

透明质酸的制备、功能特性及其调节肠道健康的研究进展

滕薇¹, 刘树滔^{1*}, 吴金鸿^{2*}, 张勇³

¹福州大学 生物工程研究所 福州 350002

²上海交通大学农业与生物学院 上海 200240

³上海交通大学生命科学技术学院 微生物代谢国家重点实验室 上海 200240

摘要 透明质酸(HA)是一种非硫酸化糖胺聚糖,2021年获批为新食品原料后,引起食品科研人员与产业界的广泛兴趣。近年来,越来越多的研究显示,HA的生物活性根据其分子质量的不同,发挥促炎或抗炎、促细胞增殖或抗增殖作用。为了高效、精准地提高HA在食品中的应用价值,有必要根据分子质量的差异性,全面归纳总结HA在食品相关领域的研究进展。本文概述HA的应用开发进展,重点分析不同分子质量HA的制备方法、细胞功能、消化吸收特性,从维持稳态、缓解炎症两个维度分析HA对肠道的调节作用,以期促进HA在营养与健康产业的精准开发及应用。

关键词 透明质酸; 分子质量; 制备; 生物学功能; 肠道

文章编号 1009-7848(2024)07-0401-13 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2024.07.039

透明质酸(Hyaluronic acid,HA)作为生物材料已广泛应用于医药和化妆品行业^[1]。当前,国家卫健委已正式发布公告称,HA的应用范围扩大至普通食品^[2],标志着HA进入新“食”代,含HA的食品将迎来新的发展机遇。有研究表明,HA经口摄入在肠道中消化吸收时,会增加体内HA合成的前体,使内源性HA的含量升高^[2],因此含HA的保健食品备受消费者青睐。HA的生物活性差异与其分子质量密切相关^[3-4],而HA在肠道系统的调控作用也依赖于HA不同的分子质量^[5-10]。其中,高分子质量的HA可促进肠道黏膜层的稳定性,并拮抗肠道免疫失调现象,而低分子质量的HA在代谢吸收方面具有较强优势,能够影响肠道内的先天免疫反应。另外,特定大小的HA片段具备较强的生物学特性,在诱导肠道上皮屏障的免疫防御机制上发挥关键作用^[11-12]。本文重点分析HA在不同分子质量上所具有的生物活性差异,对其制备方法、细胞功能及消化吸收特性进行概述,从两个维度上探讨不同分子质量HA对肠道健康的调节作用,为HA在食品行业中的开发和应用提

供理论基础。

1 HA的开发与应用

HA是1934年Meyer等从牛眼玻璃体中分离得到的一类多糖^[13],它是由重复的葡萄糖醛酸和N-乙酰葡萄糖胺以 β -1,3糖苷键组成二糖单元(如图1),再通过交替的 β -1,4糖苷键相连形成线性非硫酸化的糖胺聚糖^[2]。HA是大多数组织中细胞外基质(Extracellular matrix,ECM)的重要组成部分,肠道组织中HA的生物合成或降解异常可能会促进肠道疾病的发生^[5]。pH、浓度和相对分子质量决定HA特定的空间结构,其中,HA的分子质量是影响它在肠道中的消化吸收及分子动力学的重要因素^[6]。HA具备良好的保水性、润滑性、生物相容性等特性,常作为外源性医疗辅助剂,应用于治疗关节炎,促进软组织再生,医疗美容等多个领域^[14]。

目前,我国对HA在普通食品中的应用正处在起步探索阶段。2008年国家卫生部将其批准为一种新资源食品,可用作保健食品原料^[15]。2021年1月卫健委将HA列入“新食品原料”,进一步扩大范围至普通食品^[2]。HA是人体内的自源性物质,属于食源性多糖^[16],并通过毒理学实验论证,口服HA具备较高的生物安全性^[2,17]。因此,HA作为原料已在多个国家得到认可,允许添加在各类食品

收稿日期: 2023-07-02

基金项目: “十三五”国家重点研发计划项目
(2019YFD0901902)

