

小麦肽对非甾体抗炎药致肠损伤的修复作用

冯志远¹, 刘丹², 张卓然¹, 徐锦珍², 李明亮¹, 刘文君^{2*}

(¹中国食品发酵工业研究院有限公司 北京市蛋白功能肽工程技术研究中心 北京 100015

²江中药业股份有限公司 南昌 330096)

摘要 目的:探究小麦肽对非甾体抗炎药致肠损伤的影响。方法:雄性 KM 小鼠按体质量随机分为 6 组,分别为空白组(灌胃生理盐水)、双氯芬酸钠组(灌胃双氯芬酸钠)、谷氨酰胺组(双氯芬酸钠+谷氨酰胺)、小麦肽低、中、高剂量组(双氯芬酸钠+3 种不同剂量小麦肽),每组 10 只,连续处理 21 d。末次灌胃后禁食 12 h,称重。随后对小鼠进行取血,用于氧化应激水平和肾上腺素 E2(PGE2)检测。收集小鼠小肠组织,用于组织病理学检测。免疫蛋白印迹法检测肠组织紧密连接蛋白的表达量。结果:与双氯芬酸钠组相比,小麦肽和谷氨酰胺处理后小鼠体质量升高,氧化应激水平降低,PGE2 表达量恢复正常水平,肠组织黏膜屏障损伤得到改善,紧密连接蛋白表达量提高。结论:小麦肽对双氯芬酸钠诱导的肠道疾病具有一定的保护作用,有望为保护非甾体抗炎药肠屏障功能损伤提供有效方法。

关键词 非甾体抗炎药;小麦肽;肠黏膜屏障;紧密连接蛋白

文章编号 1009-7848(2023)12-0097-08 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2023.12.011

非甾体抗炎药(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)是一类具有抗炎、镇痛作用的药物,在临床实践中广泛应用于预防心脑血管疾病^[1]、结直肠癌^[2]和阿尔茨海默症^[3-4]等疾病发生。研究表明,NSAIDs 药物摄入会产生胃、肠道副作用,即胃肠道损伤,长期使用会增加小肠出血、溃疡、通透性增加以及肠炎的发生^[5]。

试验研究表明,用于治疗 NSAIDs 引起的胃损伤药物,如质子泵抑制剂(PPI)、组胺 H2 受体拮抗剂(H2RAs),会加重 NSAIDs 引起的小肠损伤^[6-7]。目前,还没有药物可有效治疗 NSAIDs 引起的肠道疾病,这是由于 NSAIDs 导致肠道疾病发生的原因是多样的,包括肠道运动增加,黏液分泌减少,INOS/NO 表达升高,以及抑制 COX 导致的 PGs 生成减少等^[8-9]。单一靶向性药物对 NSAIDs 造成的肠道损伤治疗作用有限。

近年来,天然活性物质对肠道损伤的改善作用得到广泛关注。研究证明,姜黄素可通过预防 NSAIDs 诱导的胃肠道 pH 值降低、肠组织内脂质过氧化和氧化应激改变等方式来改善 NSAIDs 诱

导的胃肠道损伤^[10]。Chao 等^[11]通过给予小鼠双氯芬酸钠的方式,建立 NSAIDs 诱导的胃肠道损伤模型,证明小檗碱可以保护肠道免受 NSAIDs 诱导的损伤,其机制可能与激活 GFAP、PGP9 有关。食品衍生生物活性肽作为天然活性物质中的一类,被证明具有抗高血压、抗菌、抗氧化、免疫调节等多种生物活性^[12-13]。多种生物活性肽被证明与改善肠道免疫系统^[14],修复肠黏膜屏障,增殖肠上皮细胞有关^[15]。

小麦肽是小麦蛋白粉(谷朊粉)经蛋白酶水解得到的一种小分子生物活性多肽,具有抗氧化活性、ACE 抑制活性、免疫活性等生物活性。小麦肽中富含谷氨酰胺,谷氨酰胺作为肠黏膜细胞新陈代谢重要的能量物质,具有维持肠道屏障的结构和功能等重要作用。目前小麦肽对消化道的保护机制尚不清楚。基于之前的研究,本试验探究小麦肽对非甾体抗炎药损伤肠道的影

1 试验材料和方法

1.1 试剂和设备

小麦活性肽,由中国食品发酵工业研究院提供;过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、髓过氧化物酶(MPO)测定试剂盒,南京建成生物工程研究所;谷氨酰胺和丙二醛(MDA)测定试剂盒,北京索莱宝科技有限公司;肾

收稿日期:2022-12-24

基金项目:宁夏回族自治区重点研发计划项目
(2021BEG02027)

