现为实验模型建立成功的标志。

1.3.2 实验分组及给药 按随机数字表法将小鼠分为6组,每组6只,分别为正常组、辐射组、低剂量LBP(200 mg/kg)+辐射组、中剂量LBP(400 mg/kg)+辐射组、高剂量LBP(800 mg/kg)+辐射组和LBP组(800 mg/kg),正常组和LBP组不照射,其余各组行X线照射建立小鼠放射性肠损伤模型,2 h后灌胃给药,辐射组给予等量生理盐水,每天1次,每次0.5 mL,连续7 d。

1.3.3 小鼠大体情况与小肠组织病理观察 观察各组小鼠的一般情况,1周后,在无菌条件下采用水合氯醛麻醉加高浓度二氧化碳窒息后处死小鼠,取近十二指肠肠段用10%甲醛溶液冲洗并浸泡,常规病理固定,石蜡包埋切片,HE染色,光镜下观察IECs数量与分布、隐窝细胞形态及数量、小肠绒毛长度和密度。

1.3.4 小鼠IECs的分离 处死小鼠后,无菌条件下取出回盲部至幽门的全部小肠,用4 ℃预冷的Hanks液(含有双抗:青霉素100 U/mL,链霉素0.1 mg/mL)冲洗小肠,翻转肠黏膜,置于预热的30 mL消化液中(含1 mmol/L EDTA、1 mmol/L DTT的Hanks液)37 ℃水浴箱中孵育20 min,然后放入恒温振荡箱中,37 ℃,120 r/min,振荡40 min。然后经200目细胞筛过滤,收集的细胞重悬于30% Percoll分离液,1 350 r/min(离心半径13.5 cm),离心20 min。沿着试管壁边缘小心吸取白膜层IECs细胞,移入另一个清洁的离心管中,清洗液洗3次备用。

1.3.5 CCK-8法检测小鼠IECs活力,流式细胞仪检测IECs凋亡率 加细胞悬液100 μL(约1×10^6个细胞)到96孔板(边缘孔用PBS填充)。每组设定3个复孔。置于37 ℃、5% CO_2孵箱过夜,每孔加入10 μL CCK-8溶液,37 ℃孵育2 h,测定波长450 nm处各孔的光密度值[$D(450)$],以样品光密度与空白对照光密度差值代表IECs细胞活性。使用预冷的PBS冲洗IECs 2次并计数,离心后弃去上清,取1×10^5个细胞加入195 μL Annexin V-FITC结合液轻轻混匀,随后依次加入5 μL Annexin V-FITC,10 μL PI染色液,轻轻混匀,室温下(25 ℃)避光孵育10 min,使用双参数分析法在流式细胞仪上计算凋亡率。

1.3.6 IECs中SOD活性及MDA含量检测 取适量IECs悬液加入细胞裂解液500 μL,于冰上裂解30 min,12 000 r/min、4 ℃离心10 min(离心半径6.5 cm),取上清,采用BCA法测定蛋白浓度,并根据SOD、MDA检测试剂盒说明书测定。

1.3.7 Western blot检测Bcl-2与Bax的表达 取适量细胞,用4 ℃预冷的PBS冲洗2次,加入适量含有PMSF的细胞裂解液(按每1毫升细胞裂解液混合10 μL PMSF)混匀,置于冰上裂解30 min,每隔5 min摇匀1次,随后将样品放入4 ℃预冷的高速离心机中(离心半径为6.5 cm),12 000 r/min,离心5 min,取上清,BCA蛋白定量法测定蛋白浓度后,加入SDS-PAGE蛋白上样缓冲液,100 ℃,煮沸10 min,每孔加入15 μg蛋白,以5%的浓缩胶、12%的分离胶电泳,PVDF膜湿法电转膜。转膜结束后将条带放入TBST稀释的5%脱脂奶粉中摇床封闭3 h,洗膜4次,每次8 min,加入Bax、Bcl-2及β-actin一抗(均1∶1 000稀释)4 ℃孵育过夜,洗膜4次,每次8 min,二抗在室温条件下孵育60 min,洗膜4次,每次8 min,加入显影液进行曝光,β-actin为内参,各灰度值与其比值为Bax及Bcl-2蛋白相对表达量。

