

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.29.002
文章编号: 1005-8982 (2018) 29-0006-07

燕麦 β -葡聚糖对脓毒血症大鼠肠黏膜损伤的保护作用及其机制探讨*

吴昆鹏¹, 陈莹², 游晓星³, 黄治家¹, 言彩红¹

(1. 南华大学附属第二医院 重症医学科, 湖南 衡阳 421001; 2. 南华大学附属第二医院 麻醉科, 湖南 衡阳 421001; 3. 南华大学 微生物研究所, 湖南 衡阳 421001)

摘要:目的 探索燕麦 β -葡聚糖(Oglu)能否对脓毒血症空肠损伤提供保护。**方法** 选取 50 只 SD 大鼠, 按随机数字表法分为对照组、脓毒血症组、Oglu 组。脓毒血症组和 Oglu 组以改良盲肠结扎穿孔法复制脓毒血症模型, 通过病理检查评估空肠损伤。采用酶联免疫吸附法检测炎症因子白细胞介素-6 (IL-6), 肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和降钙素原, PCR、Western blot 检测低氧诱导因子-1 (HIF-1 α)、 β -连环蛋白 (β -catenin)、T 细胞因子 (TCF-4)、基质金属蛋白酶-13 (MMP-13) 表达的变化。**结果** Oglu 缓解脓毒血症诱导的空肠损伤, 降低脓毒血症大鼠 IL-6、TNF- α 及降钙素原水平。Oglu 组空肠组织中 HIF-1 α 表达高于对照组和脓毒血症组 ($P < 0.05$); 脓毒血症组与对照组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); Oglu 组 β -catenin、TCF-4 及 MMP-13 表达水平较脓毒血症组降低 ($P < 0.05$)。**结论** Oglu 对脓毒血症大鼠空肠损伤发挥保护作用, 可能与 HIF-1 α 、Wnt/ β -catenin 信号通路调控, 减轻脓毒血症期间氧化应激及炎症反应有关。

关键词: 燕麦 β -葡聚糖; 脓毒血症; 肠屏障

中图分类号: R 459.7

文献标识码: A

Oat β -glucan alleviates intestinal mucosal injury in rats with sepsis by inhibiting inflammation response*

Kun-peng Wu¹, Ying Chen², Xiao-Xing You³, Zhi-jia Huang¹, Cai-hong Yan¹

(1. Department of Intensive Care Medicine, 2. Department of Anesthesiology, the Second Hospital Affiliated to University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 3. Institute of Microbiology, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

Abstract: Objective To investigate whether oat β -glucan (Oglu) can provide protection for jejunum injury with sepsis. **Methods** Fifty SD rats were randomly divided into a normal control group ($n = 10$), a sepsis group ($n = 20$) and an Oglu group ($n = 20$). Septic models in the sepsis group and the Oglu group were induced with cecal ligation and puncture (CLP). The jejunum injury was assessed by pathology. And the inflammatory cytokines IL-6, TNF- α and procalcitonin were detected by ELISA. The expressions of hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1 α), β -catenin, T-cell factor (TCF-4) and matrix metalloproteinase 13 (MMP-13) were detected by PCR and Western blot. **Results** Oglu relieved sepsis-induced jejunum injury, and reduced the levels of IL-6, TNF- α and procalcitonin in the sepsis group ($P < 0.05$). The expression of HIF-1 α in the jejunum of the Oglu group was higher than that of the normal control group and the sepsis group ($P < 0.05$), but there was no significant difference between the latter two groups ($P > 0.05$). The expressions of β -catenin, TCF-4 and MMP-13 in the Oglu group was significantly lower

收稿日期: 2018-05-23

* 基金资助: 湖南省教育厅基金 (No: 15C1212)

[通信作者] 陈莹, E-mail: 157456259@qq.com

than that in the sepsis group ($P < 0.05$). **Conclusions** Oat β -glucan exerts protective effect on jejunum in septic rats, which is related to the regulation of HIF-1 α and Wnt/ β -catenin signaling pathway and the reduction of oxidative stress and inflammatory response during sepsis.

