

## 麦麸阿魏酰低聚糖对大鼠肝脏抗氧化功能的影响

王文文<sup>1,2</sup> 段元霄<sup>1,2</sup> 王园<sup>1,2\*</sup> 孟子琪<sup>3</sup> 安晓萍<sup>1,2</sup> 齐景伟<sup>1,2</sup>

(1. 内蒙古农业大学 动物科学学院, 呼和浩特 010018;

(2. 内蒙古自治区草食家畜饲料工程技术研究中心, 呼和浩特 010018;

(3. 内蒙古自治区农牧业科学院 动物营养与饲料研究所, 呼和浩特 010031)

**摘要** 为探讨麦麸阿魏酰低聚糖(Feruloyl oligosaccharides, FOs)对大鼠肝脏组织抗氧化功能的影响,选取40只健康断奶大鼠,随机分为5组,包括空白对照组(生理盐水)、阳性对照组( $w(\text{Vc})=100\text{ mg/kg}$ )、低剂量组( $w(\text{FOs})=20\text{ mg/kg}$ )、中剂量组( $w(\text{FOs})=40\text{ mg/kg}$ )和高剂量组( $w(\text{FOs})=80\text{ mg/kg}$ )。试验期为21 d,每日定时灌胃。试验结束后,收集肝脏组织,通过酶联免疫吸附试验法测定其抗氧化相关指标,利用RT-PCR和Western Blot技术分别分析抗氧化相关基因的mRNA和蛋白表达量。结果表明:1)随着FOs剂量增加,谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-Px)和超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活性,谷氨酸-半胱氨酸连接酶催化亚基(Glutamate cysteine ligase catalytic subunit, GCLC)、醌氧化还原酶1(NAD(P)H quinone oxidoreductase 1, NQO1)、CAT、SOD、GSH-Px和核因子E2相关因子2(Nuclear factor erythroid 2 p45-related factor 2, Nrf2)的mRNA表达水平二次方增加,Nrf2蛋白表达水平线性增加( $P<0.05$ ),而8-羟基脱氧鸟苷(8-hydroxy deoxyguanosine, 8-OHdG)含量线性和二次方极显著下降( $P<0.01$ )。2)与Vc组相比,低剂量组中的GSH-Px活性和8-OHdG含量极显著降低( $P<0.01$ ),而CAT的mRNA表达水平显著增加( $P<0.05$ );中剂量组中的总抗氧化能力(Total antioxidant capacity, T-AOC)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)活性和8-OHdG含量显著降低( $P<0.05$ ),而GCLC、NQO1、CAT、SOD、GSH-Px和Nrf2的mRNA表达水平显著增加( $P<0.05$ );高剂量组中的SOD和GSH-Px活性和8-OHdG含量显著降低( $P<0.05$ )。综上,FOs可增强肝脏抗氧化酶活性,减少DNA氧化损伤,且可提高Nrf2及其下游抗氧化基因的mRNA表达水平,且以中剂量40 mg/kg BW的使用剂量效果最佳。

**关键词** 阿魏酰低聚糖; 大鼠; 肝脏; 抗氧化

中图分类号 S859.7

文章编号 1007-4333(2021)09-0137-09

文献标志码 A

## Effects of wheat bran feruloylated oligosaccharides on antioxidant capacity in rat liver

WANG Wenwen<sup>1,2</sup>, DUAN Yuanxiao<sup>1,2</sup>, WANG Yuan<sup>1,2\*</sup>, MENG Ziqi<sup>3</sup>, AN Xiaoping<sup>1,2</sup>, QI Jingwei<sup>1,2</sup>

(1. College of Animal Science, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China;

2. Inner Mongolia Herbivorous Livestock Feed Engineering and Technology Research Center, Hohhot 010018, China;

3. Institute of Animal Nutrition and feed Inner Mongolia Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Hohhot 010031, China)

**Abstract** To investigate the effects of wheat bran feruloylated oligosaccharides (FOs) on the antioxidant capacity in rat liver, forty healthy weaned rats were randomly assigned to five groups, including control (normal saline), positive control ( $w(\text{Vc})=100\text{ mg/kg}$ ), low-dose ( $w(\text{FOs})=20\text{ mg/kg}$ ), medium-dose ( $w(\text{Fos})=40\text{ mg/kg}$ ), and high-dose ( $w(\text{FOs})=80\text{ mg/kg}$ ) FOs groups. The experiment duration was 21 d. The normal saline, Vc and FOs were given by

收稿日期: 2020-11-04

基金项目: 内蒙古自然科学基金项目(2020MS03041);内蒙古自治区关键技术攻关计划项目(2020GG0030);内蒙古农业大学科技成果转化专项资金(YZGC2017025);内蒙古自治区科技重大专项(2020ZD0004)

