

岩藻多糖对免疫低下小鼠模型免疫功能和肠道菌群的调节作用

黄娟¹, 黄金莉¹, 孙佳悦², 李瑶¹, 李华军^{1*}

¹大连医科大学微生态学教研室 辽宁大连 116044

²大连海宝生物技术有限公司 辽宁大连 116044

摘要 目的:探究岩藻多糖(FUC)作为功能食品对免疫低下小鼠免疫功能及肠道菌群的调节作用。方法:40只雄性BABL/C小鼠随机分为4组,用环磷酰胺构建免疫低下小鼠模型,每天灌胃给予干预组高、低剂量的岩藻多糖,对照组、模型组每天给予等体积生理盐水。通过酶联免疫吸附试验、流式细胞术、16S rRNA基因高通量测序等方法,检测免疫低下小鼠的免疫功能和肠道菌群。结果:免疫低下模型小鼠机体免疫功能明显下降,小鼠脾脏组织和肠道组织损伤严重;经FUC干预后,小鼠脾脏组织、回肠组织形态破坏得到明显改善,脏器指数、血清中免疫球蛋白和细胞因子的质量浓度明显提高($P<0.05$)。菌群分析表明,属水平上,与正常组比,模型组小鼠盲肠内容物中拟杆菌含量显著升高($P<0.05$),乳酸杆菌、罗氏菌含量显著降低($P<0.05$);经FUC干预后,免疫低下小鼠肠道中失调的菌群得到良好的恢复;FUC干预的各组小鼠,肠道中菌群结构与正常组趋近。结论:FUC可有效提高免疫低下小鼠的免疫功能,并能有效缓解环磷酰胺造成的肠黏膜损伤,其作用机制可能与FUC对肠道菌群的调节作用有关。

关键词 岩藻多糖; 免疫低下小鼠; 免疫功能; 肠道菌群

文章编号 1009-7848(2022)05-0092-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.05.011

海藻是海带、紫菜、裙带菜等海洋藻类的总称,富含蛋白质、多糖、膳食纤维、矿物质等多种营养成分,食药两用,以食为主,是一种理想的天然海洋食品^[1]。岩藻多糖(Fucoidan, FUC)又名褐藻糖胶,是从海藻中提取出的一种水溶性多糖,主要由岩藻糖、硫酸盐以及少量的甘露糖、半乳糖和糖醛酸组成^[2],具有抗炎,调节机体肠道菌群和免疫应答等多种活性功能,常作为功能性食品应用于食品工业和医药领域^[3-4]。

肠道菌群是肠道中数量庞大、结构复杂的微生物群的总称,参与食物的消化吸收与能量代谢^[5]。正常情况下,肠道菌群与机体免疫系统处于动态平衡状态,维持着肠道微生态的稳定,对人体健康发挥着重要作用。当菌群数量或种类发生显著变化时,微生态平衡被打破,机体代谢紊乱、免疫失调,促使炎症以及相关代谢和免疫类疾病的发生^[6]。肠道菌群的构成不仅与个体基因和环境因素有关,还与日常饮食密切相关。长期食用“不健康”食物(例如过量的红肉)会导致肠道中有害菌的数量大大增加^[7],而增加膳食纤维的摄入可抑制

肠道中有害菌的繁殖并能增加有益菌的种类和数量^[8]。

目前,对岩藻多糖的研究多集中在成分结构、提取工艺以及单一的抗炎抗氧化作用等方面,而对其作为功能食品对肠道菌群的影响以及对机体免疫的调节作用鲜有报道。环磷酰胺是临床常见的抗肿瘤药和免疫抑制剂,它可以抑制免疫球蛋白以及相关细胞因子的产生^[9],并对肠道产生一定的损伤^[10]。本文以BABL/C小鼠为实验动物,给小鼠注射环磷酰胺,构建免疫低下模型。同时,灌胃给予免疫低下模型小鼠不同剂量的岩藻多糖水溶液。通过肠道菌群基因高通量测序技术,结合小鼠血清和组织中多种指标的变化,从肠道微生物的角度,揭示岩藻多糖对免疫低下小鼠免疫功能的影响。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

岩藻多糖(裙带菜来源),大连海宝生物技术有限公司;环磷酰胺,江苏恒瑞医药股份有限公司;ELISA试剂盒,江苏酶标生物科技有限公司;Stool DNA Isolation Kit,成都福际生物技术有限公司;流式免疫荧光抗体,博奥森生物技术有限公司

收稿日期:2021-05-15

作者简介:黄娟(1996—),女,硕士

通信作者:李华军 E-mail:lhjcmu@hotmail.com

司;4%多聚甲醛,北京索莱宝科技有限公司;其它化学试剂均为国产分析纯级。

1.2 主要仪器

MAXI-MIX II 涡旋混匀器、MULTIFUGE X1R 低温高速冷冻离心机、MULTSKAN FC 酶标仪,美国 Thermo 公司;光学显微镜 CX43,日本 Olympus 公司;流式细胞仪 Calibur,美国 BD 公司。

1.3 实验动物及饲料

雄性 SPF 级 BABL/C 小鼠【6~7 周龄,平均体

质量(22±2)g】。实验动物及小鼠基础饲料,均购自大连医科大学动物实验中心。

1.4 试验方法

1.4.1 动物模型建立与分组 实验小鼠在适应实验室环境一周后,随机分为 4 组(每组 10 只)。从实验第 1 天开始,每组小鼠每天灌胃给与相应溶液(不同添加量的岩藻多糖水溶液或生理盐水),连续 28 d;从第 25 天开始,连续 4 d 给小鼠腹腔注射环磷酰胺(正常组除外),具体分组见表 1。

表 1 实验动物分组

Table 1 Group of experimental mouse

分组	造模期(4 d)	干预期(28 d)
正常对照组(N)	生理盐水	生理盐水
免疫低下模型组(M)	环磷酰胺【60 mg/(kg·d)】	生理盐水
岩藻多糖低剂量组(FLM)	环磷酰胺【60 mg/(kg·d)】	岩藻多糖【50 mg/(kg·d)】
岩藻多糖高剂量组(FHM)	环磷酰胺【60 mg/(kg·d)】	岩藻多糖【250 mg/(kg·d)】