Keywords: oat β -glucan; sepsis; intestinal barrier

肠功能损伤是脓毒血症的一个关键特征。目前研究表明, 小肠在脓毒血症的病理生理过程中起中心作用, 并且称为全身性炎症反应的始动因素^[1]。重症患者常见肠道屏障功能紊乱及其引起的细菌易位, 其在脓毒血症的发病机制中起重要作用^[2-3]。此外, 研究表明, 危重疾病进展为多器官功能障碍综合征与肠道通透性增加有关^[4]。如何预防或改善炎症性肠道屏障功能障碍是脓毒血症基础和临床研究的重要方向。燕麦 β -葡聚糖 (oat β -glucan, Oglu) 对肠道功能的保护作用已得到广泛认可, 本研究将其引入脓毒血症动物模型, 观察 Oglu 是否可以减轻脓毒血症大鼠的小肠损伤, 并探索其潜在的作用机制

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

50 只 SD 雄性大鼠, 8 周龄, 体重 250 ~ 300 g, 实验前禁食 24 h, 饮水不限。由南华大学实验动物部提供 [许可证号: SYXK (湘) 2015 ~ 0001]。按随机数字表法分为对照组 (10 只), 脓毒血症组 (20 只), Oglu 组 (20 只)。实验前均适应性喂养 3 d。脓毒血症组和 Oglu 组以改良盲肠结扎穿孔法 (cecal ligation and puncture, CLP) 复制脓毒血症模型^[5]。

1.2 主要试剂

Oglu (南通振华生物工程有限公司), 细胞总蛋白提取试剂盒 (美国 Thermo Scientific 公司), β -连环蛋白 (β -catenin) 多克隆抗体 (ab6302)、基质金属蛋白酶-13 (matrix metalloproteinase-13, MMP-13) 多克隆抗体 (ab39012)、T 细胞因子 (T cell factor-4, TCF-4) 多克隆抗体 (ab130014)、低氧诱导因子-1 (hypoxia-inducible factor-1, HIF-1 α) 单克隆抗体 (ab463) 购自美国 Abcam 公司, RevertAidTM First strand cDNA Synthesis Kit (立陶宛 Fermentas 公司), Trizol (美国 Invitrogen 公司), SYBGreen PCR Mix (瑞士 Roche Applied Science 公司), 酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒 (上海 Dakewe Biotech 公司)。

1.3 CLP 模型的复制

对照组未做任何处理, 脓毒血症组和 Oglu 组复制

脓毒血症模型。将大鼠用 40 mg/kg 水合氯醛麻醉, 在腹壁切开 2 cm 腹中线切口以暴露盲肠, 用 18 号针刺穿 2 次。通过穿刺伤口挤出少量的盲肠内容物后, 封闭手术切口。给予 0.9% 无菌盐水溶液, 按 24 ml/kg 体重进行液体复苏。参照文献 [6], Oglu 组采用中剂量高分子量 Oglu (3%, 1 000 mg/kg)。Oglu 组大鼠经口灌胃 Oglu 溶液, 脓毒血症组和对照组大鼠喂养等量糖盐水。

1.4 ELISA

在 Oglu 或糖盐水灌胃后 12 和 24 h 收集全血。按照 ELISA 试剂盒说明书进行操作, 测量血清白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 和降钙素原 (Procalcitonin, PCT) 的浓度。

1.5 苏木精-伊红染色法

分别于实验 12 和 24 h 各处死大鼠 5 只, 手术切除空肠组织标本, 固定、石蜡包埋, 用苏木精-伊红染色法 (hematoxylin-eosin staining, HE) 染色。在光学显微镜下观察切片, 空洞黏膜损伤的病理评分参照文献 [7]。盲法测定: 0 级, 正常黏膜和绒毛; 1 级, 上皮间隙增大, 血管堵塞; 2 级, 上皮间隙明显扩大, 上皮和固有层分离; 3 级, 黏膜上皮和部分绒毛尖端剥落; 4 级, 绒毛脱落, 固有层和扩张血管暴露; 5 级, 固有层显示分解, 出血和溃疡。

1.6 PCR 和 Western blot 检测

采用 Trizol 提取小肠黏膜组织 RNA, 紫外分光光度计检测 RNA 完整性及纯度, 以 1 μ g 总 RNA 为模板进行逆转录, 生成 cDNA, 具体步骤参照 Fermentas RNA 逆转录试剂盒说明书。获得的 RNA 置于 -70 $^{\circ}$ C 冰箱备用。同时采用 RIPA 裂解液提取小肠组织总蛋白。用 PCR、Western blot 检测各组小肠组织中 HIF-1 α 、 β -catenin、TCF-4、MMP-13 表达的变化。HIF-1 α 引物序列: 5' -CTGGATGCTGGTGATTTAG AGTTCAAACTGAGTCAATCCCA-3'; β -catenin 引物序列: 5' -ATGGGTAGGGCAAATCAGTAAGAGGTA AGCATCGTATCACAGCAGGTTAC-3'; TCF-4 引物序列: 5' -CGAGTGCACGTTGAAAGAAAATGTGAAGCT