1.4 统计学分析

采用SPSS 22.0统计软件,数据以$\bar{x}\pm s$表示,采用单因素方差分析,两两比较采用LSD检验。检验水准:$\alpha=0.05$。

2 结果

2.1 小鼠大体情况与小肠组织病理观察

经照射后的各组小鼠,出现了反应迟钝、活动减少、毛发脏乱、缺少光泽的表现,排便为黄色稀便,体质量减轻不明显。给予LBP干预后,小鼠一般状况逐渐恢复,而辐射对照组小鼠精神状态极差,长时间呈蜷缩状,毛发竖立,体质量减轻。使用显微镜观察小鼠受照射后7 d各组肠绒毛和肠隐窝形态改变。与正常对照组相比,辐射组肠绒毛呈现出稀疏缺损、固有层隐窝稍减少、炎症细胞浸润,表明成功构建小鼠放射性肠损伤模型。低剂量LBP+辐射组肠绒毛短而稀少,却能发现隐窝结构增多。当LBP到达400 mg/kg时,虽然肠绒毛较为短小且排列不够整齐,但隐窝腔内细胞增多。高剂量LBP+辐射组肠绒毛长而整齐,腺体结构完整。LBP组与正常组相比

肠绒毛无明显差异(图 1)。

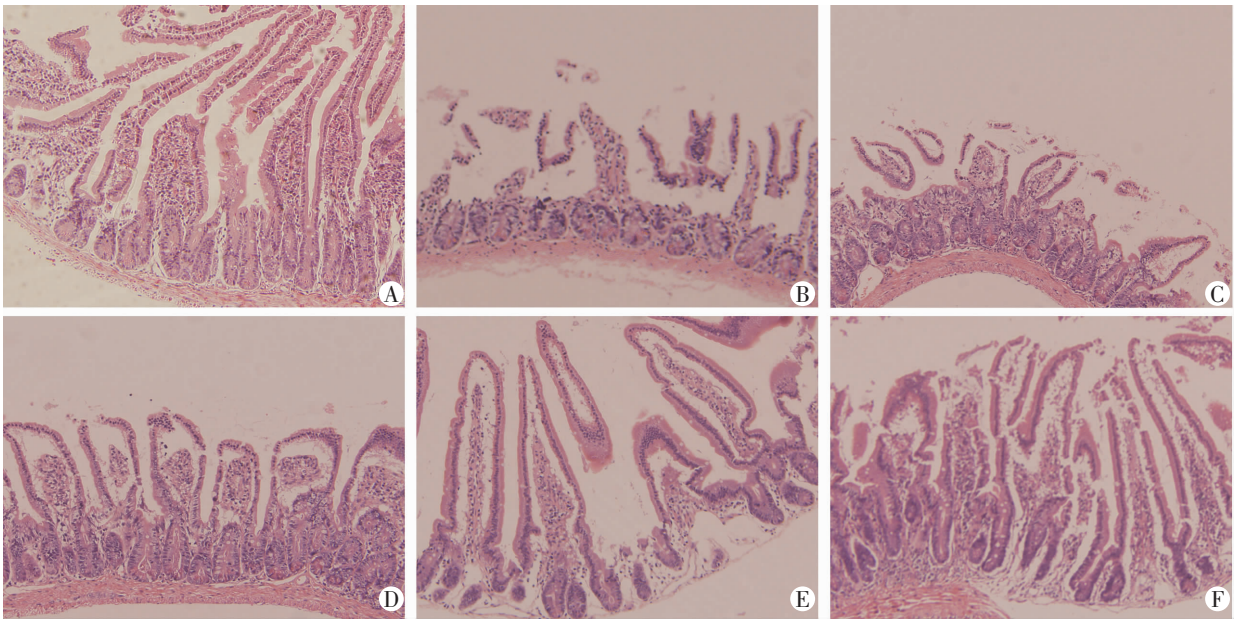
2.2 LBP 对辐射损伤后小鼠 IECs 细胞活力及细胞凋亡的影响

X 线照射小鼠后 7 d,采用 CCK-8 检测 IECs 细胞活力(图 2A)。与辐射组相比,正常组和低剂量 LBP+辐射组、中剂量 LBP+辐射组、高剂量 LBP+辐射组细胞活力均较高($P<0.01$),表明 LBP 能够提高辐射损伤 IECs 细胞活力。