

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2024.05.017

# 黑豆皮提取物对果蝇结肠炎的保护作用

瞿涛, 肖桂然

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

**摘要:**黑豆是东方医学中常见的药食同源材料,黑豆皮提取物(black bean seed coat extract, BBSCE)含有高浓度的酚类化合物,具有很好的抗氧化和抗炎活性。文章采用十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)诱导的果蝇溃疡性结肠炎研究 BBSCE 对肠道损伤的防御作用。研究发现,果蝇在 SDS 暴露实验中,其存活率、攀爬能力以及肠道形态会受到显著影响,肠道屏障的完整性也会受到严重破坏。膳食喂养 BBSCE 可以有效地减轻 SDS 暴露对果蝇造成的损害,包括行为学损伤、肠道形态及肠道屏障的完整性。结果表明, BBSCE 可以通过改善肠道萎缩和提高肠道屏障的完整性保护肠道免受化合物造成的损伤,可为功能性食品或天然药物的开发提供理论依据。

**关键词:**果蝇;溃疡性结肠炎;黑豆皮提取物(BBSCE);肠道形态;肠道屏障完整性

**中图分类号:**TS209;R574.62 **文献标志码:**A **文章编号:**1003-5060(2024)05-0685-05

## Protective effect of black bean seed coat extract on *Drosophila colitis*

QU Tao, XIAO Guiran

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

**Abstract:** Black bean is a common medicinal and edible homologous material in oriental medicine, and the black bean seed coat extract(BBSCE) contains a high concentration of phenolic compounds, with good antioxidant and anti-inflammatory activities. The protective effect of BBSCE on intestinal injury was studied based on *Drosophila* ulcerative colitis induced by sodium dodecyl sulfate(SDS). It was found that the survival rate, climbing ability and intestinal morphology of *Drosophila* were significantly affected by SDS exposure, and the integrity of the intestinal barrier was severely damaged. Dietary BBSCE could effectively reduce the damage caused by SDS exposure to *Drosophila*, including behavioral damage, intestinal morphology and intestinal barrier integrity. These results indicate that BBSCE can protect the gut from damage caused by compounds by improving the intestinal atrophy and the integrity of the intestinal barrier, which can provide a theoretical basis for the development of functional foods or natural drugs.

**Key words:** *Drosophila*; ulcerative colitis; black bean seed coat extract(BBSCE); intestinal morphology; intestinal barrier integrity

## 0 引言

胃肠道的单层简单上皮控制营养吸收,协调身体的新陈代谢并保护其免受包括化学毒物或病

原体在内的管腔成分的伤害<sup>[1-2]</sup>。因此,维持肠道屏障的完整性对机体健康至关重要。溃疡性结肠炎是一种慢性复发性炎症性肠病,肠黏膜屏障结构损伤和功能失衡是其发生发展的重要机制,肠

收稿日期:2023-02-22;修回日期:2023-04-06

基金项目:国家自然科学基金资助项目(32170576);安徽省重点研究与开发计划资助项目(2022i01020007)

作者简介:瞿涛(1996—),男,安徽寿县人,合肥工业大学硕士生;

肖桂然(1988—),女,山东邹城人,博士,合肥工业大学教授,博士生导师,通信作者, E-mail: xiaoguiuran.101@163.com.

道的非特异性慢性炎症会导致各种并发症,例如结肠直肠癌的风险增加<sup>[3]</sup>。然而,目前的治疗方法存在一些局限性,如长期疗效不理想、耐药性和严重的全身副作用<sup>[4]</sup>。因此,迫切需要新的有效和持续的治疗方法。

黑豆是一种带有黑色种皮的大豆,在亚洲被广泛用作营养丰富的食品。黑豆在日本被称为“Kokuzui”,被用作预防糖尿病、帮助肝肾功能和增强利尿作用的传统草药。一些研究表明,从水果和蔬菜中提取的膳食花青素可以防止肠道炎症并为结肠提供健康益处<sup>[5-6]</sup>。黑豆种皮富含多酚,其中花青素的质量分数占到 30%<sup>[7-11]</sup>,因此黑豆皮可能是对抗溃疡性结肠炎的候选者。