1.4.2 体质量与脏器指数检测 实验灌胃开始前一天晚上,给各组小鼠禁食 12 h 后称量每组小鼠空腹体质量,计为初始体质量;最后一次灌胃结束后当晚给小鼠禁食 12 h,第 2 天称量各组小鼠空腹体质量,计为最终体质量。之后,处死小鼠进行组织取材与称重。依据公式:脏器指数=脏器质量(mg)/体质量(g),对小鼠脾脏指数和胸腺指数进行计算与分析。

1.4.3 免疫指标检测

1.4.3.1 脾脏组织病理学分析 取新鲜的小鼠脾脏组织,在 4%多聚甲醛溶液中,浸泡过夜。次日,对脾脏组织进行石蜡包埋、连续切片、脱蜡、苏木精-伊红染色、中性树胶封片等试验操作。最后,在光学显微镜下观察各组小鼠脾脏组织形态学变化。

1.4.3.2 脾脏 T 淋巴细胞分析 取新鲜脾脏研磨成细胞悬液,镜下计数细胞后洗涤细胞,用 APC 偶联的抗小鼠 CD3 抗体标记脾脏细胞表面抗原,经孵育洗涤后上机检测,用 Novo Express 软件对结果进行分析。

1.4.3.3 血清免疫球蛋白、细胞因子及内毒素含量检测 所有动物在最后一次灌胃操作后,禁食 12 h。次日,对小鼠进行摘取眼球采血。所有血样

在室温下静置 60 min,以 3 000 r/min 的速度,在低温离心机内离心 15 min。后吸取上层淡黄色血清,分装至小试管内。按照试剂盒说明书步骤,采用酶联免疫吸附试验(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清中脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS),干扰素(IFN)- γ ,肿瘤坏死因子(TNF)- α ,白介素(IL)-4,免疫球蛋白(Ig)M 和 IgG 的质量浓度。

1.4.4 回肠组织病理学分析 取新鲜的小鼠回肠组织,在 4%多聚甲醛溶液中,浸泡过夜。次日,对回肠组织进行石蜡包埋、切片、脱蜡、染色、封片等试验操作。最后,在光学显微镜下观察各组小鼠回肠组织结构变化。

1.4.5 肠道菌群分析 试验结束时,在超净台内无菌收集各组小鼠盲肠内容物,放于-80℃冰箱保存待用;之后用试剂盒提取小鼠盲肠内容物 DNA,进行肠道菌群 16S rRNA 基因高通量测序,分析肠道菌群的物种组成以及在门水平与属水平上的变化。

1.5 数据处理与分析

SPSS 22.0 软件被用来分析试验数据,多组间在统计学上的比较,采用单因素方差分析。数据以“平均值±标准差”表示,以 $P < 0.05$ 为差异具有统

计学意义。

2 结果

2.1 岩藻多糖对小鼠体质量和脏器指数的影响

与正常对照组(N)相比较,免疫低下模型组(M)小鼠的体质量、脾脏指数和胸腺指数显著下降($P<0.05$)(表2),表明环磷酰胺对小鼠免疫造成

了严重损害,成功构建了小鼠免疫低下模型;经岩藻多糖干预后,高剂量(FHM)和低剂量岩藻多糖干预组(FLM)小鼠脾脏指数、胸腺指数与M组相比均显著上升($P<0.05$)(表2),表明岩藻多糖的干预有效缓解了环磷酰胺导致的小鼠脏器指数的降低。

表2 岩藻多糖对小鼠体质量和脏器指数的影响

Table 2 Effects of fucoidan on body weight and organ index in mice

分组	初始体质量/g	最终体质量/g	脾脏指数/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	胸腺指数/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$
N	23.07 ± 0.60	27.50 ± 0.71	3.23 ± 0.31	1.82 ± 0.43
M	23.1 ± 0.73	$23.60 \pm 1.78\#$	$1.36 \pm 0.27\#$	$0.39 \pm 0.24\#$
FLM	23.06 ± 0.84	24.77 ± 1.66	$1.82 \pm 0.12^*$	$1.02 \pm 0.19^*$
FHM	23.50 ± 0.95	24.35 ± 1.37	$1.91 \pm 0.26^*$	$1.00 \pm 0.28^*$