此外,LBP 组细胞活力稍高于正常组($P<0.05$),说明在正常情况下 LBP 也能增强 IECs 细胞活力。随着 LBP 剂量增加,细胞活力呈上升趋势。

采用流式细胞仪检测 IECs 细胞凋亡情况,将细胞早期凋亡率和细胞晚期凋亡率的总和作为 IECs 细胞凋亡率进行评估(图 2B)。与辐射组相比,低剂量 LBP+辐射组、中剂量 LBP+辐射组、高剂量 LBP+辐射组细胞凋亡率均下降($P<0.01$),随着枸杞多糖剂量增加,凋亡率出现逐渐降低趋势,表明 LBP 有效减弱了辐射所致的 IECs 细胞凋亡。

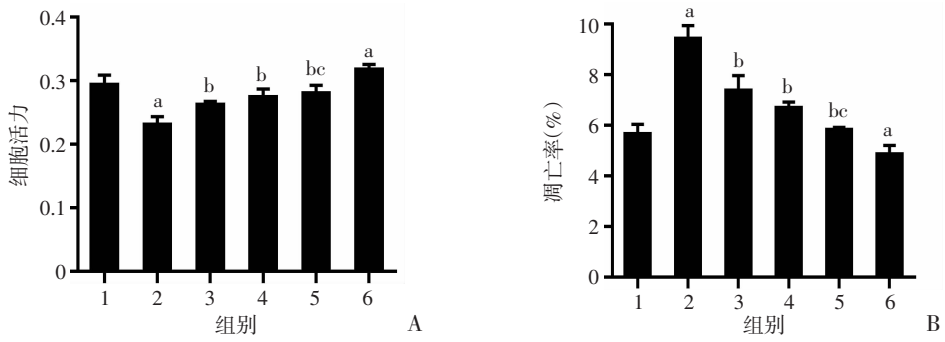
2.3 LBP 对辐射损伤后小鼠 IECs 细胞 SOD 活性及 MDA 含量的影响

辐射后 7 d,测定 IECs 细胞中 MDA 含量和抗氧化酶 SOD 活性。结果显示:辐射组 MDA 含量显著升高,但经过 LBP 处理的各组 MDA 含量上升受到了一定程度的抑制。与辐射组相比,正常组和中剂量LBP+辐射



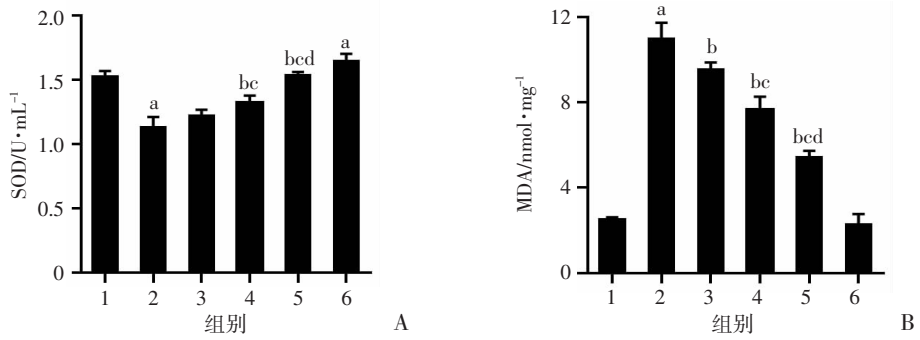
A:正常组;B:辐射组;C: 低剂量 LBP+辐射组;D: 中剂量 LBP+辐射组;E: 高剂量 LBP+辐射组;F: LBP 组