GTCGCTCCTT-3' ;MMP-13 引物序列:5' -GCCTTCCTCTTCTTGAGCTGTTGGACCACTTGAGAGTTCG-3' ; β -actin 引物序列:5' -GATATCGCCGCGCTCGTCCGTCGGCTGGGGTGTGAAGGTCTC-3'。取蛋白样品与上样缓冲液混合煮沸变性,电泳分离,转至聚偏氟乙烯膜,室温下加入脱脂奶粉封闭,分别加入 HIF-1 α 单克隆抗体、 β -catenin 多克隆抗体、TCF4 多克隆抗体、MMP-13 多克隆抗体,室温下孵育过夜,在 ECL 化学发光检测系统上显影。所有实验程序经南华大学动物伦理委员会批准。

1.7 统计学方法

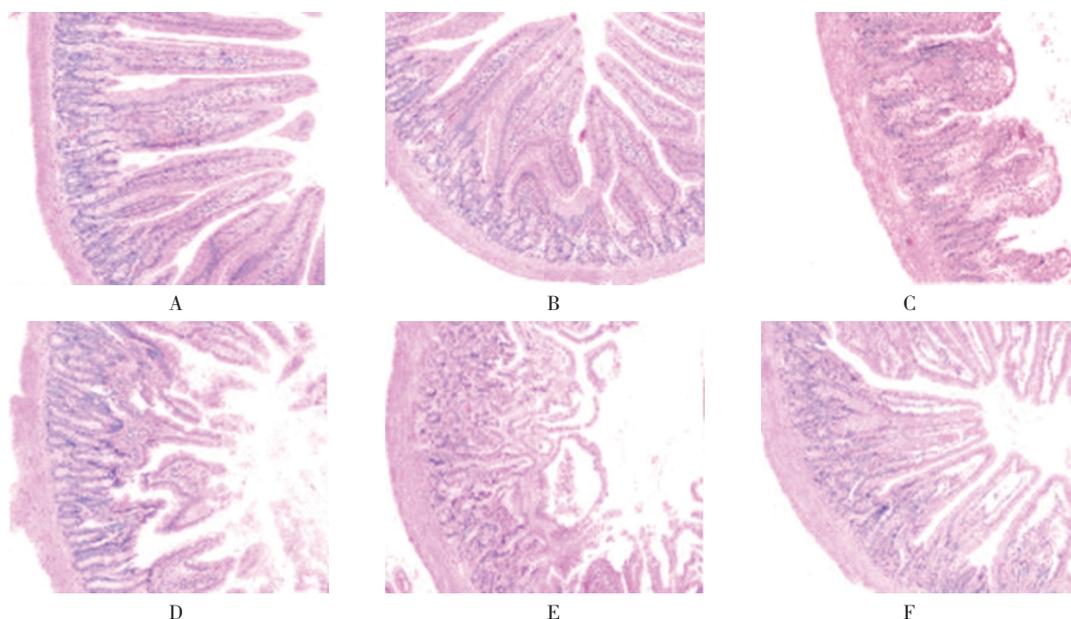
数据分析采用 SPSS 21.0 统计软件,计量资料以

均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,比较用单因素方差分析,两两比较用 LSD- t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠小肠黏膜病理学变化

不同时间的病理学检查结果显示,对照组均无肠黏膜损伤(见图 1A、B)。然而,脓毒血症组上皮细胞间隙增大,绒毛上皮细胞和隐窝细胞数量减少,绒毛上皮排列紊乱,部分绒毛尖端溢出(见图 1C、D)。相比之下,Oglu 组上皮细胞间隙仅在少数区域扩大,隐窝上皮细胞丰富(见图 1E、F)。



A: 对照组 12 h; B: 对照组 24 h; C: 脓毒血症组 12 h; D: 脓毒血症组 24 h; E: Oglu 组 12 h; F: Oglu 组 24 h

图 1 各组大鼠不同时间的空肠组织病理学变化 (HE \times 100)