注:#表示与N组相比较具有显著性差异($P<0.05$),*表示与M组相比较具有显著性差异($P<0.05$)。

2.2 岩藻多糖对小鼠脾脏组织结构的影响

光学显微镜下观察各组小鼠脾脏组织切片(图1),N组小鼠脾细胞排列紧密有序,细胞核清晰可见;M组小鼠脾细胞数量明显减少,细胞大小

不一、排列稀疏无序;与M组相比较,FUC干预后,FLM和FHM组小鼠脾细胞数量显著增加,细胞排列整齐,核仁清晰,少间隙,与N组趋近。

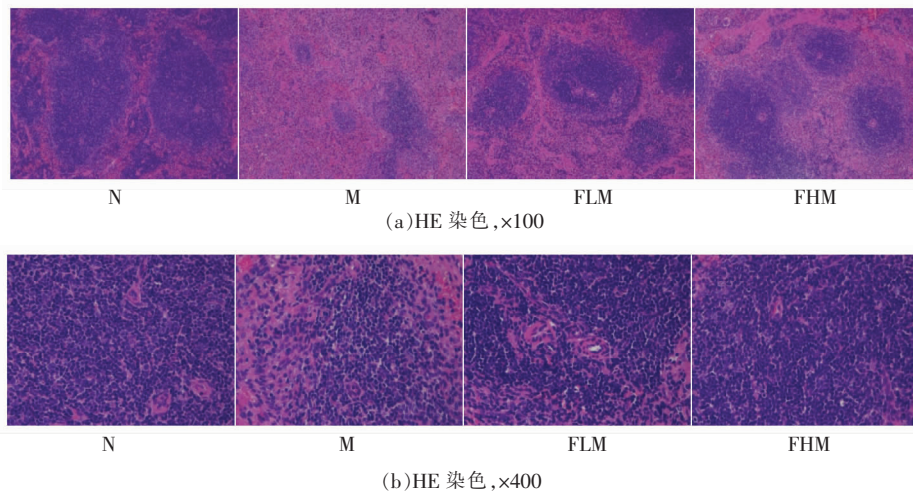


图1 小鼠脾脏组织形态

Fig.1 Histomorphology of the spleen tissue in mice

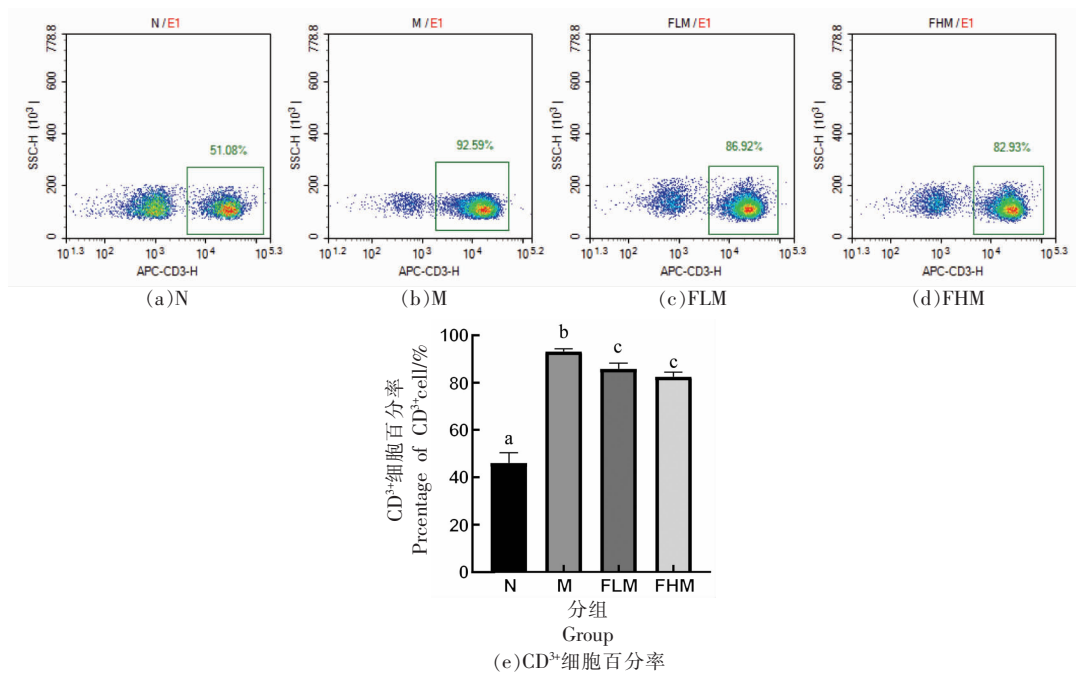
2.3 岩藻多糖对小鼠脾脏T淋巴细胞的影响

流式细胞术分析结果(图2)显示,与正常对照组(N)相比较,免疫低下模型组(M) CD^{3+} 淋巴细胞的表达量大大增加,具有统计学差异($P<0.05$);经岩藻多糖干预后, CD^{3+} 淋巴细胞数量有下降趋势,且FHM组与M组相比显示出明显差异

($P<0.05$),说明岩藻多糖的干预可下调 CD^{3+} 淋巴细胞的过度表达。

2.4 岩藻多糖对小鼠血清中免疫球蛋白、细胞因子以及炎症因子的影响

ELISA结果(图3)显示,M组小鼠血清中 IgM 、 IgG 、 IL-4 、 $\text{IFN-}\gamma$ 水平相较于N组均明显降



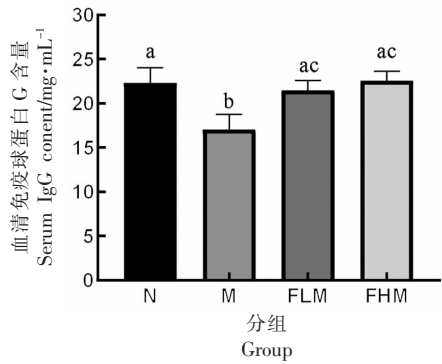
注:不同字母表示两组间具有显著性差异($P<0.05$),下同。

图 2 岩藻多糖对小鼠脾脏 CD³⁺ T 淋巴细胞的影响

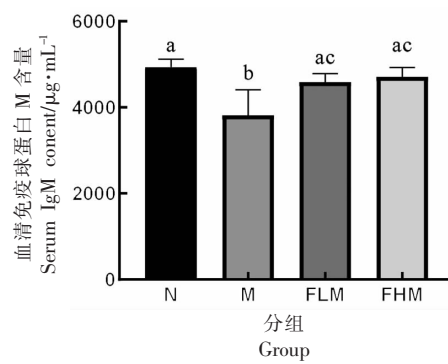
Fig.2 Effects of FUC on CD³⁺ T lymphocytes level in mice spleen

低,而 TNF- α 和 LPS 水平显著升高($P<0.05$);经岩藻多糖干预后,FLM、FHM 组血清中 IgM、IgG、IL-4、IFN- γ 水平显著增高,TNF- α 和 LPS 水平显

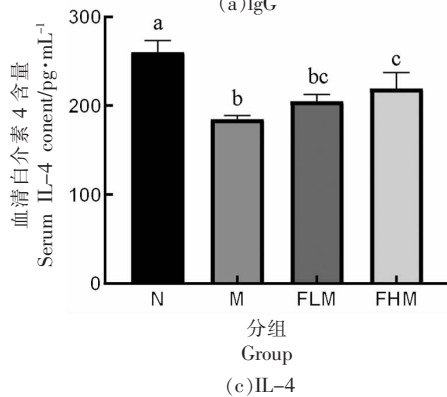
著下降($P<0.05$),说明岩藻多糖可以有效缓解环磷酰胺对小鼠的免疫抑制,减轻炎症,提高免疫低下小鼠的免疫功能。