第一作者: 王文文, 博士研究生, E-mail: wangwenwen2017@emails.imau.edu.cn

通讯作者: 王园, 副教授, 主要从事生物饲料的研发与应用研究, E-mail: wangyuan.926@163.com

gavage every day. At the end of the experiment, the liver tissues were collected to measure antioxidant related indexes by ELISA. The mRNA expression of antioxidant related genes and the protein expression of Nrf2 were determined using RT-PCR and Western Blot, respectively. The results showed that: 1) With the increase of FOs dosage, the SOD and GSH-Px activities, *GCLC*, *NQO1*, *CAT*, *SOD*, *GSH-Px* and *Nrf2* mRNA expression level were increased quadratically, the protein expression level of Nrf2 was increased linearly ( $P < 0.05$ ), whereas 8-OHdG concentrations was decreased linearly and quadratically ( $P < 0.01$ ). 2) Compared with Vc, low-dose group had greater *CAT* mRNA expression level ( $P < 0.05$ ), and lower GSH-Px activity and 8-OHdG concentrations ( $P < 0.01$ ); medium-dose group had greater *GCLC*, *NQO1*, *CAT*, *SOD*, *GSH-Px* and *Nrf2* mRNA expression level ( $P < 0.05$ ), and lower T-AOC, *CAT* activity and 8-OHdG concentrations ( $P < 0.05$ ); high-dose group had lower GSH-Px activity and 8-OHdG concentrations ( $P < 0.05$ ). In conclusion, FOs could increase antioxidant enzymes activity, decrease DNA oxidative damage, and increase mRNA expression level of *Nrf2* and downstream antioxidant genes. The suitable dietary supplemental level of FOs is 40 mg/kg BW.

**Keywords** feruloylated oligosaccharide (FOs); rat; liver; antioxidant capacity;

动物机体的正常生理代谢、外源性刺激及内源性刺激均会产生自由基(Reactive oxygen species, ROS),大量的自由基累积会损伤DNA、蛋白质及脂质等生物大分子,产生氧化应激。研究发现,氧化应激会以肝脏为靶点,损伤肝细胞结构和功能,进而造成机体正常生理功能障碍<sup>[1]</sup>。此外,肝脏作为抗脂质过氧化损伤的中心器官,其抗氧化能力的高低对机体抵抗氧化应激有重要作用。多项研究表明,摄食多糖、多酚和黄酮等生物活性物质可提高肝脏抗氧化能力,缓解氧化应激,有利于改善动物健康状况<sup>[2-3]</sup>。

研究发现,摄食全谷物可以预防与氧化应激相关的疾病,如心血管疾病、2型糖尿病和癌症等<sup>[4]</sup>。因小麦麸皮中富含酚酸类化合物和非淀粉多糖,利用其制备出的麦麸阿魏酰低聚糖(Feruloyl oligosaccharides, FOs),具有良好的抗氧化效果<sup>[5]</sup>。Zhao等<sup>[6]</sup>体外试验结果发现,从小麦麸皮中制备出4种不同聚合度的FOs,均具有清除DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)自由基、超氧化物自由基和羟自由基的作用。Wang等<sup>[7]</sup>研究结果表明,用FOs处理体外培养的人淋巴细胞,可缓解细胞中的DNA氧化应激损伤。本课题组前期研究结果也表明,利用微生物发酵法制备的FOs有良好的体外抗氧化功能,可有效清除DPPH自由基和羟基自由基<sup>[8]</sup>。然而,上述关于FOs的抗氧化作用研究多集中在体外试验上,其是否会对体内肝脏抗氧化能力产生影响鲜有报道。因此,本研究以SD大鼠为模型,分析FOs对其肝脏抗氧化酶活力、抗氧化物质谷胱甘肽(Reduced glutathione, GSH)、氧化代谢产物8-羟基脱氧鸟苷(8-hydroxy deoxyguanosine,

8-OHdG)、抗氧化相关基因mRNA表达水平及蛋白表达水平的影响,以期对微生物发酵法制备的FOs在动物生产中的应用及其对肝脏抗氧化机制研究提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 麦麸 FOs 的制备

参照郝希然<sup>[8]</sup>的方法制备麦麸FOs。以小麦麸皮为原料,利用枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、地衣芽孢杆菌D3(*Bacillus licheniformis* D3)和酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)进行混菌发酵。发酵结束后,将发酵样品烘干、粉碎,经过水提、去蛋白、分级醇沉等一系列操作得到FOs粗提物。通过大孔树脂Amberlite XAD-2对FOs粗提物进行分离纯化,获得的FOs的质量浓度为2 668.34 nmol/g,其单糖组成主要是阿拉伯糖和木糖,并进行动物试验。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 试验设计