2.2 各组血清 PCT、IL-6 及 TNF- α 水平

对照组 12h 与 24 h 的血清 PCT、IL-6 及 TNF- α 水平比较,经 t 检验,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。对照组、脓毒血症组、Oglu 组 12 和 24 h 血清 PCT 水平比较,经单因素方差分析,差异有统计学意义 ($F = 143.967$ 和 101.891 , 均 $P = 0.000$)。3 组 12 和 24 h 血清 IL-6 水平比较,经单因素方差分析,差异有统计学意义 ($F = 176.123$ 和 164.105 , 均 $P = 0.000$)。3 组 12 和 24 h 血清 TNF- α 水平比较,经单因素方差分析,差异有统计学意义 ($F = 499.941$ 和 217.978 , 均 $P = 0.000$)。进一步两两比较经 LSD- t 检验,脓毒血症组 12 和 24 h 血清 PCT、IL-6 及 TNF- α 水平高于其他组 ($P < 0.05$)。见表 1 和图 2。

2.3 各组大鼠肠损伤评分比较

对照组、脓毒血症组、Oglu 组大鼠 12 和 24 h 肠损伤评分比较,经单因素方差分析,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较经 LSD- t 检验,12 h 时,脓毒血症组和 Oglu 组肠损伤评分高于对照组 ($P < 0.05$); 24 h 时,脓毒血症组肠损伤评分高于 Oglu 组和对照组 ($P < 0.05$)。见表 2 和图 3。

2.4 Oglu 对脓毒血症大鼠 HIF-1 α 表达的影响

对照组、脓毒血症组、Oglu 组大鼠肠黏膜组织中 HIF-1 α mRNA 和蛋白表达水平比较,经单因素方差分析,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较经 LSD- t 检验,Oglu 组 HIF-1 α mRNA 和蛋白表达水平高于对照组和脓毒血症组 ($P < 0.05$)。见表 3 和图 4。

表 1 各组大鼠不同时间血清 PCT、IL-6 及 TNF-α 水平比较

(n=5, $\bar{x} \pm s$)

组别	PCT/ (ng/ml)	IL-6/ (ng/L)	TNF-α/(μg/L)	组别	PCT/ (ng/ml)	IL-6/ (ng/L)	TNF-α/(μg/L)
对照组				Oglu 组			
12 h	8.28 ± 0.47	23.74 ± 1.25	17.98 ± 1.13	12 h	20.50 ± 1.37	56.60 ± 1.34	70.42 ± 1.45
24 h	8.28 ± 0.47	23.74 ± 1.25	17.98 ± 1.13	24 h	19.16 ± 1.33	64.52 ± 3.21	75.26 ± 2.82
t 值	0.000	0.000	0.000	t 值	0.035	7.190	2.707
P 值	1.000	1.000	1.000	P 值	0.857	0.028	0.139
脓毒症组							
12 h	31.50 ± 3.46	63.98 ± 5.98	79.58 ± 5.46				
24 h	29.54 ± 3.83	77.50 ± 7.75	85.58 ± 9.06				
t 值	0.526	0.837	3.174				
P 值	0.489	0.387	0.113				

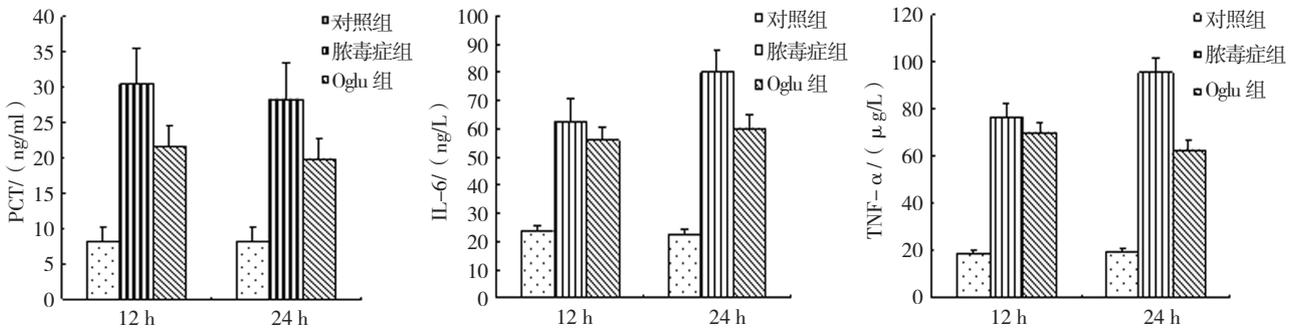


图 2 各组大鼠不同时间的血清炎症指标比较 (n=5, $\bar{x} \pm s$)

表 2 各组大鼠不同时间肠损伤评分比较

(n=5, 分, $\bar{x} \pm s$)

组别	12 h 肠损伤评分	24 h 肠损伤评分	t 值	P 值
对照组	0.20 ± 0.01	0.30 ± 0.02	0.030	0.868
脓毒血症组	1.74 ± 0.39	2.88 ± 0.57	0.503	0.498
Oglu 组	1.24 ± 0.38	1.50 ± 0.48	0.122	0.736
F 值	30.826	45.412		
P 值	0.000	0.000		