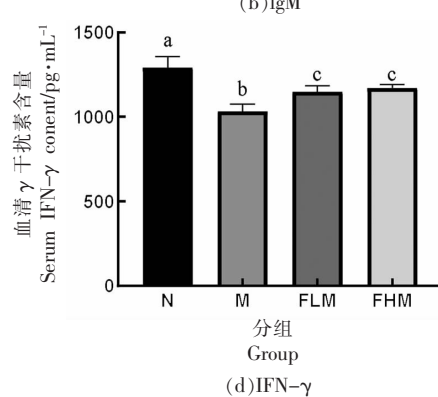
(a) IgG



(b) IgM



(c) IL-4



(d) IFN- γ

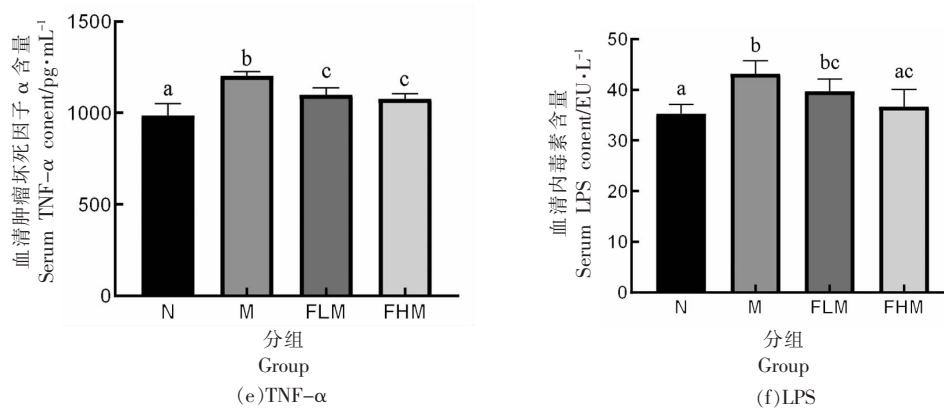


图3 岩藻多糖对小鼠血清中IgG、IgM、IL-4、IFN- γ 、TNF- α 、LPS的影响

Fig.3 Effects of FUC on IgG, IgM, IL-4, IFN- γ , TNF- α , LPS content in mice serum

2.5 岩藻多糖对小鼠回肠组织结构的影响

光学显微镜下观察小鼠回肠组织切片(图4),N组小鼠肠道黏膜结构完好,肠绒毛完整轮廓清晰可见,排列紧密;与N组相比,M组小鼠肠壁损伤、肠绒毛结构被破坏、排列疏松、绒毛高度及

隐窝深度均减少;经岩藻多糖干预后,FLM和FHM组小鼠肠绒毛形态逐渐恢复栅栏样,且绒毛结构清晰、长度增加,排列紧密。说明岩藻多糖在一定程度上缓解了环磷酰胺对肠黏膜的损害,保护了肠黏膜的完整。

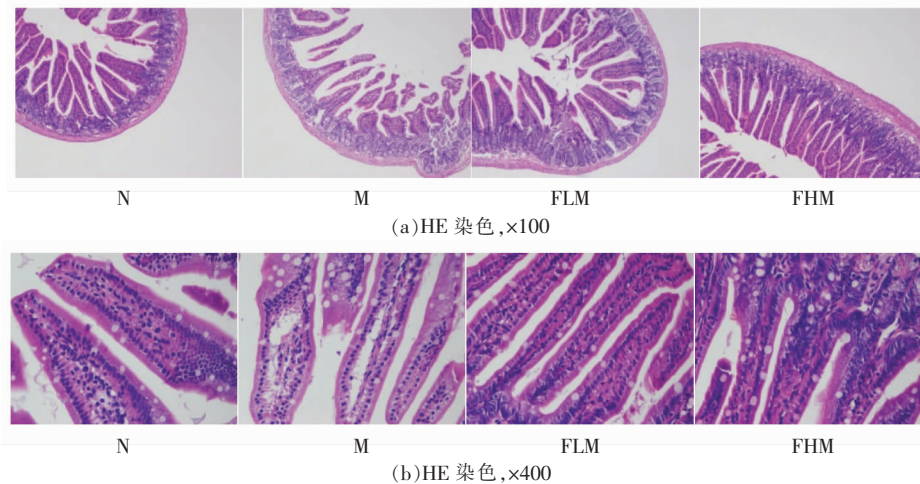


图4 小鼠回肠组织形态

Fig.4 Histomorphology of the ileum tissue in mice

2.6 岩藻多糖对小鼠肠道菌群的影响

2.6.1 肠道菌群 Alpha 多样性分析 表3反映了各组小鼠肠道菌群在属水平上的物种丰富度和微生物多样性,与N组相比,M组Shannon指数、Simpson指数、Ace指数、Chao指数均没有显著变化;FLM和FHM组的Shannon指数、Ace指数、Simpson指数、Chao指数与M组相比也没有差异,说明岩藻多糖干预对小鼠肠道菌群丰富度与

物种多样性没有明显影响。

2.6.2 肠道菌群 Beta 多样性分析 为研究各组小鼠肠道菌群的相似性和差异关系,根据Beta多样性距离矩阵对各组样本在属水平进行层级聚类分析(图5a),结果显示M组被聚为一大类,N组和FLM与FHM组被聚为一大类,说明M组与N组肠道菌群群落结构的差异性较大,在经岩藻多糖干预后缩小了该差异,使得FLM和FHM组的