试验选取40只健康断奶雄性SD大鼠,购于北京维通利华公司(动物质量合格证号:1100111911029973),按体重相近的原则完全随机设计分为5个组,正常对照组:生理盐水;阳性对照组: $w(\text{Vc})=100 \text{ mg/kg}$ ;低剂量组、中剂量和高剂量组分别灌胃FOs的剂量分别为: $w(\text{FOs})=20 \text{ mg/kg}$ ,  $w(\text{FOs})=40 \text{ mg/kg}$ ,  $w(\text{FOs})=80 \text{ mg/kg}$ ,加入Vc和FOs的剂量均以每kg体重为基础,如其中 $w(\text{Vc})=100 \text{ mg/kg}$ 表示每kg体重加入Vc的剂量为100 mg,每个处理8只SD大鼠。

### 1.2.2 饲养管理

本研究在内蒙古农业大学动物科学学院进行, 常规饲养管理, 自由采食、饮水。饲养期 21 d, 每日定时灌胃生理盐水、Vc 及 FOs 水溶液 1 mL。大鼠基础饲料购于江苏协同医药生物工程有限公司。

### 1.3 样品采集

试验结束后, 乙醚致晕, 剖开腹腔, 收集肝脏组织, 液氮速冻后将样品存于  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱中待测。

### 1.4 测定指标及方法

#### 1.4.1 肝脏抗氧化指标测定

取适量肝脏组织, 加磷酸盐缓冲液 (PBS,  $0.01\text{ mol/L}$ ,  $\text{pH } 7.4$ ) 制备 10% (质量) 组织匀浆,  $3\ 000\text{ r/min}$  离心 10 min, 取上清液用于抗氧化相关指标测定。总抗氧化能力 (Total antioxidant capacity, T-AOC)、过氧化氢酶 (Catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathione peroxidase, GSH-Px) 及超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD) 活性测试盒以及谷胱甘肽 (Reduced glutathione, GSH) 和 8-羟基脱氧鸟苷 (8-hydroxy deoxyguanosine, 8-OHdG) 含量测试盒

均购自武汉基因美生物科技有限公司。所有操作均按说明书进行。

#### 1.4.2 mRNA 表达水平的检测

采用 Trizol 法提取肝脏组织总 RNA。经微孔板分光光度计测得  $A_{260\text{ nm}}$  和  $A_{280\text{ nm}}$  比值为  $1.8\sim 2.0$ , 琼脂糖凝胶电泳法评价 RNA 质量。参照 FastQant RT Kit (with gDNase) 说明书分别将各样品的总 RNA 进行逆转录合成 cDNA, 并以此为模板, 使用表 1 所列的引物, 按照 SuperReal PreMix Plus (SYBR Green) 说明书进行 Real-time PCR 检测。以  $\beta$ -肌动蛋白 ( $\beta$ actin) 为内参, 谷氨酸-半胱氨酸连接酶催化亚基 (Glutamate cysteine ligase catalytic subunit, GCLC)、醌氧化还原酶 1 (NAD(P)H quinone oxidoreductase 1, NQO1)、谷氨酸-半胱氨酸连接酶调节亚基 (Glutamate cysteine ligase modifier subunit, GCLM)、血红素氧合酶 (Heme oxygenase 1, HO-1)、CAT、SOD、GSH-Px 及 *Nrf2* 的相对表达量采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法进行计算。引物由生工生物(上海)股份有限公司合成, 详细信息见表 1。

表 1 抗氧化基因的引物序列信息

Table 1 Information of primer sequences of antioxidant genes

基因 Gene	上下游引物序列 ( $5'\sim 3'$ ) Nucleotide sequences ( $5'\sim 3'$ )	片段大小/bp Size	基因序列号 GenBank No.
<i><math>\beta</math>actin</i>	F: CCTAAGGCCAACCGTGAAAA R: CAGAGGCATACAGGGACAACAC	103	NM_031144.2
<i>Nrf2</i>	F: TTGGCAGAGACATTCCCATTTGTA R: GAGCTATCGAGTGACTGAGCCTGA	116	NM_031789.2
<i>GCLC</i>	F: GTGGACACCCGATGCAGTATTC R: CATCCACCTGGCAACAGTCATTAG	87	NM_012815.2
<i>GCLM</i>	F: AGACCGGGAACCTGCTCAAC R: GATTTGGGAGCTCCATTTCATTCA	113	NM_017305.2
<i>HO-1</i>	F: AGGTGCACATCCGTGCAGAG R: CTTCAGGGCCGTATAGATATGGTA	120	NM_012580.2
<i>NQO1</i>	F: TGGAAGCTGCAGACCTGGTG R: CCCTTGTTCATACATGGTGGCATAAC	133	NM_017000.3
<i>CAT</i>	F: GAACATTGCCAACCACCTGAAAG R: GTAGTCAGGGTGGACGTCAGTGAA	85	NM_012520.2
<i>SOD</i>	F: GGCAAAGGTGGAAATGAAGAAA R: CAGTTTTCAGGACAGCAGATGAG	136	NM_017050.1
<i>GSH-Px</i>	F: AGGAGAATGGCAAGAATGAAGAGA R: GGAAGGTAAAGAGCGGGTGAG	135	NM_030826.3