果蝇是最重要的模式生物之一,在生物学的不同领域做出了重要的贡献。果蝇的消化系统包括前肠、前脑室、中肠和后肠,果蝇的肠道功能与哺乳动物相似<sup>[12]</sup>。比较基因组发现,果蝇与人类在疾病基因上有 75% 的基因具有同源性<sup>[13]</sup>。因此,果蝇已成为研究肠道生理和病理的有力模型。

本文利用模式生物果蝇研究发现,膳食摄入黑豆皮提取物(black bean seed coat extract, BBSCE)能显著挽救果蝇十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)暴露的表型,包括存活率、攀爬能力以及肠道形态。进一步研究表明,膳食摄入 BBSCE 能显著挽救 SDS 暴露导致的果蝇肠道屏障完整性的破坏。结果表明,膳食摄入 BBSCE 能够通过提高肠道屏障的完整性缓解 SDS 暴露,能够为防治肠道疾病提供新的线索。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

果蝇饲养在含有 BBSCE(4 mg/mL)或不含 BBSCE 的玉米培养基上,挑选子代雄蝇与处女蝇。野生型果蝇  $W^{1118}$  来自维也纳果蝇资源中心(Vienna Drosophila Research Center, VDRC); SDS(索莱宝),货号:S8010;亮蓝(索莱宝),货号:E8500; BBSCE(西安四季生物公司),批号: SJHD211025。

### 1.2 实验仪器

酶标仪(澳大利亚 INFINITE MNANO);体式显微镜(中国 LIOO);超高速低温离心机(德国 Eppendorf)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 以 SDS 构建果蝇肠道损伤模型

收集 1 d 内羽化的雄性果蝇与雌性处女蝇,

在羽化后约 3 d 时放置到空管内,饥饿 2 h,配置 5%蔗糖(sucrose, SUC)和 0.5% SDS+5% SUC 溶液,在培养管底部垫 3 层滤纸,每管加 200  $\mu$ L 配置好的各溶液,加溶液时移液枪枪头紧贴滤纸缓慢加液,避免将液体溅到管壁上。将饥饿后的雄性果蝇与雌性处女蝇按每管 10 只导入培养管内,每 12 h 配置新的加液培养管,将旧培养管内的果蝇转移到新的培养管内,在转移过程中避免果蝇粘在管底滤纸上。

#### 1.3.2 肠损伤模型果蝇存活率测定

以同 1 d 羽化的  $W^{1118}$  雄性与雌性果蝇构建肠损伤模型后,将喂食 5%蔗糖溶液的果蝇组作为对照组,喂食 SDS 溶液的果蝇作为实验组。膳食添加 BBSCE 的培养基上喂食 SUC 作为用药对照组、喂食 SDS 溶液作为挽救组,每 12 h 统计各组果蝇生存情况。每组 20 只果蝇,实验重复 3 次。

#### 1.3.3 果蝇攀爬能力测定

分别喂养于标准玉米培养基与添加 BBSCE 的玉米培养基上挑出的 3 日龄雄性  $W^{1118}$  与处女蝇为实验对象,在温度为 25  $^{\circ}$ C、湿度为 65% 的环境下进行实验。每组 10 只果蝇,转移到圆柱形玻璃管内,用足够的力量将果蝇移到内底面,用非常轻的力度反复敲击圆柱体上的封闭泡沫垫。每次实验从最后一次拍打果蝇开始,持续 7 s,并统计超过 10 cm 高度的果蝇数量。实验重复 3 次。

#### 1.3.4 果蝇肠道形态测定

以同一天羽化的  $W^{1118}$  雌性处女蝇为实验对象,构建肠损伤模型,对照组、实验组、用药对照组与挽救组同上,用 SDS 处理 48 h 后,在 1 $\times$ PBS 中解剖成虫。果蝇成虫肠道主要包括前肠、中肠、后肠与马氏管等部分,本实验解剖及统计主要获取果蝇成虫的中肠。本文使用 Image J 软件(美国 National Institutes of Health)统计中肠肠道长度。