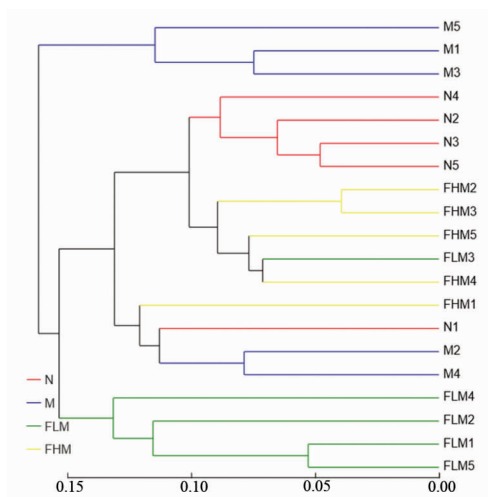
表 3 肠道菌群 Alpha 多样性

Table 3 Alpha diversity of intestinal flora

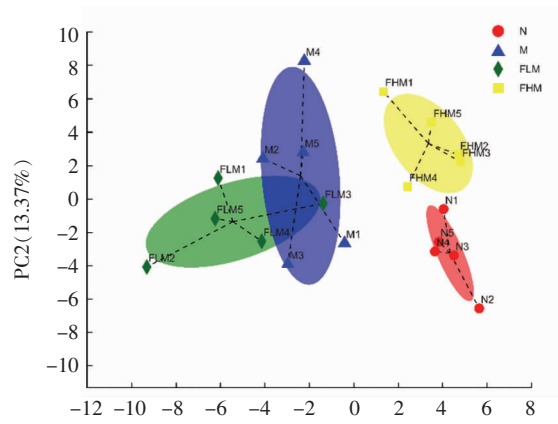
分组	Shannon 指数	Simpson 指数	Ace 指数	Chao 指数
N	2.88 ± 0.11	0.11 ± 0.02	93.18 ± 3.30	94.67 ± 6.12
M	2.93 ± 0.24	0.11 ± 0.03	96.25 ± 1.98	96.14 ± 3.62
FLM	2.92 ± 0.24	0.11 ± 0.04	92.92 ± 3.89	94.25 ± 5.02
FHM	2.77 ± 0.10	0.12 ± 0.02	97.88 ± 6.79	95.87 ± 6.74

群落结构向 N 组趋近,与 N 组间差异小;PCA(图 5b)、PCoA(图 5c)、NMDS(图 5d)分析显示,N 组和 FHM 组距离相近,M 组和 FLM 组距离相近,说

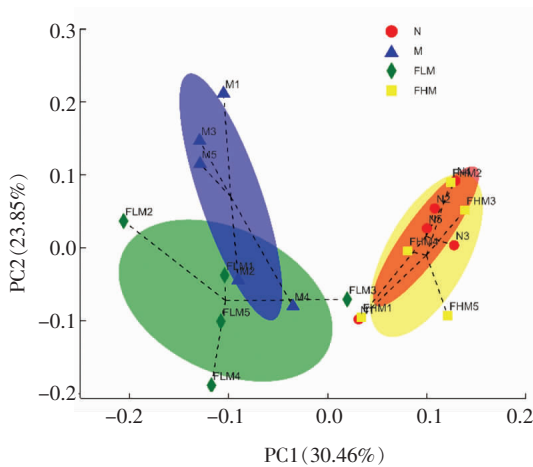
明 FHM 组的肠道菌群组成成分与 N 组更相似,FLM 组与 M 组更相似,也就是说高剂量的岩藻多糖对紊乱的肠道菌群的恢复作用更好。



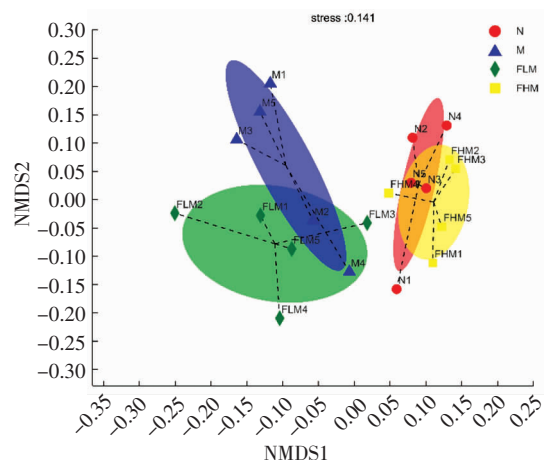
(a) 样本层级聚类



(b) PCA 分析



(c) PCoA 分析



(d) NMDS 分析

图 5 肠道菌群 Beta 多样性

Fig.5 Beta diversity of intestinal flora

2.6.3 肠道菌群物种组成与差异性分析 在门水平上(图 6),与 N 组比,M 组的厚壁菌门(Firmicutes)水平显著降低 ($P < 0.05$),拟杆菌门(Bac-

teroidota)水平显著升高($P < 0.05$);与 M 组比,FLM 组和 FHM 组的拟杆菌门水平显著降低($P < 0.05$),厚壁菌门水平显著升高($P < 0.05$)。