### 1.4.3 蛋白表达水平的检测

用蛋白裂解液裂解肝脏组织后,取上清液用BCA蛋白浓度试剂盒(Thermo,美国)测定上清液中总蛋白含量,然后在100℃下煮沸5 min使样品蛋白质变性,待样品冷却至室温,加入到制备好的聚丙烯酰胺凝胶中,每孔上样30 μg总蛋白。80 V恒压电泳到分离胶顶端,120 V恒压电泳至溴酚蓝接近分离胶底部,直至分离出目的蛋白条带。随后在4℃、100 V条件下将蛋白转移到硝酸纤维素膜上,室温下封闭1 h,然后经一抗Nrf2抗体和β-actin抗体(1:1 000, Biorbyt, 英国)及二抗山羊抗兔IgG H&L抗体(1:10 000, Abcam)孵育后,用ECL显色液进行荧光显色,置于蛋白凝胶成像仪(GE Healthcare, 美国)下成像,利用Image J软件进行目的蛋白定量分析,得到肝脏组织中Nrf2和β-actin蛋白表达量。

### 1.5 统计分析

本研究数据采用SAS 9.2统计软件GLM模型进行统计分析,空白处理组和不同剂量FOs处理组分别进行单因素方差、线性及二次趋势分析,同时使用contrasts语句进行不同处理间的两两比较。试验结果均以平均值和标准误表示, $P<0.05$ 表示差异显著, $P<0.01$ 表示差异极显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同剂量FOs对大鼠肝脏抗氧化指标的影响

由表2可知,灌胃不同剂量的FOs均可极显著提高SOD和GSH-Px的活性( $P<0.01$ ),极显著减低8-OHdG含量( $P<0.01$ ),但对T-AOC, CAT和GSH等抗氧化相关指标无显著影响( $P>0.05$ )。随着FOs剂量增加,SOD和GSH-Px活性呈二次方增加,而8-OHdG含量呈线性和二次方下降( $P<0.01$ )。与对照组相比,Vc组大鼠肝脏的CAT,SOD和GSH-Px活性和8-OHdG的含量显著提高( $P<0.05$ )。与Vc组相比,FOs20组大鼠肝脏的GSH-Px活性和8-OHdG含量极显著降低( $P<0.01$ );FOs40组大鼠肝脏的T-AOC、CAT活性和8-OHdG含量显著降低( $P<0.05$ );FOs80组大鼠肝脏的SOD和GSH-Px活性和8-OHdG含量显著降低( $P<0.05$ )。此结果表明,不同剂量的FOs均可提高大鼠肝脏组织中SOD和GSH-Px的活性,均可降低氧化代谢产物8-OHdG的含量。

### 2.2 不同剂量FOs对大鼠肝脏抗氧化基因mRNA表达的影响

由表3所知,灌胃不同剂量的FOs可提高肝脏GCLC、CAT、SOD和GSH-Px的mRNA相对表达水平( $P<0.05$ ),但对GCLM、HO-1和NQO1的mRNA表达水平无显著影响( $P>0.05$ )。随着FOs剂量增加,GCLC、NQO1、CAT、SOD和GSH-Px的mRNA表达水平呈二次方增加( $P<0.01$ )。与对照组相比,Vc组大鼠肝脏的CAT和GSH-Px的mRNA表达水平显著提高( $P<0.05$ )。与Vc组相比,FOs20组大鼠肝脏CAT的mRNA表达水平显著增加;FOs40组大鼠肝脏GCLC、NQO1、CAT、SOD和GSH-Px的mRNA表达水平显著增加( $P<0.05$ )。此结果表明,不同剂量的FOs均可增加抗氧化酶的mRNA表达水平。

### 2.3 不同剂量FOs对大鼠肝脏Nrf2 mRNA表达的影响

由图1(a)所知,与对照组相比,40 mg/kg FOs可显著提高大鼠肝脏Nrf2的mRNA表达水平( $P<0.05$ )。随着FOs剂量增加,Nrf2的mRNA表达水平呈线性和二次方增加( $P<0.01$ )。与Vc组相比,FOs40组中大鼠肝脏Nrf2的mRNA表达水平极显著提高( $P<0.01$ )。此结果提示,40 mg/kg FOs可增加抗氧化信号通路中Nrf2的mRNA表达水平。

### 2.4 不同剂量FOs对大鼠肝脏Nrf2蛋白表达的影响

由图1(b和c)所知,与对照组相比,灌胃80 mg/kg FOs可显著提高大鼠肝脏Nrf2的蛋白表达水平( $P<0.05$ )。随着FOs剂量增加,Nrf2的蛋白表达水平呈线性增加( $P<0.05$ )。与对照组相比,Vc组中大鼠肝脏Nrf2的蛋白表达水平显著提高( $P<0.05$ )。此结果提示,80 mg/kg FOs可增加抗氧化信号通路中Nrf2的蛋白表达水平。