#### 1.3.5 果蝇肠道通透性测定

将亮蓝按照 25 mg/mL 溶于 5%蔗糖溶液,用 0.22  $\mu$ m 滤膜过滤后无菌保存。用双层圆形滤纸片垫在管底,吸取 200  $\mu$ L 配置好的无菌亮蓝溶液,均匀地悬滴在滤纸片上。待检测的果蝇成虫先用二氧化碳麻醉,转移到空管内饥饿 2 h,再喂食亮蓝溶液。若果蝇肠道基底损伤较重,会使得肠道通透性增加,食入的亮蓝溶液会浸染口器、消化道、腹腔、胸腔、头部等部位,使得果蝇通体呈现蓝色,反之则亮蓝溶液只浸染口器与消化道。

喂食 7 d 后拍照,用 1×PBS 破碎匀浆,在 625 nm 处检测各组别果蝇吸光度值量化果蝇体内亮蓝浸染程度。

### 1.4 统计学分析

每组实验重复 3 次及以上,数据分析采用软件 GraphPad 的 t 检验进行组间比较和多组间的单因素方差分析(ANOVA)。统计结果以(平均值±标准差)表示。NS 表示无显著性差异;星号表示显著性的临界水平,\*表示  $P<0.05$ ,\*\*表示  $P<0.01$ ,\*\*\*表示  $P<0.001$ ,\*\*\*\*表示  $P<0.0001$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 BBSCE 对摄入 SDS 果蝇存活率的影响

为了研究 BBSCE 对化学诱导的溃疡性结肠炎的影响,本文采用炎症试剂 SDS 诱导的果蝇溃疡性结肠炎模型<sup>[14]</sup>。SDS 暴露的果蝇存活率的检测结果如图 1 所示。图 1 中:正常食物(normal food,NF)上喂食蔗糖溶液为对照组(NF);喂食 SDS 构建溃疡性结肠炎模型的果蝇组为实验组(NF-SDS);含有 BBSCE 的玉米培养基上喂食 BBSCE 为用药对照组(BBSCE);喂食 SDS 溶液的作为挽救组(BBSCE-SDS)。由图 1 可知,与 NF-SDS 组相比,添加 BBSCE 可显著提高 SDS 组的存活率;BBSCE-SDS 组与 NF-SDS 组相比,雄性果蝇的平均存活时间增加了 51.3%,雌性果蝇增加 133.3%。

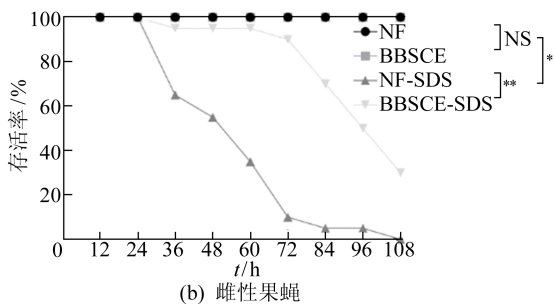
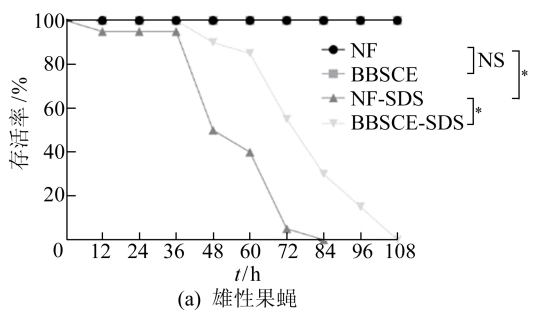


图 1 BBSCE 对 SDS 暴露果蝇存活率的影响

### 2.2 BBSCE 对摄入 SDS 果蝇攀爬能力的影响

攀爬能力是体现果蝇活性的一个重要指标,本文检测了 SDS 暴露条件下果蝇的攀爬能力,如图 2 所示。

从图 2 可以看出:与 NF 组相比,雌雄实验(NF-SDS)组均表现出更低的攀爬能力;雄性果蝇 NF-SDS 组相对 NF 组的攀爬能力下降了 42.1%,BBSCE-SDS 组相对 NF-SDS 组雄性果蝇攀爬能力上升了 45.4%;雌性果蝇 NF-SDS 组相对于 NF 组攀爬能力下降了 47.4%,添加 BBSCE 能显著挽救攀爬能力的下降,BBSCE-SDS 组雌性果蝇相对 NF-SDS 组雌性果蝇攀爬能力上升了 53.3%。