图 1 各组小鼠照射后 7 d 肠绒毛和肠隐窝形态改变 (HE ×100)



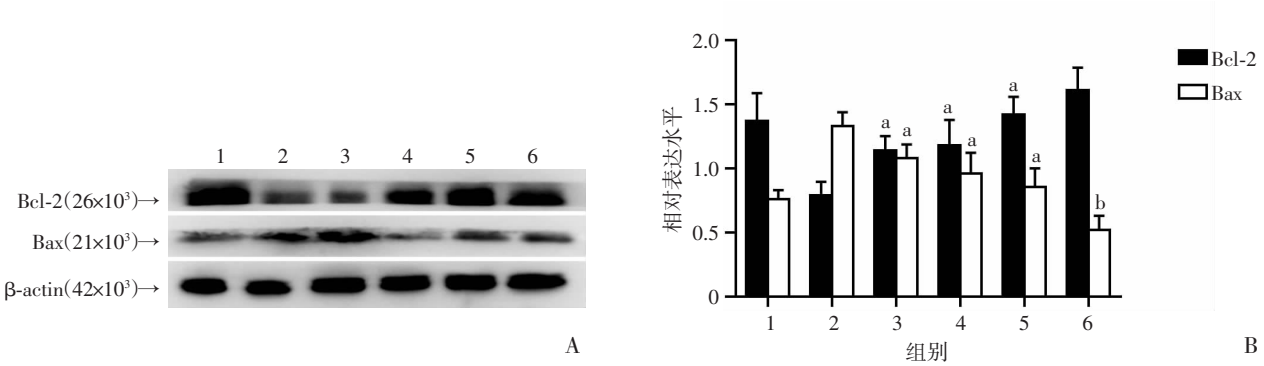
1: 正常组;2: 辐射组;3: 低剂量 LBP+辐射组;4: 中剂量 LBP+辐射组;5: 高剂量 LBP+辐射组;6: LBP 组 ;a:$P<0.05$,与正常组比较;b: $P<0.05$,与辐射组比较;c: $P<0.05$,与低剂量 LBP+辐射组比较

图 2 LBP 对辐射损伤后小鼠 IECs 活力(A)及 IECs 凋亡率(B)的影响 ($n=6$)



1:正常组;2:辐射组;3: 低剂量 LBP+辐射组;4:中剂量 LBP+辐射组;5: 高剂量 LBP+辐射组;6:LBP 组;a:$P<0.05$,与正常组比较;b: $P<0.05$,与辐射组比较;c: $P<0.05$,与低剂量 LBP+辐射组比较;d:$P<0.05$,与中剂量 LBP+辐射组比较

图 3　LBP 对辐射损伤后小鼠 IECs 细胞 SOD 活性(A)和 MDA 含量(B)的影响　($n=6$)



1:正常组;2:辐射组;3: 低剂量 LBP+辐射组;4:中剂量 LBP+辐射组;5:高剂量 LBP+辐射组;6:LBP 组
A:Western blot 检测;B:半定量分析　a:$P<0.05$,与辐射组比较;b:$P<0.05$,与正常组比较

图 4　Western blot 检测各组小鼠 IECs 细胞辐射损伤凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax 的表达　($n=6$)

组、高剂量 LBP+辐射组 SOD 活性均较高,与正常组相比,LBP 组(仅给予 800 mg/kg LBP,不进行 X 线照射) SOD 活性也较高($P<0.05$)。与辐射组相比,低剂量 LBP+辐射组、中剂量 LBP+辐射组、高剂量 LBP+辐射组 MDA 含量呈逐渐下降趋势。表明 LBP 可能通过提高 SOD 活性、降低 MDA 含量来增强小鼠 IECs 细胞抗氧化能力(图 3)。

2.4　LBP 对辐射损伤后小鼠 IECs 细胞 Bcl-2 与 Bax 表达的影响

与辐射组相比,低剂量 LBP+辐射组、中剂量 LBP+辐射组、高剂量 LBP+辐射组 Bcl-2 表达量明显增加($P<0.05$,$P<0.01$), Bax 表达量降低($P<0.05$,$P<0.01$),与正常组相比,LBP 组 Bax 表达量降低($P<0.05$,图 4)。这些结果进一步表明:LBP 对辐射诱导的 IECs 细胞凋亡的保护作用涉及线粒体途径。