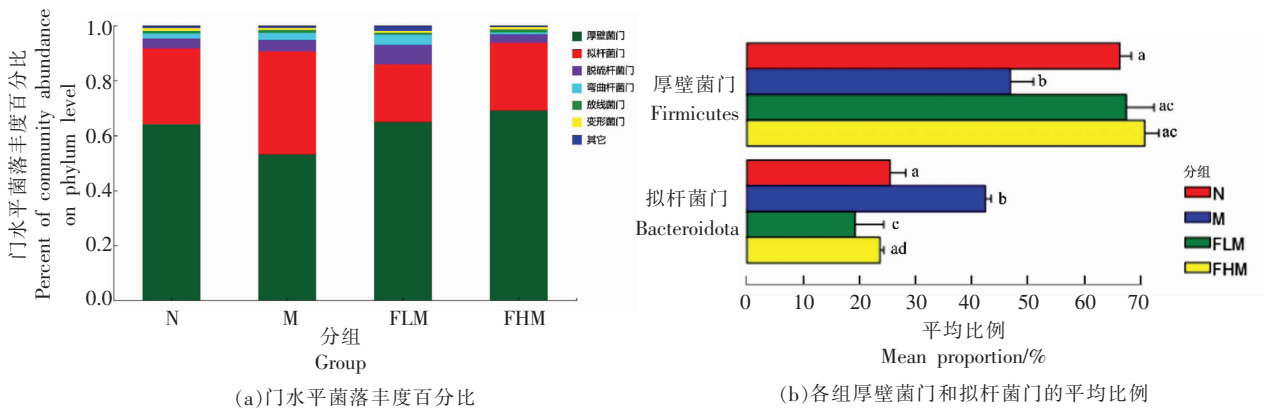
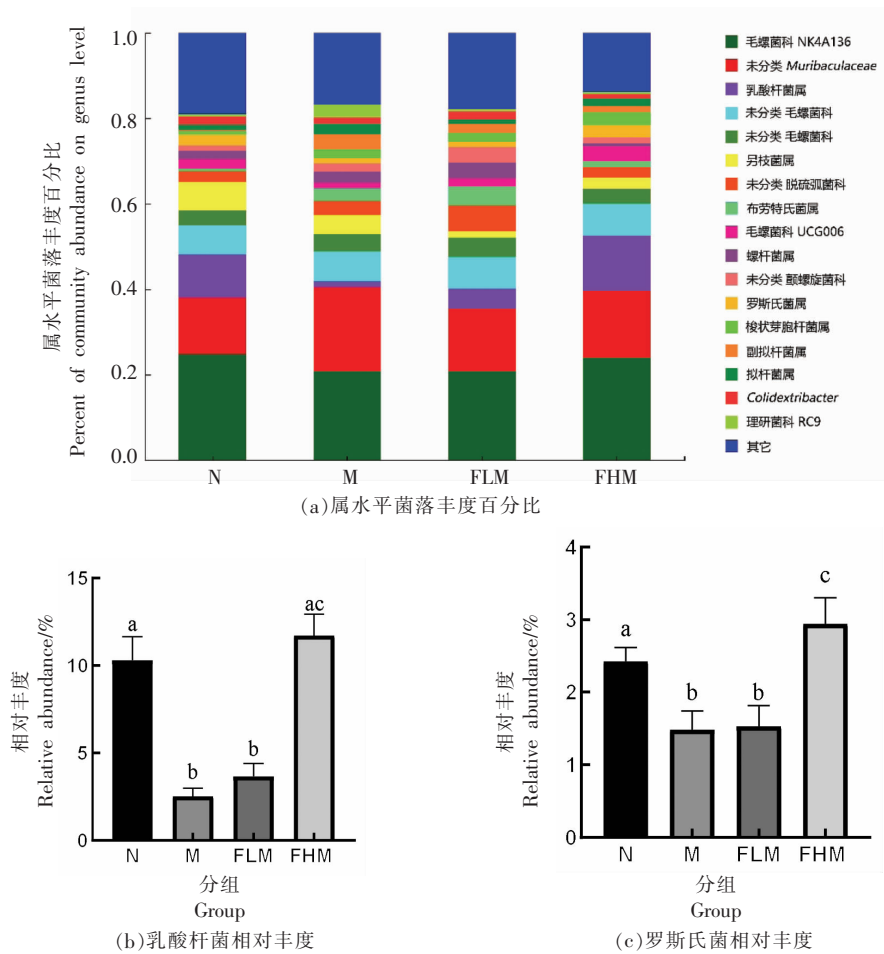


图6 岩藻多糖对小鼠优势菌门相对丰度的影响

Fig.6 Effect of FUC on relative abundance of dominant bacterial phyla in mice

在属水平上(图7),与N组比,M组的拟杆菌属(*Bacteroides*)和副拟杆菌属(*Parabacteroides*)水平显著升高($P<0.05$),而乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)和罗斯氏菌属(*Roseburia*)水平显著降低($P<$

0.05);与M组比,FLM组、FHM组的拟杆菌属和副拟杆菌属水平显著降低($P<0.05$),而乳酸杆菌属和罗斯氏菌属水平显著升高,且FHM组变化更为明显。



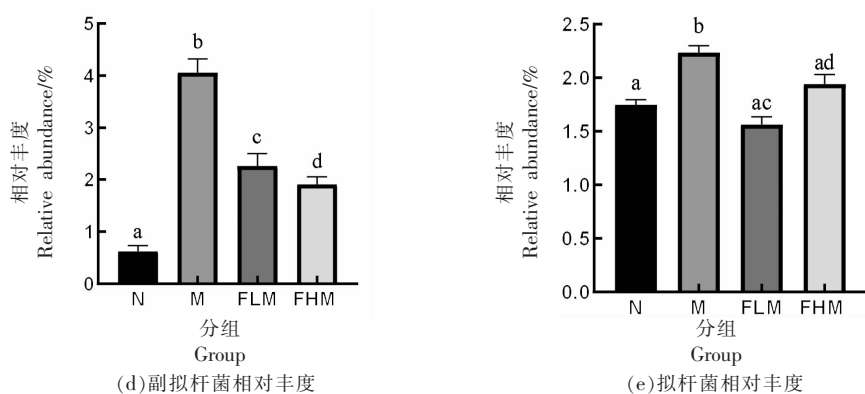


图 7 岩藻多糖对小鼠优势菌门相对丰度的影响

Fig.7 Effect of FUC on relative abundance of dominant bacterial genera in mice

3 讨论与结论

长期以来, 食品和营养一直被认为是影响人们健康最重要的因素, 饮食习惯与人类常见的疾病息息相关。最新研究表明, 食物成分对机体各种免疫炎症途径的调节至关重要, 不健康的饮食会促使炎症的发生, 从而导致肠炎、动脉粥样硬化、非酒精性脂肪肝等疾病^[1]。此外, 食物中含有的多糖、膳食纤维等成分不能被人体直接消化利用, 需要在结肠中经由肠道微生物发酵为特定的产物后才能吸收^[12]。也就是说, 饮食结构的改变影响着肠道菌群的种类和数量。大量的研究报道了岩藻多糖作为一种从海藻中提取的活性物质在体外的免疫活性作用。在体外, 岩藻多糖的刺激可增强巨噬细胞的吞噬作用和对抗原提呈加工的能力^[13], 能激活免疫系统中的细胞毒性 T 细胞^[14], 并促进树突状细胞的成熟^[15]。然而, 岩藻多糖作为一种功能食品对肠道菌群的调节作用与其免疫活性作用联系的研究却鲜有报道。本文以环磷酰胺诱导的免疫低下小鼠为模型, 评价了岩藻多糖在提高机体免疫力和调节肠道菌群方面的功能。

脾脏富含 B 细胞和浆细胞, 是免疫细胞发生吞噬作用的主要场所, 胸腺是 T 淋巴细胞发育、分化和成熟的器官^[16], 胸腺和脾脏的改变, 能够反映机体免疫功能的状态。在本实验中, 免疫低下模型组小鼠的脾脏和胸腺组织发生严重萎缩, 脾脏指数、胸腺指数与正常组相比显著下降, 脾脏细胞结构严重被破坏。而岩藻多糖干预组的脾脏和胸腺损伤程度明显减轻, 表明岩藻多糖是一种有效的