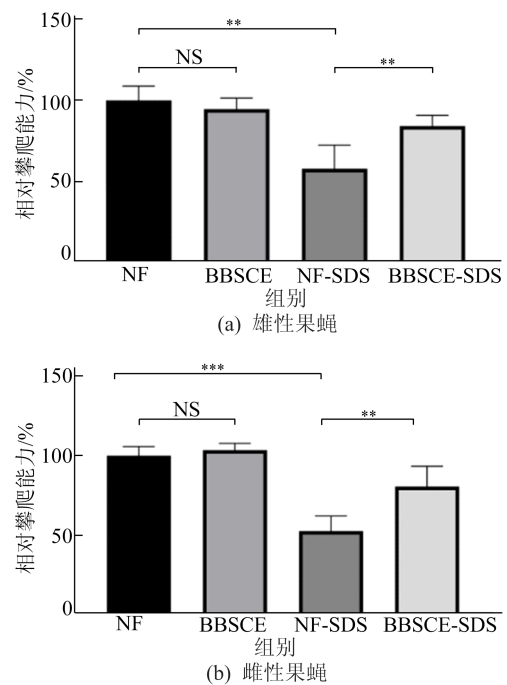


图 2 BBSCE 对果蝇攀爬能力的影响

### 2.3 BBSCE 对 SDS 暴露果蝇肠道形态的影响

在哺乳动物中,溃疡性结肠炎病变位置达到直肠和乙状结肠,能破坏肠道屏障,引起肠道萎缩,改变肠道形态<sup>[15]</sup>。为了探究 BBSCE 能否保护 SDS 造成的溃疡性结肠炎病变,本实验解剖果蝇成虫肠道,比较 NF 组、NF-SDS 组、BBSCE 组和 BBSCE-SDS 组的果蝇中肠道长度,探究 BBSCE 对果蝇肠道萎缩表型的挽救效果。实验结果如图 3 所示。

从图 3 可以看出,NF-SDS 组的肠道长度比 NF 组短 52%,添加 BBSCE 的挽救组(BBSCE-SDS)相比于 NF-SDS 组果蝇肠道长度延长了 39.4%。

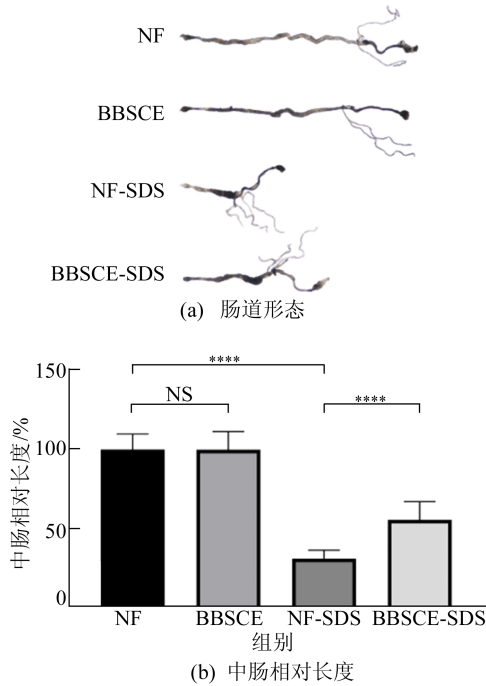


图 3 BBSCE 对果蝇肠道形态的影响

### 2.4 BBSCE 对果蝇肠道通透性的影响

肠道上皮是肠道抵御微生物、病原体、抗原等环境胁迫的第 1 道屏障,肠道屏障在维持肠道内稳态中扮演着重要的角色<sup>[16]</sup>。SDS 会破坏果蝇肠道上皮细胞,导致肠道形态的改变和通透性的增加,进而引起果蝇肠道屏障功能的丧失<sup>[17]</sup>。果蝇肠道屏障功能的丧失与否可以通过不可吸收的蓝色食用染料亮蓝检测,当肠道通透性增加时,亮蓝会透过肠上皮从而浸染果蝇全身<sup>[18]</sup>。为了研究 BBSCE 对溃疡性结肠炎的保护作用,使用亮蓝评估果蝇的肠道完整性,如图 4 所示。