3　讨论

根据既往研究报道,选择 6 Gy 和 10 Gy 剂量照射小鼠腹部[13-14],从症状体征和病理表现都能观察到放射性肠炎改变,但 10 Gy 剂量会造成小鼠骨髓抑制、肝功损害且死亡过多,不能成为理想的实验模型,所以本研究使用 6MV X 线一次性照射 6 Gy 剂量建立小鼠放射性肠损伤模型,并参考既往报道,扩大 LBP 剂量范围,设立不同剂量 LBP 干预组[15-16],观察小鼠小肠病理切片,检测了 IECs 细胞活力、凋亡率、抗氧化能力及凋亡相关蛋白的表达。本研究发现:首先,放射性肠损伤小鼠 IECs 细胞活力降低、凋亡率显著增加,经枸杞多糖干预后,与辐射组相比,小肠上皮黏膜损伤减轻,细胞凋亡率均有所减低,表明枸杞多糖能够有效减轻辐射所致的细胞凋亡;其次,辐射后小鼠 IECs 细胞 SOD 活性明显下降,MDA 含量显著上升,给予 LBP 的各组小鼠 IECs 细胞 SOD 活性均上升,MDA 含量均下降,表明 LBP 能起到抗氧化的作用;最后,LBP 干预各组 Bcl-2 蛋白表达明显高于辐射组,促凋亡基因 Bax 表达随 LBP 剂量增加而逐渐减少,表明枸杞多糖可能通过作用于线粒体通路上调 Bcl-2 和下调 Bax 的表达

来抑制辐射损伤细胞的凋亡。

本研究结果显示:辐照后给予 LBP 干预的各组小鼠小肠组织较辐射组有一定恢复,但并不能因此而忽略机体随着时间的延长同样可以自行修复 6 Gy 辐照剂量所致的放射性肠炎,使用 LBP 虽然加快了机体本身的修复,但这只是在单一剂量和单一时相点下的观察结果,有待于设立更多的检测时间点,以及在更大范围内运用不同剂量的 LBP 处理,进行动态观察,来证实 LBP 的疗效。

本研究通过测定 IECs 细胞 SOD 活性和多不饱和脂肪酸作用所产生的终产物 MDA 的含量,发现各 LBP 干预组小鼠 IECs 细胞 SOD 活性均上升,MDA 含量均下降,而辐射组小鼠 IECs 细胞 SOD 活性下降,MDA 含量显著上升。其原因可能是由于电离辐射通过诱导机体氧自由基的产量增加,高浓度的活性氧(reactive oxygen species,ROS)引起细胞氧化应激,导致细胞凋亡,使生物大分子遭到破坏,并引发严重的脂质过氧化反应。这些结果最后均会导致组织的损伤[5]。而 LBP 可以通过增强抗氧化酶 SOD 活性来加快过量自由基及 ROS 的清除,减少 MDA 产生来保护细胞。还有研究表明:LBP 可通过清除自由基和抑制含半胱氨酸的 Caspase-3 的激活来降低 ROS 水平,从而防止 ROS 诱导细胞凋亡[16-17]。迄今为止,在人体中也发现 LBP 具有抗氧化活性,连续摄入 LBP 1 个月可提高机体抗氧化功效[18]。综上所述,LBP 可以增加放射性肠损伤小鼠 IECs 细胞抗氧化酶的活性并降低 MDA 的蓄积,从而减弱 ROS 和自由基引起的氧化应激反应,提高机体的抗氧化能力,但其具体调控方式还有待进一步研究。