第一作者:冯志远,男,硕士

通信作者:刘文君 E-mail liuwenjun@crjz.com

上腺素 E2(PGE2)ELISA 试剂盒,南京森贝伽生物科技有限公司;ZO-1 单克隆抗体、OCCLUDIN 多克隆抗体、Beta Actin 单克隆抗体,Proteintech 中国公司;其它试剂均为国产分析纯。酶标仪,美国贝克曼;Millipore Elix 15 纯水仪,默克化工有限公司;ST2100 实验室 pH 计,奥豪斯仪器(常州)有限公司;EL104 电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;80-2 离心沉淀器,江苏省金坛市医疗仪器厂;79-1 磁力加热搅拌器,国华电器有限公司;WB-10L1 恒温水浴锅,德国 Memmert 公司。

1.2 动物和材料

4 周龄雄性 KM 小鼠经适应性喂养 1 周后,按体质量随机分组,分别为空白组,双氯芬酸钠组,谷氨酰胺组,小麦肽低、中、高剂量组。其中,空白组与阴性对照组灌胃生理盐水,阳性对照组每天灌胃谷氨酰胺(0.16 g/kg bw),小麦肽低、中、高组分别灌胃不同剂量的小麦肽(0.31, 0.63, 1.23 g/kg bw)。1 h 后,除空白组灌胃生理盐水,阴性对照组、阳性对照组、小麦肽低、中、高组每天灌胃双氯芬酸钠 9 mg/kg bw,连续处理 21 h。末次灌胃后禁食 12 h,称重,随后对小鼠进行眼眶取血,血液在 4 °C 放置过夜后收集血清,−80 °C 保存备用。随后小鼠经脱颈处死,收集小鼠小肠组织,小肠组织经液氮速冻后−80 °C 保存备用。

1.3 生化指标分析

低温离心收取血清,使用试剂盒对血清中 MDA、CAT、GSH-PX、MPO、PGE2 进行检测,所有操作符合制造商说明。

1.4 肠道组织病理学分析

肠道组织用 4%多聚甲醛固定。将组织包埋在石蜡中,连续切成 5 μm 厚的切片。切片用苏木精和伊红(H & E)染色,然后通过光学显微镜进行常规形态学分析。

1.5 小鼠肠组织紧密连接蛋白表达

将小鼠小肠组织在 RIPA 裂解液中彻底均质,4 °C 低温离心获得总蛋白,使用 BCA 方法测定蛋白质浓度,加入蛋白质上样缓冲液,高温水浴 5 min 变性蛋白质。用 10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺梯度凝胶电泳(SDS-PAGE)对 20 μg 蛋白质进行取样,并转移到聚偏二氟乙烯膜(PVDF)上,

使用 5%脱脂乳粉封闭 2 h。洗净 PVDF 膜,4 °C 下一抗孵育过夜,洗净后,二抗孵育 2 h,通过强化化学发光检测系统最终显示蛋白质条带,并使用图像分析软件进行分析。

1.6 统计学方法分析

采用 Origin2022 统计软件对数据进行处理,试验结果以均值±标准偏差($\bar{x} \pm s$)表示。采用组间 *t* 值检验, $P < 0.05$ 表示具有显著性差异。

2 结果

2.1 体质量变化和饲料摄入量

图 1a 表示 21 d 中小鼠体质量变化及每组小鼠每日饲料平均摄入量,21 d 内各组小鼠平均饲料摄入量不存在显著区别,说明小鼠体质量变化没有受到饮食量的影响。图 2b 反映了 21 d 不同处理方法对小鼠体质量变化的影响,在小鼠灌胃双氯芬酸钠 1~5 d,与空白组相比,双氯芬酸钠灌胃处理小鼠体质量增长速度显著降低。且在 5~21 d,双氯芬酸钠组小鼠体质量增长速度显著低于谷氨酰胺和小麦肽处理组。其中,空白组小鼠体质量明显高于双氯芬酸钠处理小鼠,证明灌胃双氯芬酸钠可以抑制小鼠体质量增长,小麦肽组及谷氨酰胺组的小鼠体质量低于空白组,但显著高于双氯芬酸钠组;表明在饲料摄入量相同的情况下,小麦肽和谷氨酰胺摄入可改善双氯芬酸钠灌胃对小鼠体质量增长的抑制。

2.2 血清生化指标分析

小鼠血清中 MDA 含量如图 2a 所示,小鼠在接受双氯芬酸钠灌胃后,与空白组相比,双氯芬酸钠组小鼠血清中 MDA 含量明显上升($P < 0.05$),这说明双氯芬酸钠处理会导致小鼠体内发生严重的氧化损伤。在谷氨酰胺和小麦肽处理后,与双氯芬酸钠组相比小鼠血清中 MDA 的含量显著下降,其中,小麦肽中、高剂量组小鼠血清中 MDA 含量的降低效果要优于谷氨酰胺组。且与空白组小鼠血清中 MDA 水平无明显差异。