第一作者: 滕薇,女,硕士生

通信作者: 刘树滔 E-mail: stliu@fzu.edu.cn

吴金鸿 E-mail: wujinhong@sjtu.edu.cn

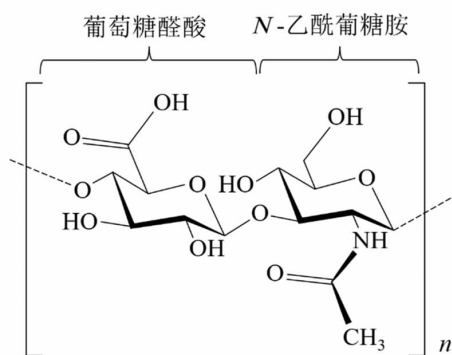


图1 透明质酸的分子结构

Fig.1 Chemical structure of hyaluronic acid

中。日本1992年就已批准HA为膳食补充剂,韩国及欧美等多个国家陆续将HA作为食品添加剂使用。例如,日本明治食品公司推出1款HA和胶原蛋白的复配乳饮料,长期饮用该饮品将提高人体的皮肤保湿力与膝关节稳定性。而我国对HA在普通食品中的应用,常将HA与其它成分组合协同发挥作用,其中不乏有调控肠道健康的功能食品的开发。多项专利显示,HA常添加在饮料或其它保健食品中,如彭帮柱等^[18]以HA为主要原料,调配出1款具备抗氧化性及调节肠道菌群功效的饮品。而长期探索HA功能活性的华熙生物公司在1项专利中表明,HA及其盐具备改善肠道菌群失调的功效,并通过试验论证食用HA对改善肠道炎症也有一定积极作用^[19]。另外,Mao等^[20]在期刊《Gut Microbes》发表的文章中也表明,口服HA对降低肠道炎症,预防肠道细菌感染,调节肠黏膜屏障功能上,具有重要影响。关于食品中允许添加HA的政策获批,将促进食品相关领域的研究人员及企业拓宽HA原料的应用范围,以满足人们对活性食品多方面功能的需求。

2 不同分子质量HA的特性

2.1 不同分子质量HA的制备

根据HA的分子质量分布不同,可将HA分为3类:高分子质量HA(HMW-HA, $M_w \geq 100$ ku)、低分子质量HA(LMW-HA, M_w 约为10~100 ku)和HA寡糖(O-HA, $M_w < 10$ ku)^[21]。HA的生物学活性与分子质量大小密切相关^[3-10],HMW-HA通常表现出与LMW-HA不同的生物学功能,因此

开展不同分子质量HA的制备方法研究,对HA的生物活性探索具有重要意义。

2.1.1 高分子质量HA(HMW-HA)的制备 工业HMW-HA主要通过动物组织提取和微生物发酵两种制备方法。动物组织中提取HA的工艺包含提取、除杂、酶解、沉淀和分离等步骤;HA主要来源于鸡冠或动物眼球,其中,鸡冠中HA的含量高达7.5 g/kg,将鸡冠绞碎后,通过丙酮、乙醇等有机试剂浸提,经蛋白酶降解组织中的蛋白质,并利用活性炭、硅藻土等吸附除杂,再经氯化十六烷基吡啶沉淀,分离纯化后即可得到HA制品^[22]。Hafsa等^[23]从鸡冠中成功提取到平均分子质量在 1.59×10^6 u的HMW-HA,然而提取率较低,仅有0.4%~0.6%。除了产率极低的缺陷以外,动物来源的HA通常是多分散性,且有蛋白质残留、动物病毒与杂质交叉污染等风险。

HA也是链球菌荚膜的主要成分,因此HMW-HA生物合成多使用C组链球菌中兽疫链球菌(*Streptococcus zooepidemicus*)、马疫链球菌(*Streptococcus equi*)、类马链球菌(*Streptococcus equisimilis*)等非人体致病菌发酵生产,产量可达到5~7 g/L,因此发酵法成为工业生产HMW-HA的主要手段^[22]。刘金龙等^[24]通过控制发酵条件,成功将HMW-HA的分子质量提升至 2×10^6 u,为HMW-HA的高质量生产提供有力的科学实践方案。随着HA制备方法的不断完善,关于微生物发酵法的研究重点已经从对产量提升转向利用基因工程等方式生产出特定分子质量的HA,以期获得稳定发酵且能够表达目标分子质量的优质工程菌株^[14]。