接受辐射处理后,小鼠 IECs 细胞凋亡率都有不同程度的升高,但使用 LBP 干预的各组较辐射对照组凋亡率明显减低。目前,已经发现多种分子对细胞凋亡具有抑制作用,包括 P53 基因、细胞因子反应调节剂 A(CrmA)、FLICE 抑制蛋白(FLIP)和 Bcl-2 家族等。辐射及其产生的 ROS 诱导 DNA 链断裂可以促进 P53 的激活[19],这会使细胞更为敏感,即使少量的 DNA 损伤也会促使凋亡的发生。P53 激活后能够下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达,使凋亡效应因子 Bax 或 Bak 被激活,导致线粒体外膜损伤和细胞凋亡。已有研究表明:LBP 可通过调节 Bcl-2/ Bax 比值[17,20]、线粒体膜电位[21]及 Caspase 表达[20-22]来减少细胞凋亡。本研究使用 Western blot 检测了 IECs 辐射损伤凋亡相关蛋白的表达,结果发现 LBP 各干预组 Bcl-2 蛋白表达明显高于辐射组,促凋亡基因 Bax 表达随 LBP 剂量增加而逐渐减少,这表明减弱放射性肠损伤所致的 DNA 损伤及抑制线粒体凋亡途径可能是 LBP 发挥抗辐射作用的重要机制之一。

本研究还存在以下几点不足。首先,只设立了 7 d 一个时间观察点,正常情况下,肠干细胞可以通过增殖分化使小肠上皮细胞得到补充更新,在小鼠体内的转化周期约为 3~5 d[23],小肠黏膜的完整性依赖于对 IECs 细胞的不断更新,这是一个变化的过程。经过辐射后,机体能够通过自行修复的方式使肠道组织得到恢复,然而仅选取 7 d 一个时间点,观察到的结果是有限的,选取多时相进行动态监测将更能证实其疗效。我们选择 7 d 作为一个实验周期,是考虑到 IECs 增殖分化以及 LBP 发挥作用所需时间,但设立不同时间点的确会使研究更加客观全面。其次,设立一个临床上常用并与 LBP 作用机制相似的抗辐射药物组,对其疗效进行比较,也是十分有意义的。我们纳入了未受辐射只接受 LBP 处理的 LBP 组,在一定程度上增加了 LBP 效果的可靠性。最后,LBP 对 IECs 细胞凋亡的抑制作用除通过作用于线粒体通路发挥效应外,是否还有其他信号通路联合发挥抗辐射功能,其具体方式、作用靶点、有效部位尚不明确,但我们选择线粒体凋亡途径是结合现有研究,LBP 最有可能发挥其抗凋亡作用的方式。

LBP 作为传统中药枸杞的重要活性成分,可以通过辅酶、微波及超声波提取法获得,具有价廉、广效、无明显毒副作用等优点,在辐射防护领域有广大应用前景。已有研究发现 LBP 可以提高肠道抗氧化酶水平,减弱大鼠肠道缺血再灌注损伤[24],LBP 能够保护人视网膜色素上皮细胞抑制氧化应激诱导的凋亡作用[17],经过 LBP 预处理可有效减少小鼠脑缺血再灌注损伤引起的细胞凋亡[25],LBP 还对辐射引起的造血系统损伤有一定保护作用[26]。本研究结果表明:LBP 对辐射损伤小鼠 IECs 具有抗氧化、增强细胞活力及抑制细胞凋亡的特点,它能够促进自由基代谢产物的清除、增强抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达及抑制促凋亡蛋白 Bax 的表达,LBP 在未来或可成为治疗小肠辐射损伤的新型防护剂。但在将来的研究中,要最终确定其疗效,还需选择一些临床上常用并且与 LBP 抗辐射作用机制相近的药物进行多方面比较,以进一步证实 LBP 的功效。

参考文献:

[1] 张亮, 龚剑峰, 倪玲, 等. 放射性肠炎合并肠梗阻行病变

肠管切除术后远期随访分析[J]. 中华外科杂志, 2014, 52(2): 94-98. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2014.02.004.
ZHANG L, GONG J F, NI L, *et al*. Operative and long term results after rdiseased bowel resection for chronic radiation enteritis complicated with intestinal obstruction[J]. Chin J Surg, 2014, 52(2): 94-98. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2014.02.004.