图 2b 显示,双氯芬酸钠灌胃显著抑制了小鼠血清中 MPO 的活性($P < 0.05$),除小麦肽中剂量组外,谷氨酰胺和小麦肽高、低剂量组均改善了双氯芬酸钠对 MPO 活性的抑制作用,使其恢复至正常水平,这些结果表明小麦肽可以有效降低双氯芬

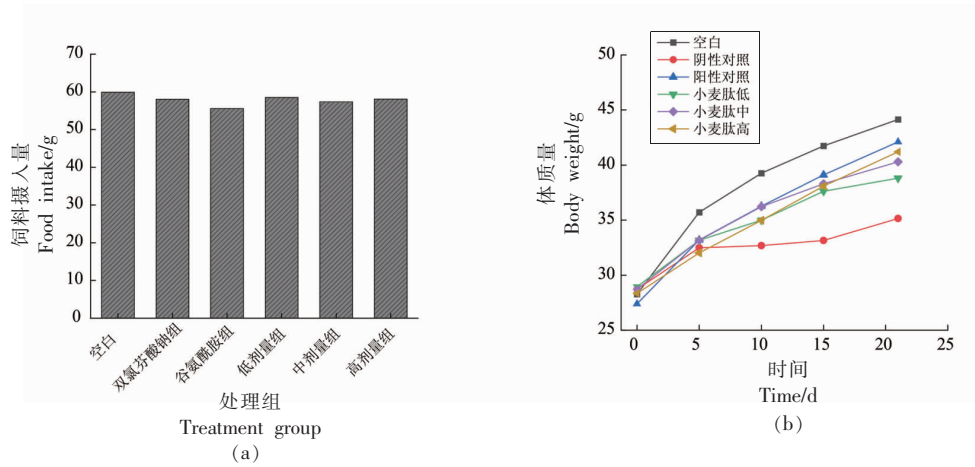


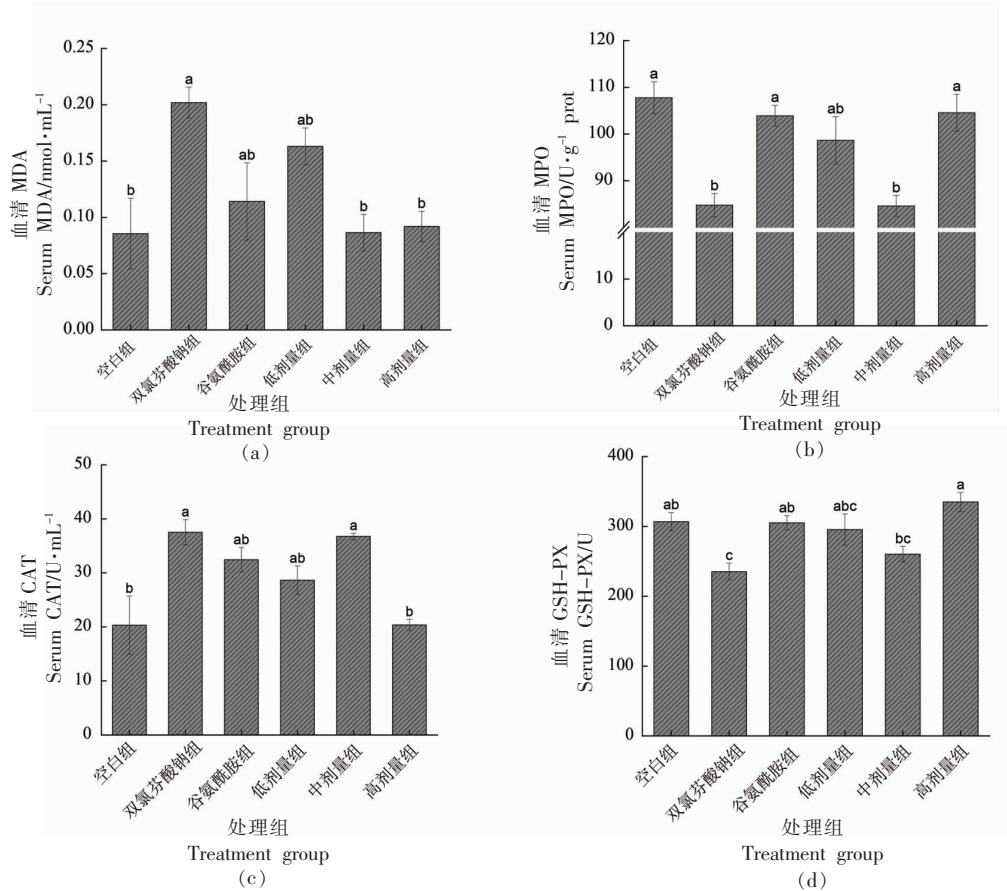
图 1 各组小鼠每日饲料平均摄入量(a)和体质量变化情况(b)