2.1.2 小分子质量HA的制备 工业化生产制造HA的分子质量通常超过 1×10^6 u,而小分子质量HA(包含LMW-HA和O-HA)主要可通过物理、化学或酶促反应等方法降解获得。

物理降解一般采用机械、辐照或超声的方式,然而使HA分子质量降低的程度有限。化学降解通常采用酸性或碱性水解方法,也可通过其它具有氧化性的化学试剂或利用辐射产生的活性氧降解HMW-HA。Chen等^[25]应用超声波、过氧化氢和铜离子3种方法组合进行HMW-HA降解,得到分子质量为74.9 ku的LMW-HA,说明物理和化

学方法的结合可有效降低 HA 的分子质量,生成 LMW-HA。

酶解法能特异性降解特定化学键而不对其它分子基团产生影响,具有反应条件温和,降解可控,且重复性高等优点,是生产 LMW-HA 的首选方法。而酶解法也是 O-HA 制备的一种较适宜方法,因为传统物理法很难将 HA 的分子质量降解至 10 ku 以下,而化学法由于引入化学试剂容易造成 HA 性质改变,导致 LMW-HA 生物活性变化。酶解法通常采用动物组织提取的透明质酸酶(Hyaluronidase, HAase)通过酶促反应断裂 HA 链上的 β -1.4 糖苷键进行制备 LMW-HA 或 O-HA。如 Tawada 等^[26]通过用牛睾丸来源的 HAase 降解 HA 来制备 O-HA,可通过分离纯化得到各级寡糖(如 HA₂ 至 HA₁₀),故而酶解法能够运用于生产特定分子质量的 LMW-HA 或 O-HA。天然高分子聚合物常利用多分散系数(Polydispersity index, PDI),即重均分子质量与数均分子质量的比值($d_p = \frac{\overline{M_w}}{\overline{M_n}}$),表征其分子质量的分散程度^[27],PDI 越

接近 1,说明该样品的分子质量分布越窄,表明特定分子质量的组分纯度越高。新研究表明开发重组酶可减少酶解工艺生产成本,降低酶解产物的 PDI,获得分子质量分布较窄的 O-HA。Yuan 等^[28]在纯水溶液体系中采用水蛭来源的重组 HAase 可控解聚 HMW-HA,得到 PDI 为 1.16 的窄分布 O-HA,易于经分离纯化得到纯度较高的特定寡糖组分(如 HA₄)。因此,酶解法具有专一性强且不破坏多糖结构的优势,可以通过选择合适的 HAase 并控制适宜的酶解条件,以获得特定分子质量的 LMW-HA 或 O-HA。

此外,有少数研究表明,微生物发酵法的工艺优化,如构建工程菌种或控制发酵条件等手段,可实现小分子 HA 的快速制备。韦朝宝等^[29]通过在兽疫链球菌中过表达 HA 合酶并优化表达水蛭来源的 HAase 降解酶,使重组酶能同时兼顾生物合成与降解,直接发酵生产 O-HA。有专利报道^[30-31]一类连续化生产 LMW-HA 的方法,采用酶膜耦合的方式,实现 HMW-HA 或其发酵液水解与提取工序的一步快速生产,且无需经二次分离提纯步骤,即可降低产物的分子质量以及多分散系数,此

方法不仅转化效率高,生产成本降低,还为工业化绿色生产小分子 HA 提供全新策略。

总之,高效制备特定链长的 HA,为进一步了解 HA 的生物学功能及其开发和应用奠定了良好基础。

2.2 不同分子质量 HA 的细胞功能

如图 2 所示,分子质量不同的 HA 与细胞膜表面特定受体相互作用并引发信号传导^[11],不同分子质量 HA 调节细胞功能及炎症状态的效果不同^[32];HA 主要是通过 CD44 或 Toll 样受体家族(Toll-like receptors, TLRs)^[33-34],参与炎症调控或调节细胞和 ECM 间的细胞功能,如细胞迁移、黏附、T 细胞募集和激活等生理作用^[11]。