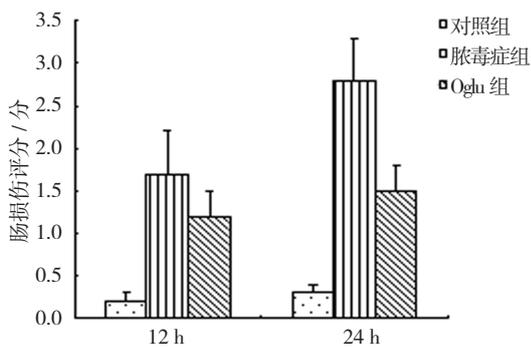


图 3 各组大鼠不同时间的肠损伤评分比较 (n=5, $\bar{x} \pm s$)

表 3 各组大鼠肠黏膜组织中 HIF-1α mRNA 和蛋白表达

水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	HIF-1α mRNA	HIF-1α 蛋白
对照组 (n=10)	0.900 ± 0.100 [†]	0.112 ± 0.013 [†]
脓毒血症组 (n=20)	1.240 ± 0.305 [†]	0.232 ± 0.024 [†]
Oglu 组 (n=20)	2.940 ± 0.568	0.436 ± 0.059
F 值	42.061	94.258
P 值	0.000	0.000

注: † 与 Oglu 组比较, P<0.05

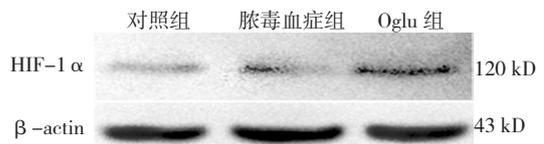


图 4 各组大鼠肠黏膜组织中 HIF-1α 蛋白的表达

2.5 实验前后各组 Wnt/β-catenin 信号通路相关分子的表达

2.5.1 β-catenin 对照组、脓毒血症组、Oglu 组大鼠肠黏膜组织中 β-catenin mRNA 和蛋白表达水平比较, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义

($P < 0.05$)。进一步两两比较经 LSD- t 检验, 脓毒血症组 β -catenin mRNA 和蛋白表达水平高于对照组和 Oglu 组 ($P < 0.05$)。见表 4 和图 5。

表 4 各组大鼠肠黏膜组织中 β -catenin mRNA 和蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	β -catenin mRNA	β -catenin 蛋白
对照组 ($n=10$)	$0.060 \pm 0.012^\dagger$	$1.080 \pm 0.130^\dagger$
脓毒血症组 ($n=20$)	0.291 ± 0.052	3.140 ± 0.643
Oglu 组 ($n=20$)	$0.124 \pm 0.018^\dagger$	$1.960 \pm 0.114^\dagger$
F 值	67.659	36.176
P 值	0.000	0.000

注: \dagger 与 Oglu 组比较, $P < 0.05$

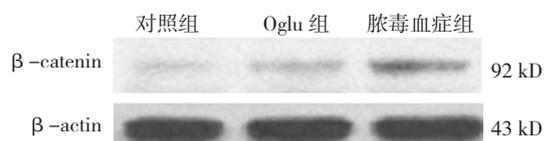


图 5 各组大鼠肠黏膜组织中 β -catenin 蛋白的表达

2.5.2 TCF-4 Wnt/ β -catenin 信号通路激活后, 可进一步活化核转录因子 TCF-4。对照组、脓毒血症组、Oglu 组大鼠肠黏膜组织中 TCF-4 mRNA 和蛋白表达水平比较, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较经 LSD- t 检验, 脓毒血症组 TCF-4 mRNA 和蛋白表达水平高于对照组和 Oglu 组 ($P < 0.05$)。见表 5 和图 6。

表 5 各组大鼠肠黏膜组织中 TCF-4 mRNA 和蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	TCF-4 mRNA	TCF-4 蛋白
对照组 ($n=10$)	$0.001 \pm 0.001^\dagger$	$1.068 \pm 0.094^\dagger$
脓毒血症组 ($n=20$)	0.105 ± 0.082	2.880 ± 0.630
Oglu 组 ($n=20$)	$0.010 \pm 0.003^\dagger$	$1.980 \pm 0.259^\dagger$
F 值	7.371	26.036
P 值	0.008	0.000