Fig.1 The average daily food intake (a) and changes in body weight (b) of mice in each group

酸钠引起的小鼠机体内部氧化应激水平和炎症水平,维持小鼠健康状态。

过氧化氢酶可以保护细胞免受机体代谢产生的过氧化氢的毒害,是生物防御体系的关键酶之

一。图 2c 显示,双氯芬酸钠组小鼠血清中 CAT 酶活力显著提高($P<0.05$),谷氨酰胺和小麦肽处理后 CAT 酶活力较阴性对照组活力有一定程度的下降,其中小麦肽高剂量组效果最为明显。这说明



注:数值以 $\bar{x}\pm s$ 表示;不同的字母表示不同处理之间存在显著差异($P<0.05$)。

图 2 小麦肽对小鼠血清中 MDA 含量变化(a)和 MPO(b)、CAT(c)、GSH-PX(d)酶活力变化的影响

Fig.2 The effects of wheat peptides on changes in MDA content in mouse serum (a) and the activities of MPO (b), CAT (c), and GSH-PX (d) enzymes

双氯芬酸钠处理后,小鼠体内产生严重氧化反应,促进了过氧化氢酶活性提高,而小麦肽和谷氨酰胺干预有效减轻了这种损伤。

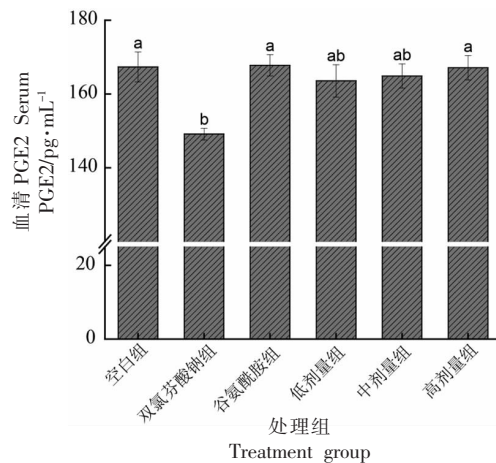
小鼠血清中 GSH-PX 酶活力如图 2d 所示,与空白组相比,在双氯芬酸钠处理后血清中 GSH-PX 酶活力被显著抑制($P<0.05$)。谷氨酰胺和小麦肽处理提高了双氯芬酸钠造成的 GSH-PX 酶活力降低,其中,谷氨酰胺组和玉米肽高剂量组 GSH-PX 酶活力提高具有显著性($P<0.05$)。这说明双氯芬酸钠处理后,小麦肽和谷氨酰胺干预可以通过提高 GSH-PX 酶活力,降低小鼠机体内氧化损伤。

2.3 血清 PGE2 含量改变

如图 3 所示,双氯芬酸钠处理会显著降低小鼠体内 PGE2 含量($P<0.05$),PGE2 一种重要的细胞生长和调节因子同时具有免疫抑制和抗炎黏膜作用。双氯芬酸钠具有抑制环氧合酶 1 的效果,进而抑制 PGE2 生成,PGE2 在机体内发挥重要作用的调节功能,参与多种生理过程。在胃肠道中,PGE2 是防御和修复的重要介质。与双氯芬酸钠组相比,谷氨酰胺和小麦肽处理有效提高了小鼠体内 PGE2 含量,且小麦肽高组作用效果具有显著性($P<0.05$),表明小麦肽可以通过提高小鼠机体内 PGE2 表达,促进双氯芬酸钠导致的胃肠黏膜损伤修复。