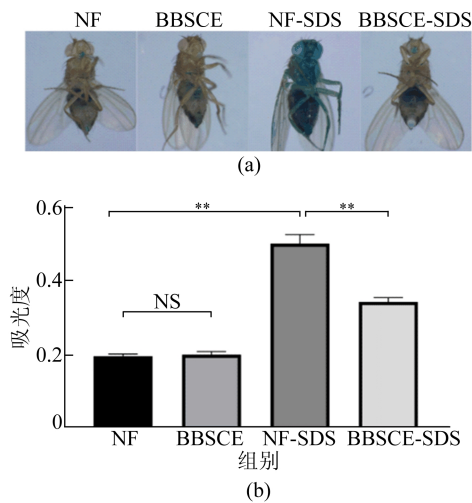


图 4 BBSCE 对果蝇肠道通透性的影响

结果表明,NF-SDS 组相对 NF 组吸光度增

加了 90%,补充 BBSCE 的挽救组吸光度相比 NF-SDS 组降低了 44%,说明 BBSCE 对 SDS 诱导的果蝇肠道通透性增加也有显著的挽救效果。

### 2.5 BBSCE 对果蝇寿命的影响

BBSCE 具有很好的抗氧化能力,但有关其抗氧化活性是否影响果蝇的寿命的报道并不多。BBSCE 对果蝇寿命的影响如图 5 所示。

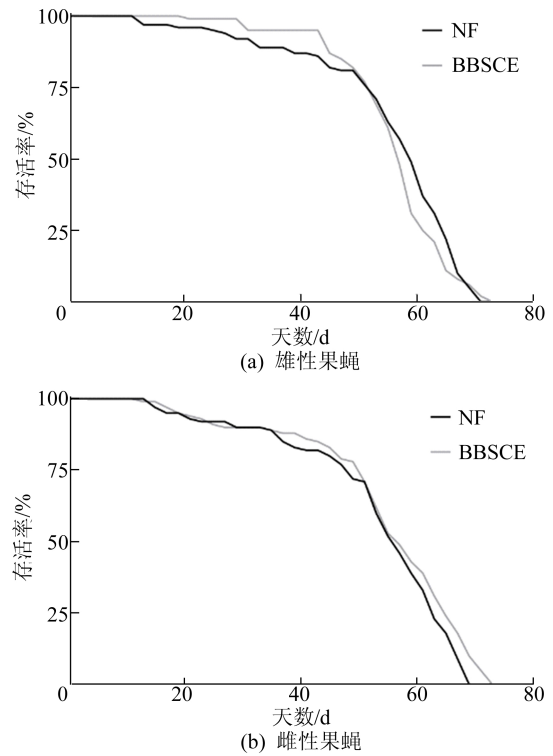


图 5 BBSCE 对果蝇寿命的影响

由图 5 可知:果蝇分别在标准玉米粉培养基和膳食添加 BBSCE 培养基饲养,发现长期喂食 BBSCE 能显著提高雌性果蝇的寿命,比对照组寿命增加 6.2%,然而对雄性果蝇寿命并未有显著性增加。

## 3 结 论

BBSCE 含有丰富的花青素(矢车菊素-3-O-葡萄糖苷),表现出各种有益的生物活性,如抗氧化剂、抗糖尿病和抗肥胖作用。虽然 BBSCE 的药理作用已被广泛研究和证实,但其对肠道炎症治疗的作用却鲜有报道。本文以果蝇为模式生物,发现在果蝇膳食中添加 BBSCE 对 SDS 诱导的溃疡性结肠炎果蝇生存率有挽救效果,且雌性果蝇挽救效果强于雄性果蝇。

研究结果表明:SDS 暴露使果蝇存活率降低和攀爬能力下降,而 BBSCE 能够有效地挽救这

些表型;当解剖果蝇肠道时发现,SDS暴露会改变肠道形态,BBSCE可以很好地挽救SDS诱导的肠道形态变化;亮蓝实验证明,经SDS处理果蝇肠道上皮被破坏,肠道通透性增加,而添加BBSCE对SDS诱导的果蝇肠道通透性增加也有显著的挽救效果;最后,发现膳食添加BBSCE能对雌性果蝇的寿命起到一定的延长作用,雄性果蝇并没有显著性效果。