## 3 讨论

肝脏是十分重要的代谢器官,极易受到ROS的攻击,产生氧化应激。机体可以通过复杂的抗氧化体系(酶体系和非酶体系)来清除ROS,缓解氧化应激。酶体系包括GSH-Px、CAT及SOD等<sup>[9]</sup>。SOD可促进超氧化物向H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>转化,而GSH-Px和CAT负责将H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>转化为水。FOs是由阿魏酸羧基与低聚糖羟基通过酯键联接而成的一种阿魏酰衍

表 2 不同剂量 FOs 对大鼠肝脏抗氧化指标的影响

Table 2 Effects of FOs on the antioxidant indexes in rat liver

项目 Item	w(FOs) (mg/kg)				标准误差 SEM	P 值 P value						
	0	20	40	80		Vc	$P_T$	$P_L$	$P_Q$	Vc vs Control	Vc vs FOs20	Vc vs FOs40
总抗氧化能力/(U/mg) T-AOC	0.47	0.45	0.41	0.48	0.011	0.18	0.91	0.30	0.14	0.13	0.02	0.10
过氧化氢酶/(ng/mg) CAT	0.12	0.14	0.12	0.15	0.005	0.14	0.50	0.47	0.05	0.18	0.02	0.18
超氧化物歧化酶/(pg/mg) SOD	26.38	36.61	41.22	33.52	1.263	<0.01	0.12	<0.01	<0.01	0.17	0.49	0.02
谷胱甘肽过氧化物酶/(ng/mg) GSH-Px	0.17	0.18	0.24	0.19	0.005	<0.01	0.25	<0.01	<0.01	<0.01	0.23	<0.01
谷胱甘肽/(ng/mg) GSH	2.37	2.60	2.76	2.58	0.065	0.42	0.91	0.24	0.16	0.23	0.90	0.17
8-羟基脱氧鸟苷/(pg/mg) 8-OHdG	20.69	16.81	12.46	14.70	0.875	<0.01	<0.01	<0.01	0.08	<0.01	<0.01	<0.01

注： $P_T$ ，不同 FOs 添加剂量的处理效应； $P_L$ ，不同 FOs 添加剂量的二次曲线效应； $P_Q$ ，不同 FOs 添加剂量的二次曲线效应；Vc vs Control/Vc vs FOs20/Vc vs FOs40/Vc vs FOs80，Vc 分别与不同 FOs 添加剂量组作两两比较；下同。

Note:  $P_T$ , the treatment effect of FOs (w(FOs) = 0, 20, 40 and 80 mg/kg), respectively;  $P_L$ , linear effect of FOs (w(FOs) = 0, 20, 40 and 80 mg/kg), respectively;  $P_Q$ , quadratic effect of FOs (w(FOs) = 0, 20, 40 and 80 mg/kg BW), respectively; Vc vs Control/Vc vs FOs20/Vc vs FOs40/Vc vs FOs80, contrasts comparison of Vc with different additive dose of FOs groups, respectively; The same below.

表3 不同剂量FOs对大鼠肝脏抗氧化基因mRNA表达的影响

Table 3 Effects of FOs on the mRNA expression of antioxidant genes in rat liver

项目 Item	w(FOs) (mg/kg)				标准误 SEM	P 值 P value							
	0	20	40	80		Vc	$P_T$	$P_L$	$P_Q$	Vc vs Control	Vc vs FOs20	Vc vs FOs40	Vc vs FOs80
谷氨酸半胱氨酸连接酶催化亚基 <i>GCCL</i>	1.00	1.52	2.64	1.87	1.34	0.153	0.03	0.14	<0.01	0.34	0.43	0.04	0.48
谷氨酸半胱氨酸连接酶修饰亚基 <i>GLCM</i>	1.01	1.06	1.07	0.86	0.87	0.040	0.56	0.22	0.17	0.99	0.78	0.65	0.32
血红素氧合酶-1 <i>HO-1</i>	1.01	0.92	1.11	1.15	0.94	0.052	0.83	0.92	0.73	0.81	0.46	0.56	0.57
醌氧化还原酶1 <i>NQO1</i>	1.01	1.47	1.85	1.14	1.00	0.105	0.11	0.80	0.01	0.56	0.31	0.03	0.81
过氧化物酶 <i>CAT</i>	1.00	2.45	2.83	1.41	1.59	0.182	<0.01	0.67	<0.01	0.03	<0.01	<0.01	0.46
超氧化物歧化酶 <i>SOD</i>	1.01	1.40	2.09	1.28	1.30	0.092	<0.01	0.24	<0.01	0.16	0.13	<0.01	0.69
谷胱甘肽过氧化物酶 <i>GSH-Px</i>	1.00	1.74	2.96	1.41	1.66	0.078	<0.01	0.30	<0.01	<0.01	0.19	<0.01	0.06