2.4 肠道组织病理学分析

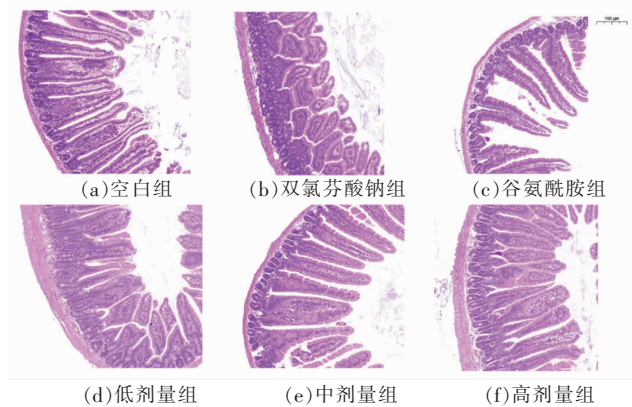
为了评估小麦肽在双氯芬酸钠诱导的肠黏膜结构损伤中的保护作用,小鼠肠道组织 HE 染色如图 4 所示,空白组小鼠肠道组织结构良好,具有排列整齐完整的绒毛和隐窝细胞。双氯芬酸钠组小肠绒毛断裂受损严重,高度明显降低,并伴有肿胀现象,隐窝深度明显增加,并且黏膜中存在炎性细胞浸润。灌胃谷氨酰胺和小麦肽均会促进肠壁恢复,减轻双氯芬酸钠造成的肠黏膜损伤,谷氨酰胺组小肠绒毛结构完整,隐窝深度浅,但伴随少量的小肠绒毛脱落和部分绒毛萎缩。小麦肽低剂量组和中剂量组都伴随部分小肠绒毛脱落,其中小麦肽低剂量组伴随小肠绒毛肿胀和隐窝深度增加现象。小麦肽高剂量组小肠结构完整,部分小肠绒毛存在萎缩现象。这些结果表明小麦肽处理显著改善了小肠黏膜损伤,小麦肽的小肠保护能力高于谷氨酰胺。



注:数值以 $\bar{x} \pm s$ 表示;不同的字母表示不同处理之间存在显著差异($P<0.05$)。

图 3 小鼠血清前列腺素 E2 含量

Fig.3 Mouse serum prostaglandin E2 content



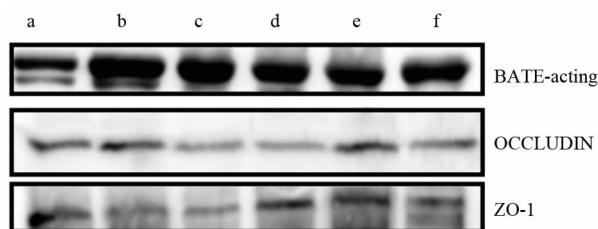
注:比例尺表示 100 μm。

图 4 小鼠小肠组织形态的观察

Fig.4 Observation of mouse small intestine tissue morphology

2.5 小鼠肠组织紧密连接蛋白表达

紧密连接蛋白位于上皮细胞顶端,做为肠上皮细胞的主要连接方式,起到维持黏膜屏障通透性的作用。如图 5 所示,小鼠肠道紧密连接蛋白 ZO-1 和 OCCLUDIN 在双氯芬酸钠处理后表达量显著降低,这说明小鼠肠道黏膜屏障受到严重损伤,肠黏膜保护作用下降。在小麦肽的干预下,与双氯芬酸钠组相比,两种蛋白表达量均有提高,且发现小麦肽中剂量组两种蛋白表达量最显著。这些结果证明,小麦肽饮食干预可有效改善药物造成的肠道黏膜上皮屏障受损,维持肠上皮细胞完整性。且紧密连接蛋白对肠道黏膜损伤修复非常



注:a. 空白组,b. 双氯芬酸钠组,c. 谷氨酰胺组,d. 低剂量组, e. 中剂量组,f. 高剂量组。

图 5 小鼠小肠组织蛋白表达结果

Fig.5 Protein expression results of mouse small intestine tissue

重要,可参与肠上皮细胞的基因转录、细胞增殖和分化状态的调节,能够有效减少因肠黏膜受损引发的炎症性肠病、腹泻、癌细胞转移等多种疾病的发生。

3 讨论

近年来,NSAIDs 相关肠病受到广泛关注,NSAIDs 使用会导致肠黏膜溃疡、出血和炎症,此外,研究表明,细菌和胆汁酸等管腔因素也可能与非甾体抗炎药相互作用,导致小肠损伤^[16],虽然 PPI 和 H2Ras 等抗分泌药物被用于 NSAIDs 引起的消化道黏膜病变治疗,但是据报道抗分泌药物加剧了 NSAIDs 引起的实验动物小肠病变^[17-18]。目前,临床上治疗 NSAIDs 肠病的有效药物很少。因此,需要一种有效且安全的治疗非甾体抗炎药引起的胃肠道病变方法。在本研究中,我们研究了灌胃小麦肽对双氯芬酸钠给药引起小鼠肠道损伤的影响。

研究发现,小麦肽和谷氨酰胺处理改善了双氯芬酸钠诱导的小鼠体质量减轻,且更高剂量的小麦肽对小鼠体质量减轻的改善效果更加明显,这表明双氯芬酸钠处理会对小鼠机体产生不利影响,而小麦肽可以降低双氯芬酸钠对机体产生的有害作用。双氯芬酸钠给药小鼠的肠道 HE 染色表明,在给药处理后,双氯芬酸钠组小鼠肠道表皮绒毛严重断裂脱落,细胞结构改变,表明小肠上皮屏障受到破坏。谷氨酰胺组和小麦肽组小肠绒毛状态良好,与双氯芬酸钠组相比,损伤情况减轻。非甾体抗炎药物引起的肠上皮损伤增加有毒物质吸收的快速渗透、免疫原性和炎症反应,严重破坏