免疫增强剂, 可以缓解环磷酰胺对免疫器官的损害。研究表明多糖可以通过促进 IgM 和 IgG 的产生来增强体液免疫反应的特异性^[17]。此外, 还有研究指出岩藻多糖可通过调控辅助 T 细胞 (T-helper cell, Th) 的比例, 诱导 Th17 细胞分化, 抑制调节性 T 细胞 (Regulatory T-cell, Treg) 分化, 以及增强 T、B 细胞的增殖来增强机体免疫^[18]。免疫球蛋白 (IgM、IgG), 由 B 细胞分泌, 化学结构类似于抗体, 具有中和毒素的能力, 可被补体激活形成级联抗体-抗原复合物, 在体液免疫中发挥起主要作用^[19]。IFN- γ 由细胞毒性 T 细胞、NK 细胞产生, 可介导细胞免疫并促进 Th1 细胞的分化和增殖^[20]。IL-4 是由 Th1、Th2、Treg 细胞和 B 细胞产生的有效的抗炎因子^[21], 参加 B 细胞和 T 细胞介导的适应性免疫, 可促进 B 淋巴细胞增殖和相应抗体的产生^[22]。本研究发现岩藻多糖不仅可以恢复环磷酰胺降低的 IgG 和 IgM 的含量, 同时也增加了血清中 IL-4 和 IFN- γ 的水平 (与模型组相比), 提示岩藻多糖不仅激活了 B 淋巴细胞增强了体液免疫, 还参与了细胞免疫, 调节了 T 淋巴细胞的分化, 从而刺激细胞因子的分泌。

人的胃肠道黏膜表面有上千种不同的类型的微生物, 随着饮食、疾病、环境等因素的变化而改变^[23]。相关研究^[24-26]报道称环磷酰胺不仅会抑制机体免疫, 还会破坏肠黏膜屏障, 引起炎症, 并使肠道菌群易位。本研究也有相似的结果: 模型组小鼠肠道结构破坏严重, 血清炎症因子 LPS 和 TNF- α 含量较正常组大大增加, 肠道中厚壁菌门数量显

著降低,拟杆菌门含量显著升高。但据 Shang 等^[27]的报道,肠道内大多数分解碳水化合物的细菌很可能不受环磷酰胺的影响,而是与食物中多糖的含量有关,服用岩藻多糖可以降低肠道内大肠杆菌等有害菌的数量,增加或恢复乳酸杆菌的数量,表明多糖可以保护肠黏膜屏障并能通过刺激乳酸杆菌的生长来抑制肠道有害菌,从而降低了炎症性疾病的风险。在本研究中,门水平上,模型组厚壁菌门数量显著降低,拟杆菌门、蓝细菌门以及变形杆菌门数量显著增加,具体到属水平上即乳酸杆菌和罗斯氏菌数量显著降低,拟杆菌和变形杆菌数量显著升高;在岩藻多糖干预后,失调的菌群结构得到很大程度上的恢复,特别是乳酸杆菌的数量得到大大的增加。与此同时,干预组的血清中LPS和TNF- α 的含量也明显下降,LPS和TNF- α 的高低反映机体的炎症状态^[28],这更加有力地说明了岩藻多糖可以通过调节肠道菌群的结构,增加有益菌的数量并减少有害菌的数量来缓解肠道炎症。

综上所述,岩藻多糖可通过增加免疫球蛋白和细胞因子的分泌,减少炎症因子的产生,从而提高免疫低下小鼠的免疫功能,并能有效缓解环磷酰胺造成的免疫器官和肠黏膜损伤,作用机制可能与其对肠道菌群的调节作用有关。

参 考 文 献

- [1] BARBA F J. Microalgae and seaweeds for food applications: Challenges and perspectives[J]. Food Research International, 2017, 99(Pt.3): 969-970.
- [2] ZHAO Y, ZHENG Y Z, WANG J, et al. Fucooidan extracted from *Undaria pinnatifida*: Source for nutraceuticals[J]. Functional Foods, 2018, 16: 321.
- [3] 王鸿, 张甲生, 严银春, 等. 褐藻岩藻多糖生物活性研究进展[J]. 浙江工业大学学报, 2018, 46(2): 209-215.
WANG H, ZHANG J S, YAN C Y, et al. Research progress on biological activity of fucooidan from *Pheophyta*[J]. Journal of Zhejiang University of Technology, 2018, 46(2): 209-215.
- [4] YIN J Y, WANG J, LI F H, et al. The fucooidan from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* ameliorates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice[J]. Food & Function, 2019, 10(8): 5124-5139.
- [5] BISANZ J E, SOTO-PÉREZ P, NOECKER C, et al. A genomic toolkit for the mechanistic dissection of intractable human gut bacteria[J]. Cell Host Microbe, 2020, 27(6): 1001-1013.
- [6] JORDAN S, TUNG N, CASANOVA-ACEBES M, et al. Dietary intake regulates the circulating inflammatory monocyte pool[J]. Cell, 2019, 178(5): 1102-1114.
- [7] JOHNSTON B C, ZERAATKAR D, HAN M A, et al. Unprocessed red meat and processed meat consumption: Dietary guideline recommendations from the nutritional recommendations (NutriRECS) consortium[J]. Annals of Internal Medicine, 2019, 171(10): 756-764.
- [8] ALESSA H B, COHEN R, MALIK V S, et al. Carbohydrate quality and quantity and risk of coronary heart disease among US women and men[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2018, 107(2): 257-267.
- [9] SHIRANI K, HASSANI F V, RAZAVI-AZARKHIAVI K, et al. Phytotrapy of cyclophosphamide-induced immunosuppression[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2015, 39(3): 1262-1275.
- [10] VAN VLIET M J, HARMSSEN H J, DE BONT E S, et al. The role of intestinal microbiota in the development and severity of chemotherapy-induced mucositis[J]. PLoS Pathogens, 2010, 6(5): 245-249.
- [11] YANG Z X, LIU G J, WANG Y F, et al. Fucooidan A2 from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* lowers lipid by improving reverse cholesterol transport in C57BL/6J mice fed a high-fat diet[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(20): 5782-5791.
- [12] KOŁODZIEJCZYK A A, ZHENG D, ELINAV E. Diet-microbiota interactions and personalized nutrition[J]. Nature Reviews Microbiology, 2019, 17(12): 742-753.
- [13] PENG Y B, SONG Y F, WANG Q K, et al. *In vitro* and *in vivo* immunomodulatory effects of fucooidan compound agents[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 127: 48-56.
- [14] ISNANSETYO A, FIKRIYAH A, KASANAHA K, et al. Non-specific immune potentiating activity of fu-