综上所述,BBSCE可能通过降低果蝇肠道形态的改变和肠道通透性从而挽救肠损伤。本研究可能会提升对BBSCE的认识,为天然抗氧化提取物对肠道疾病的预防提供研究依据。

### [参 考 文 献]

- [1] LEY R E, PETERSON D A, GORDON J I. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine[J]. *Cell*, 2006, 124(4): 837-848.
- [2] RADTKE F, CLEVERS H. Self-renewal and cancer of the gut; two sides of a coin[J]. *Science*, 2005, 307(5717): 1904-1909.
- [3] LONG M, SHOU J, WANG J, et al. Ursolic acid limits salt-induced oxidative damage by interfering with nitric oxide production and oxidative defense machinery in rice[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 697.
- [4] AKRAM W, GARUD N, JOSHI R. Role of inulin as prebiotics on inflammatory bowel disease[J]. *Drug Discoveries & Therapeutics*, 2019, 13(1): 1-8.
- [5] ZHAO L, ZHANG Y, LIU G, et al. Black rice anthocyanin-rich extract and rosmarinic acid, alone and in combination, protect against DSS-induced colitis in mice[J]. *Food & Function*, 2018, 9(5): 2796-2808.
- [6] 李飞翔, 刘志华, 肖桂然. 黑豆皮对铅中毒导致果蝇机体损伤的影响研究[J]. *合肥工业大学学报(自然科学版)*, 2021, 44(3): 417-420.
- [7] NASSIRI-ASL M, HOSSEINZADEH H. Review of the pharmacological effects of *vitis vinifera* (Grape) and its bioactive constituents: an update [J]. *Phytotherapy Research*, 2016, 30(9): 1392-1403.
- [8] SYED D N, AFAQ F, SARFARAZ S, et al. Delphinidin inhibits cell proliferation and invasion via modulation of Met receptor phosphorylation[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2008, 231(1): 52-60.
- [9] TSUDA T, SHIGA K, OHSHIMA K, et al. Inhibition of lipid peroxidation and the active oxygen radical scavenging effect of anthocyanin pigments isolated from *Phaseolus vulgaris* L. [J]. *Biochemical Pharmacology*, 1996, 52(7): 1033-1039.
- [10] 陈萍, 张保石. 黑豆皮花青素降血脂及抗氧化效果[J]. *河北大学学报(自然科学版)*, 2016, 36(5): 524-528.
- [11] 李玉英, 白金晶, 李新, 等. 黑豆皮中花青素成分鉴定及细胞内抗氧化活性研究[J]. *山西农业科学*, 2018, 46(6): 899-904.
- [12] XIAO G, ZHOU B. What can flies tell us about zinc homeostasis[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2016, 611: 134-141.
- [13] KORONA D, KOESTLER S A, RUSSELL S. Engineering the *Drosophila* genome for developmental biology [J]. *Journal of Developmental Biology*, 2017, 5(4): 1-18.
- [14] WEI T, WU L, JI X, et al. Ursolic acid protects sodium dodecyl sulfate-induced *Drosophila* ulcerative colitis model by inhibiting the JNK signaling [J]. *Antioxidants*, 2022, 11(2): 426.
- [15] LANGAN R C, GOTSCH P B, KRAFczyk M A, et al. Ulcerative colitis: diagnosis and treatment [J]. *American Family Physician*, 2007, 76(9): 1323-1330.
- [16] 朱成雷, 穆晶晶, 徐静雯, 等. 紫甘薯花青素对DSS诱导的溃疡性结肠炎小鼠肠道屏障损伤的修复作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2020, 36(10): 1844-1853.
- [17] AMCHESLAVSKY A, JIANG J, IP Y T. Tissue damage-induced intestinal stem cell division in *Drosophila* [J]. *Cell Stem Cell*, 2009, 4(1): 49-61.
- [18] STAATS S, WAGNER A E, LUERSEN K, et al. Dietary ursolic acid improves health span and life span in male *Drosophila melanogaster* [J]. *Biofactors*, 2019, 45(2): 169-186.

(责任编辑 闫杏丽)