了肠屏障功能。肠屏障功能取决于生理更新或病理性肠上皮修复的强度。这些结果表明表明小麦肽通过维持肠道组织完整性,减轻 NSAIDs 造成的肠屏障功能损伤,减少有害物质进入机体,增强机体对外界侵害的抵抗能力。

此外,双氯芬酸钠给药会导致血清中氧化应激标志物 MDA 升高,这与之前研究结果一致^[19]。研究指出,氧化应激与 NSAIDs 诱导的胃肠病的病因有关^[20-21],高 MDA 水平表示胃肠组织中产生高氧化应激活性^[22],会导致线粒体功能障碍,胃肠组织上皮屏障功能受损,导致肠道通透性增强^[23]。肠道通透性增加可能会使已经应激和溃疡的胃肠黏膜暴露于胆汁、细菌和 NSAIDs 等有害物质中,从而导致严重的胃肠损伤^[24],高氧化应激水平已被确定为 NSAID 诱导的胃肠损伤的病因中的一个重要因素^[25]。谷氨酰胺和小麦肽处理,显著降低了血清中 MDA 含量,增加了 MPO 和 GSH-PX 酶活性,因此小麦肽对肠黏膜的保护作用可能与其能够改善细胞氧化还原状态,清除体内多余的氧化自由基有关。

NSAIDs 诱导肠道疾病原因十分复杂,其中前列腺素(PGs)抑制作用是肠病发生的关键因素之一^[26]。NSAIDs 的药理学靶点是环氧合酶,它导致 PGs 水平降低^[27]。几项研究表明,服用 NSAIDs 后,小肠中 PGE2(肠黏膜中主要的前列腺素)的浓度显著降低^[28]。PGE2 对维持肠道血流、上皮细胞的更替和炎症的解决等具有重要意义。预先服用 PGE2 可剂量依赖性地阻止 NSAIDs 诱导的小肠病变的发展^[29]。因此,为探究小麦肽对小肠屏障损伤的保护作用,本试验测定了小鼠血清中 PGE2 含量,结果表明,小麦肽组和谷氨酰胺组都提高了小鼠血清中 PGE2 含量,改善了双氯芬酸钠诱导导致的 PGE2 含量降低。这表明小麦肽可以通过增加机体内 PGE2 含量,减轻小肠上皮损伤,促进肠上皮屏障修复更新,维持肠道健康状态。

本试验通过检测小肠组织中紧密连接蛋白 ZO-1 和闭合蛋白表达,进一步探究了小麦肽对小肠上皮屏障的保护作用机制,紧密连接蛋白失调会破坏肠道屏障的稳态,导致多种危害发生,包括微生物降解和细菌毒素暴露、细胞毒性药物暴露、促炎细胞因子(如 IFN γ 和 TNF α)、肠道自身免疫

性疾病(如腹腔疾病)和肠道缺血等^[30-31]。本研究结果表明,双氯芬酸钠对肠上皮屏障产生了破坏,导致肠道氧化应激水平显著升高。经过小麦肽和谷氨酰胺处理后,肠组织中 ZO-1 和 occludin 蛋白表达明显上升。小麦肽对肠道屏障的保护作用可能与其高谷氨酰胺含量有关,在体内体外补充谷氨酰胺对肠功能恢复和紧密连接有促进作用^[32-33]。谷氨酰胺可以通过 EGF 受体的反式激活介导的,从而激活蛋白激酶 C 和丝裂原活化蛋白激酶等通路,诱导紧密连接蛋白的表达^[34]。这表明,小麦肽可以过增加肠道紧密连接蛋白表达,减轻肠道屏障损伤,维持肠道结构完整性。

4 结论

在本研究中,通过小麦肽预处理来研究小麦肽对 NSAIDs 肠病的保护作用。试验结果表明,小麦肽可显著改善 NSAID 引起的小鼠体质量降低,改善机体内氧化还原状态,保护小肠上皮组织结构完整,增强小肠组织紧密连接蛋白表达。结果证实,小麦肽可通过多种途径改善 NSAIDs 肠病,维持机体健康状态。