CD44 是一类多态性 I 型跨膜糖蛋白,广泛分布于上皮细胞等多种细胞表面^[34],是 HA 重要的细胞表面受体。研究表明 HA 长链的结合稳定性源自于糖分子的多价特性^[35]。不同链长的 HA 在与受体结合时,会引发不同的反应^[4],HMW-HA 和 LMW-HA/O-HA 与 CD44 结合时,可产生明显的促炎或抗炎作用,并可以在适当的细胞类型中传递增殖或抗增殖信号^[36]。Wolny 等^[35]通过模拟脂质

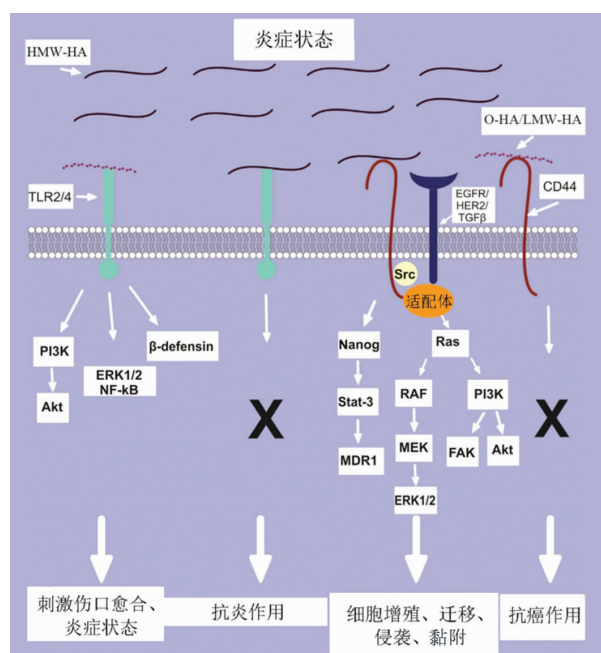


图 2 炎症状态下 HMW-HA 和 LMW-HA/O-HA 与其特异性受体的竞争^[4]

Fig.2 HMW-HA and LMW-HA/O-HA competition for binding to HA receptors in inflammation^[4]

双层膜试验论证,HA 与被 CD44 密集包裹的双层膜结合量随着 HA 大小的增加而增加,且在~30 ku 时达到半最大饱和。另外,可逆结合仅限于 LMW/O-HA,而 HMW-HA 是利用多价相互作用可稳定地覆盖于 CD44 受体表面^[35-36]。

TLR 受体是激活先天免疫反应中重要的跨膜受体蛋白,通过识别病原体迅速激活自身天然免疫系统。HA 可依赖于 TLR 受体来发挥组织损伤修复及炎症调控的作用,且基于 HA 分子质量大小影响其不同 TLR 受体激活。其中,肠道系统中 HMW-HA 可依赖于 TLR-4 受体拮抗免疫失调产生^[6],如 Asari 等^[37]研究表明 HMW-HA (900 ku) 主要是通过刺激肠上皮细胞 TLR-4 受体来调控肠道的先天免疫反应,起到抗炎及改善免疫功能失调的功效。而 LMW-HA 则通过多种免疫细胞表面的 TLR2/4 受体激活,发出促进炎症基因表达的信号^[38]。例如,LMW-HA 可通过 TLR-2/MyD88 通路激活巨噬细胞刺激趋化因子产生,驱动炎症反应的进程,促进组织损伤的修复作用^[39]。因此,LMW-HA 常作为“内源性危险信号”,通过白细胞、内皮细胞和间充质细胞发出促炎、促血管生成的信号,驱动宿主的先天免疫反应发挥机体防御机制。LMW-HA 降解紊乱可能会促进免疫疾病的产生,这是由于 LMW-HA 介导信号传导时,驱动免疫系统清除细胞外基质中沉积的有害物质,消退受损细胞表面的炎症损伤;若废旧的 HA 基质没有被免疫细胞及时清除,将无法及时恢复组织的稳态而完成外基质的重塑作用^[5]。

综上,HA 功能多样性与其分子质量大小密切相关,并通过刺激多种信号通路,引发下游特定的信号级联反应,发挥不同的生物学作用。因此,应用开发 HA 时,需考虑其分子质量。