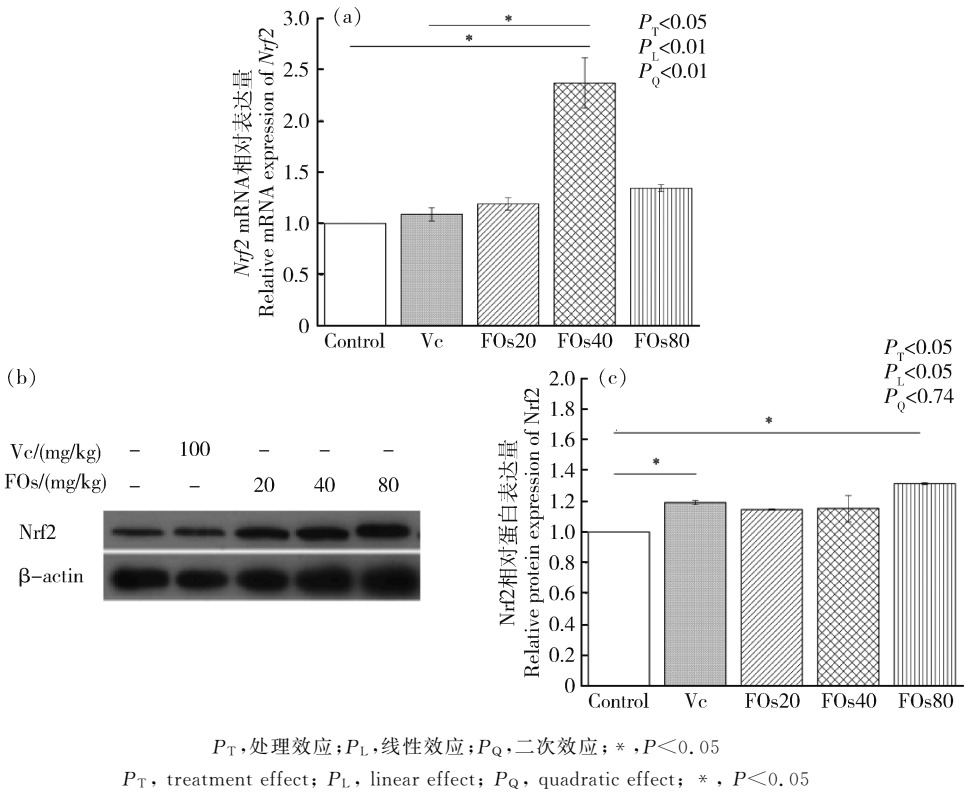


图 1 不同剂量 FOs 对大鼠肝脏 *Nrf2* 基因表达 (a) 和蛋白表达的影响 (b) 和 (c)

Fig. 1 Effect of FOs on the mRNA expression level (a) and protein expression (b) and (c) of *Nrf2* in rat liver

生物,同时具有阿魏酸和低聚糖的生理功能,如抗氧化、调节免疫、调节肠道菌群及益生等<sup>[10]</sup>。Wang 等<sup>[11]</sup>研究发现,在杜寒杂交羔羊日粮中添加 100~200 mg/kg FOs 可提高其血浆中 GSH-Px、CAT 及 SOD 的活力。与上述研究结果相似,本研究表明,灌胃不同剂量的 FOs 均可提高肝脏组织中 SOD 和 GSH-Px 的活性,同时可增加 CAT、SOD 和 GSH-Px 的 mRNA 表达水平,且中剂量组中大鼠肝脏 CAT、SOD 和 GSH-Px 的 mRNA 表达水平高于 Vc 组。由此推断,FOs 可增加大鼠肝脏抗氧化酶活性,提高机体抗氧化能力,且 40 mg/kg FOs 的抗氧化效果优于 Vc。FOs 的抗氧化作用可能是由于其含有阿魏酰基团和低聚糖基团,这些基团被证明具有抗氧化特性<sup>[12-13]</sup>。然而,与 Vc 组相比,灌胃高剂量 ( $w(\text{FOS})=80$  mg/kg) 的 FOs 给大鼠,对其抗氧化相关基因的 mRNA 表达量无影响。推测灌胃高剂量的 FOs 可能会对大鼠肝脏的抗氧化功能产生负面效应。此外,Maurya 等<sup>[14]</sup>研究体外试验结果表明,低剂量阿魏酸有良好的抗氧化特性,而高剂量则具有促进氧化的作用。