注: \dagger 与脓毒血症组比较, $P < 0.05$

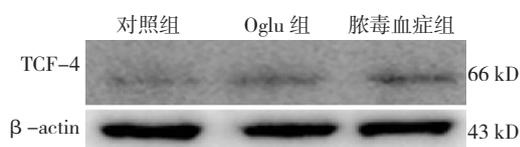


图 6 各组大鼠肠黏膜组织中 TCF-4 蛋白的表达

2.5.3 MMP-13 对照组、脓毒血症组、Oglu 组大鼠肠黏膜组织中 MMP-13 mRNA 和蛋白表达水平比较, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较经 LSD- t 检验, 脓毒血症组 MMP-13 mRNA 和蛋白表达水平高于对照组和 Oglu 组 ($P < 0.05$)。见表 6 和图 7。

表 6 各组大鼠肠黏膜组织中 MMP-13 mRNA 和蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	MMP-13 mRNA	MMP-13 蛋白
对照组 ($n=10$)	$0.100 \pm 0.016^\dagger$	$1.020 \pm 0.084^\dagger$
脓毒血症组 ($n=20$)	0.530 ± 0.050	2.720 ± 0.349
Oglu 组 ($n=20$)	$0.318 \pm 0.019^\dagger$	$1.820 \pm 0.084^\dagger$
F 值	222.25	79.779
P 值	0.000	0.000

注: \dagger 与脓毒血症组比较, $P < 0.05$

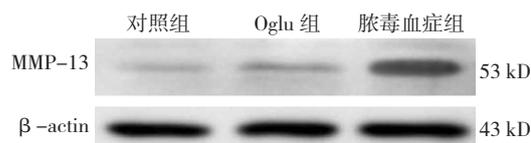


图 7 各组大鼠肠黏膜组织中 MMP-13 蛋白的表达

3 讨论

日常生活中, 燕麦对人体有很好的保健作用, 对胃肠道有调节保护作用, 但具体作用机制并不清楚。本研究采用燕麦中的主要有效成分 β -葡聚糖进行实验, 探索其保护肠道的作用机制。首先, 本研究观察到 Oglu 能减轻脓毒血症诱导的空肠病理改变, 抑制炎症反应, 如脓毒血症模型大鼠中血清 PCT、IL-6 及 TNF- α 水平降低。进一步探索 Oglu 保护空肠的分子机制, 结果表明 Oglu 对炎症细胞因子的抑制作用可能与上调 HIF-1 α 表达, 并调控 Wnt/ β -catenin 信号通路有关。

HIF-1 α 是人体组织中广泛表达的转录因子, 常氧环境下在胞浆内表达, 但极不稳定, 很快降解 (约 5 min)。而在低氧环境下可抑制 HIF-1 α 降解, 从而引起其在胞内积聚并转位至胞核, 在胞核内与 HIF-1 β 形成二聚体, 发挥转录活性, 最终激活下游各种与细胞增殖分化相关的基因的转录^[8]。基础研究证实, HIF-1 α 是低氧环境中起细胞调控作用的关键基因, HIF-1 α 在细胞中表达增加可能对低氧诱导的病理生理过程产生积极影响, 对缺血性疾病是有利的^[9-11]。

低氧能调节多信号途径, 增加自我更新, 同时减少基质 MIAMI 细胞的分化, 减少细胞衰老和凋亡, 这是人体在缺氧条件下自我修复的能力, HIF-1 α 表达上调就是这其中极为重要的一环^[12]。脓毒血症早期血流动力学改变, 导致血流重新分布, 同时动静脉分流, 胃肠黏膜血流减少, 肠道缺血再灌注, 肠黏膜屏障受损, 是启动 MODS 的重要因素^[13-15]。低氧刺激, 脓毒血症肠黏膜中 HIF-1 α 表达上调, 继而引起有效的抗炎作用, 在降低氧利用度的条件下限制组织损伤^[16]。本研究结果表明, 脓毒血症组小肠组织中 HIF-1 α 水平较对照组表达升高, 使用 Oglu 后, 脓毒血症大鼠小肠组织中 HIF-1 α 水平进一步升高, 与对照组和脓毒血症组有差异。结果表明, Oglu 能促进低氧时肠黏膜细胞合成 HIF-1 α , 其对 HIF-1 α 的调控作用, 可能是其发挥肠道抗缺血缺氧作用的关键机制之一。