参 考 文 献

- [1] BHALA N, EMBERSON J, MERHI A, et al. Vascular and upper gastrointestinal effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs: meta-analyses of individual participant data from randomised trials[J]. *Lancet*, 2013, 382(9894): 769-779.
- [2] DIN F, THEODORATOU E, FARRINGTON S M, et al. Effect of aspirin and NSAIDs on risk and survival from colorectal cancer[J]. *Gut*, 2010, 59(12): 1670.
- [3] HOOZEMANS J J, VEERHUIS R, ROZEMULLER A J, et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase in Alzheimer's disease[J]. *Current Drug Targets*, 2003, 4(6): 461-468.
- [4] SZEKELY C A, THORNE J E, ZANDI P P, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs for the prevention of Alzheimer's disease: A systematic review[J]. *Neuroepidemiology*, 2004, 23(4): 159-169.
- [5] LANAS A S F. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and lower gastrointestinal complications[J]. *Gastroenterol Clin North Am*, 2009, 38(2): 333-352.
- [6] MONA ABDEL-TAWAB S Z. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: A critical review on current concepts applied to reduce gastrointestinal toxicity[J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2009, 16(16): 2042-2063.
- [7] SATOH H, AMAGASE K, TAKEUCHI K. Exacerbation of NSAID-induced small intestinal lesions by anti-secretory drugs in rats: The role of intestinal motility[J]. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2012, jpet(112): 197475.
- [8] ROBERT A, ASANO T. Resistance of germfree rats to indomethacin-induced intestinal lesions [J]. *Prostaglandins*, 1977, 14(2): 333-341.
- [9] WHITTLE B. Temporal relationship between cyclooxygenase inhibition, as measured by prostacyclin biosynthesis, and the gastrointestinal damage induced by indomethacin in the rat[J]. *Gastroenterology*, 1981, 80(1): 94-98.
- [10] SINGH D P, BORSE S P, RANA R, et al. Curcumin, a component of turmeric, efficiently prevents diclofenac sodium-induced gastroenteropathic damage in rats: A step towards translational medicine[J]. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 2017, 108(Pt A): 43-52.
- [11] CHAO G, YE F, YUAN Y, et al. Berberine ameliorates non-steroidal anti-inflammatory drugs-induced intestinal injury by the repair of enteric nervous system[J]. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 2020, 34(2): 238-248.
- [12] FAN X, BAI L, ZHU L, et al. Marine algae-derived bioactive peptides for human nutrition and health[J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(38): 9211-9222.
- [13] BEERMANN C, HARTUNG J. Physiological properties of milk ingredients released by fermentation[J]. *Food Function*, 2013, 4(2): 185-199.
- [14] NELSON R, KATAYAMA S, MINE Y, et al. Immunomodulating effects of egg yolk low lipid peptic digests in a murine model[J]. *Food Agricultural Immunology*, 2007, 18(1): 1-15.
- [15] MORGAN A J, RILEY L G, SHEEHY P A, et al. The influence of protein fractions from bovine colostrum digested *in vivo* and *in vitro* on human intestinal epithelial cell proliferation[J]. *The Journal*