非酶体系包括谷胱甘肽(Reduced glutathione,

GSH)、维生素 C、维生素 E、类胡萝卜素、丙酮酸、类黄酮、胆红素及微量元素硒等<sup>[9]</sup>。GSH 主要在肝脏合成,可以提供电子,直接清除 ROS,也可作为 GSH-Px 的底物将  $\text{H}_2\text{O}_2$  转化为水<sup>[15]</sup>。本研究表明,灌胃不同剂量的 FOs 一定程度上增加了肝脏 GSH 的合成,表明其可通过增加 GSH 的合成提高机体抗氧化能力。8-OHdG 是 DNA 发生损伤时产生的主要有害代谢产物,是目前公认的评价氧化应激指标<sup>[16]</sup>。研究发现,FOs 可缓解由  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导的人淋巴细胞氧化应激,保护 DNA 免受氧化应激损伤<sup>[7]</sup>。本研究发现,与 Vc 组相比,不同剂量的 FOs 均可显著降低大鼠肝脏中 8-OHdG 的含量,表明其可作为一种抗氧化剂缓解 DNA 氧化应激损伤。由此推测,FOs 可通过增加非酶抗氧化剂 GSH 的含量和降低氧化代谢产物 8-OHdG 产生提高肝脏抗氧化能力。

*Nrf2* 是目前研究最多的抗氧化信号通路关键因子之一,其可调控抗氧化酶的表达。当氧化应激发生后,*Nrf2* 会被激活进入细胞核与抗氧化反应元件(Antioxidant response element, ARE)结合,促进 *HO-1*、*NQO1*、*GCLC*、*GCLM*、*CAT*、*SOD* 和

GSH-Px 等抗氧化相关靶基因的转录和表达<sup>[17]</sup>。HO-1 可通过与金属离子螯合、修饰蛋白巯基及清除自由基等方式防御氧化应激<sup>[18]</sup>。醌类可被 NQO1 直接被还原成氢醌,进而减少醌类转化产生的氧自由基,从而缓解醌类物质代谢引起氧化应激损伤<sup>[19]</sup>。谷氨酸-半胱氨酸连接酶是由催化亚基 GCLC 和调节亚基 GCLM 组成的二聚体,它可以调控 GSH 的合成<sup>[20]</sup>。已有研究表明,摄食植物提取物可通过提高抗氧化酶的表达水平提高机体抗氧化能力。李涵等<sup>[21]</sup>研究发现,玉香参附汤能够降低大鼠心肌组织 ROS 水平和丙二醛含量,增强 CAT、SOD 活性,提高 NQO1、HO-1 蛋白表达量和 Nrf2 蛋白核转移量。此外,原江水<sup>[22]</sup>研究发现,白藜芦醇可提高老龄大鼠肝脏组织中 GCLC 和 GCLM 等基因的表达水平。与上述研究结果相似,本研究发现,灌胃 FOs 可提高 *Nrf2*、*GCLC* 和 *NQO1* 的 mRNA 表达水平,且中剂量组大鼠肝脏 *Nrf2*、*GCLC* 和 *NQO1* 的 mRNA 表达水平高于 Vc 组。此外,80 mg/kg FOs 可增加抗氧化信号通路中 Nrf2 的蛋白表达水平。基于上述研究结果推测,FOs 处理大鼠肝脏抗氧化能力的提高可能与 Nrf2-ARE 信号通路的关键因子 Nrf2 的激活有关。

## 4 结 论

不同剂量的 FOs 均可增强肝脏抗氧化酶活性,减少 DNA 氧化损伤,且可提高 *Nrf2* 及其下游抗氧化基因的 mRNA 表达水平,且以中剂量 40 mg/kg BW 的使用剂量效果最佳。本研究证实 FOs 具有良好体内的抗氧化活性,有望作为一种抗氧化剂应用于保健食品中。