Wnt 通路是决定胚胎发育过程和成体组织细胞命运的基本信号机制之一。在肠上皮中, 该途径调节肠干细胞的增殖。近年来研究发现, Wnt 通路在成体肠细胞的自我更新和分化中起关键作用^[17-18]。Wnt/ β -catenin 信号通路主要包括 Wnt 蛋白家族、 β -连环蛋白及相关抑制因子, 所谓经典 Wnt 信号传导的关键分子是 β -连环蛋白^[19]。许多研究显示, Wnt/ β -连环蛋白信号传导参与肠发育和组织代谢, 包括 β -连环蛋白或 *Tcf4* 基因的遗传消融或扩散性细胞外 Wnt 信号传导抑制剂的产生^[20]。Wnt 拮抗剂 Dickkopf-1 (Dkk1) 在肠上皮中的转基因表达影响小肠中的增殖和隐窝-绒毛组织, 由腺病毒递送介导的 Dkk1 系统表达诱导小肠和结肠的快速变性^[21-22]。Wnt/ β -catenin 是机体内一条非常保守的信号通路, 启动因子是 Wnt 蛋白, 在无 Wnt 蛋白启动因子刺激时, β -catenin 与 APC、GSK-3 β 、Axin 等组成复合体, β -catenin 被磷酸化降解, 因此无法启动所调控的靶基因转录。当胞外信号激活 Wnt 时, Wnt 蛋白和与跨膜受体卷曲蛋白的胞外区结合, 导致 Axin-GSK3 β -APC- β -catenin 复合体瓦解, β -catenin 在细胞质中增多, 依靠浓度梯度改变, 进入核内与 T 细胞因子/淋巴增强因子结合, 导致 Wnt 靶基因的表达, 启动下游靶基因的转录, 影响细胞的增值、分化、代谢及凋亡^[23]。因此, β -catenin 和 TCF-4 是 Wnt/ β -catenin 信号通路中的关键分子。Wnt/ β -catenin 通路过度激活可使小肠上皮细胞过度分化、成熟加速, 同时也导致蛋白酶表达异常, 而加速细胞外基质降解, 最终引起肠道功能紊

乱甚至癌变^[24]。本研究也发现, 对照组和 Oglu 组大鼠小肠组织中 β -catenin、TCF-4 mRNA 和蛋白表达水平较低, 而脓毒血症组 β -catenin、TCF-4 mRNA 和蛋白表达水平较高, 表明 Oglu 可能通过下调 Wnt/ β -catenin/TCF-4 通路, 发挥对脓毒血症小肠损伤的保护作用。MMP-13 是 Wnt/ β -catenin 信号通路下游参与细胞外基质代谢的重要分子^[25]。本研究结果发现, 脓毒血症组 MMP-13 mRNA 和蛋白表达水平较高, 对照组和 Oglu 组大鼠小肠组织中 MMP-13 表达水平较低, 这与 β -catenin 和 TCF-4 的表达趋势一致, 提示 Oglu 通过调控 Wnt/ β -catenin 信号通路, 发挥肠道保护作用。

综上所述, 本研究结果初步表明, 脓毒血症大鼠小肠损伤有 HIF-1 α 和 Wnt/ β -catenin/TCF 信号通路参与, 低氧状态下 Oglu 对 HIF-1 α 的合成有促进作用, 对 Wnt/ β -catenin 信号通路有一定的抑制作用, 从而发挥对小肠保护作用。但依然存在许多问题需要进一步阐明, 如 Oglu 对 HIF-1 α 的调节是否仅限于促进合成, 是否对 HIF-1 α 的氧依赖蛋白降解过程也有影响, Oglu 对 Wnt/ β -catenin 信号通路的其他靶基因的调节情况如何? 这些还有待进一步研究。

参 考 文 献:

- [1] GAO M, JIANG Y, XIAO X, et al. Protective effect of pioglitazone on sepsis-induced intestinal injury in a rodent model[J]. *J Surg Res*, 2015, 15, 195(2): 550-558.
- [2] ALVERDY J C, CHANG E B. The re-emerging role of the intestinal microflora in critical illness and inflammation: why the gut hypothesis of sepsis syndrome will not go away[J]. *J Leukoc Biol*, 2008, 83(3): 461-466.
- [3] DEITCH E A. Gut-origin sepsis: evolution of a concept[J]. *Surgeon*, 2012, 10(6): 350-356.
- [4] FINK M P, DELUDE R L. Epithelial barrier dysfunction: a unifying theme to explain the pathogenesis of multiple organ dysfunction at the cellular level[J]. *Crit Care Clin*, 2005, 21(2): 177-196.
- [5] RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ R, MARTÍN-BARRASA J L, RAMOS-NUE Z, et al. Multiple system Corgan response induced by hyperoxia in acclinically relevant animal model of Sepsis[J]. *Shock*, 2014, 42(2): 148-153.
- [6] LIU M, ZHANG Y, ZHANG H, et al. The anti-diabetic activity of oat β -d-glucan in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic mice[J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 10(91): 1170-1176.
- [7] CHIU C J, MCARDLE A H, BROWN R, et al. Intestinal mucosal lesion in low-flow states I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal[J]. *Arch Surg*, 1970, 101(4): 478-483.
- [8] SARKAR K, CAI Z, GUPTA R, et al. Hypoxia-inducible factor 1 transcriptional activity in endothelial cells is required for acute