[2] 王伟, 陈翰翰, 曹志群, 等. 放射性肠炎的中医药治疗研究进展[J]. 中国临床研究, 2020, 33(1): 118-119. DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2020.01.029.
WANG W, CHEN H H, CAO Z Q, *et al*. Research progress in traditional Chinese medicine treatment of radiation enteritis[J]. Chin J Clin Res, 2020, 33(1): 118-119. DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2020.01.029.

[3] TIAN X J, LIANG T S, LIU Y L, *et al*. Extraction, structural characterization, and biological functions of *Lycium barbarum* polysaccharides: a review[J]. Biomolecules, 2019, 9(9): 389. DOI: 10.3390/biom9090389.

[4] LI Q J, ZHANG Z W, LI H, *et al*. *Lycium barbarum* polysaccharides protects H9c2 cells from hypoxia-induced injury by down-regulation of miR-122[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 110: 20-28. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.11.012.

[5] GAO Y J, WEI Y F, WANG Y Q, *et al*. *Lycium barbarum*: a traditional Chinese herb and a promising anti-aging agent[J]. Aging Dis, 2017, 8(6): 778-791. DOI: 10.14336/ad.2017.0725.

[6] TANG H L, CHEN C, WANG S K, *et al*. Biochemical analysis and hypoglycemic activity of a polysaccharide isolated from the fruit of *Lycium barbarum* L[J]. Int J Biol Macromol, 2015, 77: 235-242. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.03.026.

[7] DENG X L, LUO S, LUO X, *et al*. Polysaccharides from Chinese herbal *Lycium barbarum* induced systemic and local immune responses in H22 tumor-bearing mice[J]. J Immunol Res, 2018, 2018: 3431782. DOI: 10.1155/2018/3431782.

[8] HU X Y, QU Y D, CHU Q B, *et al*. Investigation of the neuroprotective effects of *Lycium barbarum* water extract in apoptotic cells and Alzheimer's disease mice[J]. Mol Med Rep, 2018, 17(3): 3599-3606. DOI: 10.3892/mmr.2017.8310.

[9] ZHU W, ZHOU S X, LIU J H, *et al*. Prebiotic, immunostimulating and gut microbiota-modulating effects of *Lycium barbarum* polysaccharide[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 121: 109591. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109591.

[10] HUANG C, YAO R Y, ZHU Z K, *et al*. Apectic polysaccharide from water decoction of Xinjiang *Lycium barbarum* fruit protects against intestinal endoplasmic reticulum stress[J]. Int J Biol Macromol, 2019, 130: 508-514. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.02.157.

[11] DU S B, HAN B, LI K, *et al*. *Lycium barbarum* polysaccharides protect rat corneal epithelial cells against ultraviolet B-induced apoptosis by attenuating the mitochondrial pathway and inhibiting JNK phosphorylation[J]. Biomed Res Int, 2017, 2017: 5806832. DOI: 10.1155/2017/5806832.

[12] QI B, JI Q S, WEN Y C, *et al*. *Lycium barbarum* polysaccharides protect human lens epithelial cells against oxidative stress-induced apoptosis and senescence[J]. PLoS ONE, 2014, 9(10): e110275. DOI: 10.1371/journal.pone.0110275.

[13] 徐伟, 金晶. 直线加速器诱发大鼠急性放射性肠炎模型的建立[J]. 实用临床医药杂志, 2013, 17(11): 9-11. DOI: 10.7619/jcmp.201311003.
XU W, JIN J. Establishing a rat model for acute radiation enteritis induced by linearaccelerator[J]. J Clin Med Pract, 2013, 17(11): 9-11. DOI: 10.7619/jcmp.201311003.

[14] 罗银星, 王笑民, 富琦, 等. 小鼠放射性肠炎的建立[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2008, 28(4): 339-342. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2008.04.007.
LUO Y X, WANG X M, FU Q, *et al*. Comparison of radiation enteritis mouse models established at different dose[J]. Chin J Radiol Med Protect, 2008, 28(4): 339-342. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2008.04.007.