## 参考文献 References

- [1] 苗启翔, 谢彦娇, 唐湘方, 张宏福. 氧化应激的产生及其对畜禽肝脏功能的影响与机制[J]. 动物营养学报, 2019, 31(8): 3496-3504  
Miao Q X, Xie Y J, Tang X F, Zhang H F. Generation of oxidative stress as well as its effect and mechanism on liver function of livestock and poultry [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(8): 3496-3504 (in Chinese)
- [2] 甘利平, 杨维仁, 张崇玉, 张桂国. 植物提取物的生物学功能及其作用机理[J]. 动物营养学报, 2015, 27(9): 2667-2675  
Gan L P, Yang W R, Zhang C Y, Zhang G G. Biological functions of plant extracts and its mechanisms [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2015, 27(9): 2667-2675 (in Chinese)
- [3] 梁婷. 绿茶和茶多酚对高脂犬血脂、抗氧化、抗炎与免疫指标的影响[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2018  
Liang T. The effects of green tea and tea polyphenols on the serum lipid, anti-oxidant, anti-inflammatory and immunity indexes of high fat diet canines [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2018 (in Chinese)
- [4] Slavin J. Whole grains and human health [J]. *Nutrition Research Reviews*, 2004, 17(1): 99-110
- [5] Katileviciute A, Plakys G, Budreviciute A, Onder K, Damiani S, Kodzius R. A sight to wheat bran: High value-added products [J]. *Biomolecules*, 2019, 9(12): 887
- [6] Zhao W H, Chen H, Wu L G, Ma W B, Xie Y L. Antioxidant properties of feruloylated oligosaccharides of different degrees of polymerization from wheat bran. [J]. *Glycoconjugate Journal*, 2018, 35(6): 547-559
- [7] Wang J, Sun B G, Cao Y P, Song H L, Tian Y. Inhibitory effect of wheat bran feruloyl oligosaccharides on oxidative DNA damage in human lymphocytes [J]. *Food Chemistry*, 2008, 109(1): 129-136
- [8] 郝希然. 小麦麸皮阿魏酰低聚糖的发酵制备工艺及其体外抗氧化活性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2019  
Hao X R. Study on the microbial fermentation of wheat bran feruloylated oligosaccharides and its *in vitro* antioxidant activity [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2019 (in Chinese)
- [9] Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2004, 55(1): 373-399
- [10] 王文文, 王园, 尹娜, 齐景伟. 阿魏酰低聚糖的生理功能及其在动物生产中的应用前景[J]. 动物营养学报, 2021, 33(1): 77-84  
Wang W W, Wang Y, Yin N, Qi J W. Physiological functions of feruloylated oligosaccharides and its application prospects in animal production [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(1): 77-84 (in Chinese)
- [11] Wang Y, Meng Z Q, Guo J Q, Wang W W, Duan Y X, Hao X R, Wang R F, An X P, Qi J W. Effect of wheat bran feruloyl oligosaccharides on the performance, blood metabolites, antioxidant status and rumen fermentation of lambs [J]. *Small Ruminant Research*, 2019, 175: 65-71
- [12] Li Y J, Li L Y, Li J L, Zhang L, Gao F, Zhou G H. Effects of dietary supplementation with ferulic acid or vitamin E individually or in combination on meat quality and antioxidant capacity of finishing pigs [J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2015, 28(3): 374-381
- [13] Zhao B, Wang X Y, Liu H, Lv C, Lu J C. Structural characterization and antioxidant activity of oligosaccharides from *Panax ginseng* C A Meyer [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 150: 737-745.
- [14] Maurya D K, Devasagayam T P A. Antioxidant and



- prooxidant nature of hydroxycinnamic acid derivatives ferulic and caffeic acids[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2010, 48(12): 3369-3373
- [15] Espinosa-Diez C, Miguel V, Mennerich D, Kietzmann T, Sánchez-Pérez P, Cadenas S, Lamas S. Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress [J]. *Redox Biology*, 2015, 6: 183-197
- [16] 于晨, 董超然, 张照辉, 李倩, 曾慧慧. 8-羟基脱氧鸟嘌呤作为DNA氧化损伤标志物的研究现状[J]. *中国临床药理学杂志*, 2017, 33(13): 1267-1270
- Yu C, Dong C R, Zhang Z H, Li Q, Zeng H H. Review of the research on 8-hydroxy-2 deoxyguanosine as a DNA oxidative damage marker[J]. *The Chinese Journal of Clinical Pharmacology*, 2017, 33(13): 1267-1270 (in Chinese)
- [17] Ma Q. Role of Nrf2 in oxidative stress and toxicity[J]. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 2013, 53(1): 401-426
- [18] 孙健乐, 夏振炜, 张雪洪, 周同, 李云珠, 俞善昌. 保护基因HO在组织细胞中的作用及其机制研究进展[J]. *生命科学*, 2003, 15(4): 220-223
- Sun J L, Xia Z W, Zhang X H, Zhou T, Li Y Z, Yu S C. The advances on the protective action and mechanism of heme oxygenase gene in tissues and cells[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2003, 15(4): 220-223 (in Chinese)
- [19] Enomoto A, Itoh K, Nagayoshi E, Haruta J, Kimura T, O'Connor T, Harada T, Yamamoto M. High sensitivity of Nrf2 knockout mice to acetaminophen hepatotoxicity associated with decreased expression of ARE-regulated drug metabolizing enzymes and antioxidant genes [J]. *Toxicological Sciences*, 2001, 59(1): 169-177
- [20] Wild A C, Mulcahy R T. Regulation of  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase subunit gene expression: Insights into transcriptional control of antioxidant defenses [J]. *Free Radical Research*, 2000, 32(4): 281-301
- [21] 李涵, 姬广辉, 郭立杰, 吕菲菲, 关杉. 玉香参附汤对心脏骤停大鼠的心肌保护作用及对Nrf2、NQO1、HO-1表达的影响[J]. *中国中医急症*, 2018, 27(12): 2110-2114
- Li H, Ji G H, Guo L J, Lv F F, Guan S. Myocardial protection effect of Yuxiang shenfu decoction in rats with sudden cardiac arrest and its influences on the expressions of Nrf2, NQO1 and HO-1 [J]. *Journal of Emergency in Traditional Chinese Medicine*, 2018, 27(12): 2110-2114 (in Chinese)
- [22] 原江水. 白藜芦醇对大鼠的抗衰老作用研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013
- Yuan J S. Anti-aging activities of resveratrol in rats [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013 (in Chinese)

责任编辑: 秦梅