- phase cardioprotection induced by ischemic preconditioning[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(26): 10504-10509.
- [9] HIROTA K, SEMENZA G L. Regulation of angiogenesis by hypoxia-inducible factor 1[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2006, 59(1): 15-26.
- [10] THANGARAJAH H, VIAL I N, GROGAN R H, et al. HIF-1 alpha dysfunction in diabetes[J]. *Cell Cycle*, 2010, 9(1): 75-79.
- [11] RESARJ R, ROGUIN A, VONE J, et al. Hypoxia-inducible factor 1alpha polymorphism and coronary collaterals in patients with ischemic heart disease[J]. *Chest*, 2005, 128(2): 787-791.
- [12] RIOS C, D'IPPOLITO G, CURTIS K M, et al. Low oxygen modulates multiple signaling pathways, increasing self-renewal, while decreasing differentiation, senescence, and apoptosis in stromal MIAMI cells[J]. *Stem Cells Dev*, 2016, 25(11): 848-860.
- [13] ALVERDY J C, CHANG E B. The re-emerging role of the intestinal microflora in critical illness and inflammation: why the gut hypothesis of sepsis syndrome will not go away[J]. *J Leukoc Biol*, 2008, 83(3): 461-466.
- [14] INCE C, SINAASAPPEL M. Microcirculatory oxygenation and shunting in sepsis and shock[J]. *Crit Care Med*, 1999, 27(7): 1369-1377.
- [15] SCHMIDT C, LAUTENSCHLÄGER C, PETZOLD B, et al. Confocal laser endomicroscopy reliably detects sepsis-related and treatment-associated changes in intestinal mucosal microcirculation[J]. *Br J Anaesth*, 2013, 111(6): 996-1003.
- [16] CLAMBAY E T, MCNAMEE E N, WESTRICH J A, et al. Hypoxia-inducible factor-1 alpha-dependent induction of FoxP3 drives regulatory T-cell abundance and function during inflammatory hypoxia of the mucosa[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(41): E2784-E2793.
- [17] CLEVERS H, NUSSE R. Wnt/beta-catenin signaling and disease[J]. *Cell*, 2012, 149(6): 1192-1205.
- [18] KRAUSOVA M, KORINEK V. Wnt signaling in adult intestinal stem cells and cancer[J]. *Cell Signal*, 2014, 26(3): 570-579.
- [19] VALENTA T, HAUSMANN G, BASLER K. The many faces and functions of beta-catenin[J]. *Embo J*, 2012, 31(12): 2714-2736.
- [20] JANECKOVA L, FAFILEK B, KRAUSOVA M, et al. Wnt signaling inhibition deprives small intestinal stem cells of clonogenic capacity[J]. *Genesis*, 2016, 54(3): 101-114.
- [21] PINTO D, GREGORIEFF A, BEGTHEL H, et al. Canonical Wnt signals are essential for homeostasis of the intestinal epithelium[J]. *Genes Dev*, 2003, 17(14): 1709-1713.
- [22] KUHNERT F, DAVIS C R, WANG H T, et al. Essential requirement for Wnt signaling in proliferation of adult small intestine and colon revealed by adenoviral expression of Dickkopf-1[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(1): 266-271.
- [23] SCHULTE G. Frizzleds and WNT/ β -catenin signaling—the black box of ligand-receptor selectivity, complex stoichiometry and activation kinetics[J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 763: 191-195.
- [24] TIAN A, BENCHABANE H, WANG Z, et al. Regulation of stem cell proliferation and cell fate specification by wingless/Wnt signaling gradients enriched at adult intestinal compartment boundaries[J]. *PLoS Genet*, 2016, 12(2): DOI: org/10.1371/journal.pgen.1005822.
- [25] BOUAZIZ W, SIGAUX J, MODROWSKI D, et al. Interaction of HIF1 α and β -catenin inhibits matrix metalloproteinase 13 expression and prevents cartilage damage in mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(19): 5453-5458.

(童颖丹 编辑)