- of Dairy Research, 2014, 81(1): 73–81.
- [16] WHITTLE B. Mechanisms underlying intestinal injury induced by anti-inflammatory COX inhibitors[J]. European Journal of Pharmacology, 2004, 500(1/2/3): 427–439.
- [17] WALLACE J L, SYER S, DENOUE E, et al. Proton pump inhibitors exacerbate NSAID-induced small intestinal injury by inducing dysbiosis[J]. Gastroenterology, 2011, 141(4): 1314–1322.
- [18] SATOH H, TAKEUCHI K. Management of NSAID/aspirin-induced small intestinal damage by GI-sparing NSAIDs, Anti-Ulcer Drugs and Food Constituents[J]. Curr Med Chem, 2012; 19(1): 82–89.
- [19] SINGH D P, BORSE S P, NIVSARKAR M. Overcoming the exacerbating effects of ranitidine on NSAID-induced small intestinal toxicity with quercetin: Providing a complete GI solution[J]. Chem Biol Interact, 2017, 272: 53–64.
- [20] SINHA M, GAUTAM L, SHUKLA P K, et al. Current perspectives in NSAID-induced gastropathy [J]. Mediators of Inflammation, 2013, 2013: 258209.
- [21] SINHA K, SIL P C. Targeting oxidative stress and inflammation in NSAIDs induced gastropathy: A plausible therapeutic approach [J/OL]. Inflammation Cell Signaling, 2015 (2015-04-13)[2022-05-15]. <https://www.semanticscholar.org/paper/Targeting-oxidative-stress-and-inflammation-in-A-Sinha-Sil/70c30fa398b4263a3f0c27492f7a2158c85c0837>.
- [22] KAMANLI A, NAZIROGLU M, AYDILEK N, et al. Plasma lipid peroxidation and antioxidant levels in patients with rheumatoid arthritis [J]. Cell Biochemistry Function, 2004, 22(1): 53–57.
- [23] MEI Q, DIAO L, XU J M. A protective effect of melatonin on intestinal permeability is induced by diclofenac via regulation of mitochondrial function in mice[J]. Acta Pharmacol Sin, 2011, 32(4): 495–502.
- [24] BJARNASON I, TAKEUCHI K. Intestinal permeability in the pathogenesis of NSAID-induced enteropathy[J]. Journal of Gastroenterology, 2009, 44(s19): 23–29.
- [25] CHAO G, ZHANG S. Therapeutic effects of muscovite to non-steroidal anti-inflammatory drugs-induced small intestinal disease[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2012, 436(1/2): 154–160.
- [26] TANAKA A H S, MIYAZAWA T, TAKEUCHI K. Up-regulation of cyclooxygenase-2 by inhibition of cyclooxygenase-1: a key to nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced intestinal damage[J]. Journal of Pharmacology Experimental Therapeutics, 2002, 300(3): 754–761.
- [27] VANE J R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs[J]. Nature New Biology, 1971, 231(25): 232–235.
- [28] TAKEUCHI K, KATO S, AMAGASE K. Prostaglandin EP receptors involved in modulating gastrointestinal mucosal integrity[J]. Journal of Pharmacological Sciences, 2010, 114(3): 248–261.
- [29] KUNIKATA T, TANAKA A, MIYAZAWA T, et al. 16,16-Dimethyl Prostaglandin E2 Inhibits Indomethacin-Induced Small Intestinal Lesions Through EP3 and EP4 Receptors[J]. Digestive Diseases Sciences, 2002, 47(4): 894–904.
- [30] KÖNIG J W J, CANI P D, GARCÍA-RÓDENAS C L, et al. Human intestinal barrier function in health and disease[J]. Clin Transl Gastroenterol, 2016, 7(10): e196.
- [31] SCHUMANN M, SIEGMUND B, SCHULZKE J D, et al. Celiac disease: Role of the epithelial barrier [J]. Cmg Cellular Molecular Gastroenterology Hepatology, 2017, 3(2): 150–162.
- [32] BEUTHEU S, GHOZALI I, GALAS L, et al. Glutamine and arginine improve permeability and tight junction protein expression in methotrexate-treated Caco-2 cells[J]. Clinical Nutrition, 2013, 32(5): 863–869.
- [33] WANG B, WU Z, JI Y, et al. L-Glutamine enhances tight junction integrity by activating CaMK Kinase 2-AMP-activated protein kinase signaling in intestinal porcine epithelial cells[J]. Journal of Nutrition, 2016, 146(3): 501–508.
- [34] RAO R, SAMAK G. Role of glutamine in protection of intestinal epithelial tight junctions[J]. Journal of Epithelial Biology Pharmacology, 2012, 5(Suppl 1-M7): 47–54.

Protective Effect of Wheat Peptides on Non-steroidal Anti-inflammatory Drug-injured Intestinal Mucosa

Feng Zhiyuan¹, Liu Dan², Zhang Zhuoran¹, Xu Jinzhen², Li Mingliang¹, Liu Wenjun^{2*}

(¹Beijing Engineering Research Center of Protein & Functional Peptides, China National Research Institute of Food and Fermentation Industries, Beijing 100015

²Jiangzhong Pharmaceutical Co., Ltd., Nanchang 330096)

Abstract Objective: To investigate the effect of wheat peptides on intestinal damage from non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). Methods: The 4-week-old male KM mice were randomly divided into 6 groups according to body weight, namely blank group (saline gavage), diclofenac sodium group (diclofenac sodium gavage), glutamine group (diclofenac sodium + glutamine), wheat peptide low, medium and high dose groups (diclofenac sodium + different doses of wheat peptide), 10 mice in each group, and treated continuously for 21 days. Mice were fasted for 12 h after the final gavage and weighed. Mice were subjected to blood sampling for oxidative stress levels and adrenaline E2 (PGE2) assays. Mouse intestine tissue was collected for histopathological testing and western blot was used to detect the expression of intestinal tissue tight junction proteins. Results: Compared with the diclofenac sodium group, mice in the wheat peptides and glutamine groups had higher body weights, lower levels of oxidative stress and restored PGE2 expression to normal levels. The mucosal barrier damage in mouse intestinal tissues was improved and the expression of tight junction protein was increased. Conclusion: Wheat peptides have protective effects against diclofenac sodium-induced intestinal disorders. It is promising to provide an effective method to protect against NSAIDs intestinal barrier function impairment.

Keywords non-steroidal anti-inflammatory drugs; wheat peptides; intestinal mucosal barrier; tight junction protein