- coidan from a tropical brown algae (Phaeophyceae), *Sargassum cristaeifolium*, in tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Aquaculture International*, 2016, 24(2): 465–477.
- [15] NAGAI M, NOGUCHI R, TAKAHASHI D, et al. Fasting–refeeding impacts immune cell dynamics and mucosal immune responses[J]. *Cell*, 2019, 178(5): 1072–1087.
- [16] VETVICKA V, VETVICKOVA J. Fucoidans stimulate immune reaction and suppress cancer growth[J]. *Anticancer Research*, 2017, 37(11): 6041–6046.
- [17] HUANG X J, NIE S P, XIE M Y. Interaction between gut immunity and polysaccharides[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2017, 57(14): 2943–2955.
- [18] ANG Q Y, ALEXANDER M, NEWMAN J C, et al. Ketogenic diets alter the gut microbiome resulting in decreased intestinal Th17 cells[J]. *Cell*, 2020, 181(6): 1263–1275.
- [19] CHUN E, LAVOIE S, FONSECA-PEREIRA D, et al. Metabolite –sensing receptor Ffar2 regulates colonic group 3 innatelymphoid cells and gut immunity[J]. *Immunity*, 2019, 51(5): 871–884.
- [20] ZIMMERMAN N P, VONGSA R A, WENDT M K, et al. Chemokines and chemokine receptors in mucosal homeostasis at the intestinal epithelial barrier in inflammatory bowel disease[J]. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2008, 14(7): 1000–1011.
- [21] NEGISHI H, MORI M, MORI H, et al. Supplementation of elderly Japanese men and women with fucoidan from seaweed increases immune responses to seasonal influenza vaccination[J]. *Journal of Nutrition*, 2013, 143(11): 1794–1798.
- [22] SONG X, LI C Y, ZENG Y, et al. Immunomodulatory effects of crude phenylethanoid glycosides from *Ligustrum purpurascens* [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2012, 144(3): 584–591.
- [23] ROTHSCCHILD D, WEISSBROD O, BARKAN E, et al. Environment dominates over host genetics in shaping human gut microbiota[J]. *Nature*, 2018, 555(7695): 210–215.
- [24] MENG F X, XU P J, WANG X, et al. Investigation on the immunomodulatory activities of *Sarcodon imbricatus* extracts in a cyclophosphamide (CTX)–induced immunosuppressed mouse model[J]. *Saudi Pharm J*, 2017, 25(4): 460–463.
- [25] ZUO T, LI X, CHANG Y, et al. Dietary fucoidan of *Acaudina molpadioides* and its enzymatically degraded fragments could prevent intestinal mucositis induced by chemotherapy in mice[J]. *Food & Function*, 2015, 6(2): 415–422.
- [26] SHI H J, CHANG Y G, GAO Y, et al. Dietary fucoidan of *Acaudina molpadioides* alters gut microbiota and mitigates intestinal mucosal injury induced by cyclophosphamide[J]. *Food & Function*, 2017, 8(9): 3383.
- [27] SHANG Q S, SHAN X D, CAI C, et al. Dietary fucoidan modulates the gut microbiota in mice by increasing the abundance of *Lactobacillus* and *Ruminococcaceae*[J]. *Food & Function*, 2016, 7(7): 3224.
- [28] GRAHNERT A, WEISS R, SCHILLING E, et al. CD14 counterregulates lipopolysaccharide–induced tumor necrosis factor– α production in a macrophage subset[J]. *Journal of Innate Immunity*, 2019, 11(4): 359–374.

The Effect of Fucoidan on Immune and Intestinal Flora in Immunocompromised Mice

Huang Juan¹, Huang Jinli¹, Sun Jiayue², Li Yao¹, Li Huajun^{1*}

¹Department of Microecology, Dalian Medical University, Dalian 116044, Liaoning

²Haibao Biological Technical Company, Dalian 116044, Liaoning)

Abstract Objective: To explore the regulation of fucoidan (FUC) as a functional food on immune function and intestinal flora in immunocompromised mice. Methods: Forty male BABL/C mice were randomly divided into 4 groups. The intervention group was given high and low doses of fucoidan for intragastric intervention every day for 28 consecutive days. The control group and model group were given equal volume of normal saline every day. Except for the normal group, the other groups were intraperitoneally injected with cyclophosphamide on the 24th day to construct an immunocompromised mouse model. Enzyme–linked immunosorbent assay, flow cytometry, HE staining, high–throughput sequencing of

16S rRNA gene of intestinal microbiota, etc. were used to detect the changes of mouse immune function and intestinal flora. Results: Compared with the normal group of mice, the immune function of the model group was significantly decreased, and the spleen and intestinal tissues were severely damaged. After FUC intervention, the morphological damage of the spleen and colon tissues was significantly improved ($P<0.05$). At the same time, FUC alleviated the increase of inflammatory factor levels in serum ($P<0.05$). Besides, the content of *Bacteroides* in the cecal content of the model group mice was significantly increased ($P<0.05$), *Lactobacillus* and *Roseburia* were significant decrease ($P<0.05$) compared with the normal group. After FUC intervention, the imbalanced intestinal flora was restored in model mice, and the composition structure of intestinal flora was approached the normal group. Conclusion: FUC can effectively improve the immune function and alleviate the intestinal mucosal damage in immunocompromised mice. The mechanism may be related to the change of intestinal flora.

Keywords fucoidan; immunocompromised mice; immune function; intestinal flora