[15] TANG L J, BAO S Y, DU Y, *et al*. Antioxidant effects of *Lycium barbarum* polysaccharides on photoreceptor degeneration in the light-exposed mouse retina[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 103(7): 829-837. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.04.104.

[16] CHEN L, LI W, QI D, *et al*. *Lycium barbarum* polysaccharide protects against LPS-induced ARDS by inhibiting apoptosis, oxidative stress, and inflammation in pulmonary endothelial cells[J]. Free Radic Res, 2018, 52(4): 480-490. DOI: 10.1080/10715762.2018.1447105.

[17] LIU L, LAO W, JI Q S, *et al*. *Lycium barbarum* polysaccharides protected human retinal pigment epithelial cells against oxidative stress-induced apoptosis[J]. Int J Ophthalmol, 2015, 8(1): 11-16. DOI: 10.3980/j.issn.2222-3959.2015.01.02.

[18] AMAGASE H, SUN B, BOREK C. *Lycium barbarum* (goji) juice improves *in vivo* antioxidant biomarkers in serum of healthy adults[J]. Nutr Res, 2009, 29(1): 19-25. DOI: 10.1016/j.nutres.2008.11.005.

[19] MING L, YUE L, MENG M G, *et al*. Vanillin derivative VND3207 activates DNA-PKcs conferring protection against

radiation-induced intestinal epithelial cells injury *in vitro* and *in vivo*[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2020, 387: 114855. DOI: 10.1016/j.taap.2019.114855.

[20] WANG T F, LI Y X, WANG Y S, *et al*. *Lycium barbarum* polysaccharide prevents focal cerebral ischemic injury by inhibiting neuronal apoptosis in mice[J]. PLoS ONE, 2014, 9(3): e90780. DOI: 10.1371/journal.pone.0090780.

[21] LUO Q, LI J J, CUI X Y, *et al*. The effect of *Lycium barbarum* polysaccharides on the male rats' reproductive system and spermatogenic cell apoptosis exposed to low-dose ionizing irradiation[J]. J Ethnopharmacol, 2014, 154(1): 249-258. DOI: 10.1016/j.jep.2014.04.013.

[22] ZHU Y F, ZHAO Q P, GAO H, *et al*. *Lycium barbarum* polysaccharides attenuates N-methy-N-nitrosourea-induced photoreceptor cell apoptosis in rats through regulation of poly (ADP-ribose) polymerase and caspase expression[J]. J Ethnopharmacol, 2016, 191: 125-134. DOI: 10.1016/j.jep.2016.05.037.

[23] POTTEN C S. Radiation, the ideal cytotoxic agent for studying the cell biology of tissues such as the small intestine[J]. Radiat Res, 2004, 161(2): 123-136. DOI: 10.1667/rr3104.

[24] YANG X K, BAI H, CAI W X, *et al*. *Lycium barbarum* polysaccharides reduce intestinal ischemia/reperfusion injuries in rats[J]. Chem-Biol Interactions, 2013, 204(3): 166-172. DOI: 10.1016/j.cbi.2013.05.010.

[25] 吴彩霞, 王腾飞, 余建强. 枸杞多糖预处理对小鼠脑缺血-再灌注损伤的保护作用[J]. 中药材, 2015, 38(7): 1454-1459. DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2015.07.030.

WU C X, WANG T F, YU J Q. *Lycium barbarum* polysaccharide pretreatment attenuates cerebral ischemic reperfusion injury by inhibiting apoptosis in mice[J]. J Chin Med Mat, 2015, 38(7): 1454-1459. DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2015.07.030.

[26] ZHOU J, PANG H, LI W B, *et al*. Effects of *Lycium barbarum* polysaccharides on apoptosis, cellular adhesion, and oxidative damage in bone marrow mononuclear cells of mice exposed to ionizing radiation injury[J]. Biomed Res Int, 2016, 2016(6): 4147879. DOI: 10.1155/2016/4147879.

(**收稿**:2020-05-26;**修回**:2020-07-23)

(编辑 汪勤俭)