2.3 不同分子质量 HA 的肠道消化吸收特性

为探究 HA 作为新食品原料是否具有口服活性,国内外许多研究者借助细胞及动物模型模拟 HA 在肠道中的消化吸收特性。例如,Hisada 等^[40]研究表明 LMW-HA ($M_w \leq 70$ ku) 可通过细胞旁途径渗透 Caco-2 细胞单层,O-HA ($M_w < 5$ ku) 还可以通过被动扩散至胞内,然而 HMW-HA ($M_w \geq 2000$ ku) 在肠上皮细胞中却不可被直接代谢吸收,而是先通过细胞表面的 CD44 受体和 HYAL-2

酶的协同作用,降解成 LMW-HA,然后通过内吞作用进入细胞内,在溶菌酶作用下降解为寡糖后再被肠上皮吸收利用。Kimura 等^[41]通过放射性同位素标记法探究 HA 在胃肠道中如何被降解利用,如图 3 所示,HA 经口摄入后主要被大肠中的肠道菌群降解为 HA 寡糖,后主要在大肠中吸收,极小部分于小肠中吸收^[42],HA 经过肠道组织吸收进入血液^[41-42]、淋巴^[43]循环,转运至其它组织、器官中被人体利用,并发挥特有的活性功效。研究发现口服 HA 在人体内各器官中的平均驻留时间不同,在胃、小肠、盲肠中驻留时间分别为 2,4,24 h;同时通过对大鼠的连续口服 HA 5 d 的实验得知,粪便中 HA 含量均低于检测限值,说明降解后的 HA 寡糖并未通过粪便排出体外,进一步验证 HA 可在肠道中分解代谢,利用血液循环运转到其它组织中^[43-44]。分子质量不同的 HA 在肠道组织的渗透性有显著差异,HMW-HA 需通过细胞表面受体发挥内吞作用才可进入细胞内被降解,其降解片段再经过胞吐作用排出胞外,而 LMW-HA 可在肠道中被直接吸收利用,且吸收率达到 70%~90%。因此,HA 在肠道的消化吸收效果与其分子质量密切相关。

另外,肠道菌群中的某些益生菌,如拟杆菌、乳杆菌和双歧杆菌等,可将经口摄入的 HA 降解为不饱和寡糖^[45],未被消化吸收的 HA 还能进一步被微生物酵解,产生代谢物短链脂肪酸 (Short-chain fatty acids,SCFA) 和 CO_2 、 H_2 。SCFAs 不仅能够为宿主提供能量以滋养肠壁,促进肠壁细胞的生长及更替,还可通过调控细胞因子,降低肠道炎症或肿瘤的风险^[46]。

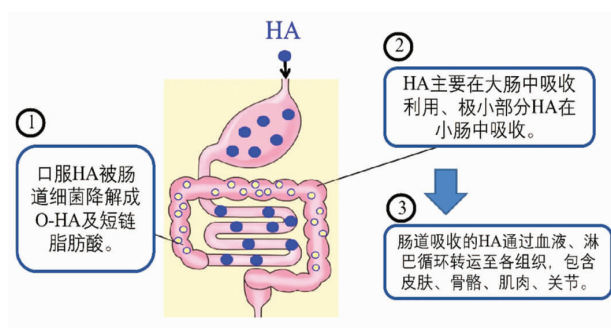


图3 透明质酸在肠道中的消化吸收^[44]

Fig.3 Digestion and absorption of HA in the intestine^[44]

3 HA 调节肠道健康的功能作用

肠道作为人体摄入营养物质后进行消化和吸收的主要场所,是维系全身稳态的重要屏障。健康的肠道屏障能够保护机体免受病原物质扩散到其它组织、器官和血液之中,对维持人体健康起到至关重要的作用。当肠道屏障被破坏时,会造成肠道免疫失调及炎症状态持续;有害微生物或内毒素等物质易于穿透受损的肠黏膜屏障,促使肠源性感染、败血症、炎症性肠病等疾病的发展^[47]。另外,维持肠道菌群平衡也是调节肠道免疫反应和促进肠道稳态健康的关键。

HA 是一类水溶性长链多糖聚合物,大量的随机、双盲和对照实验表明,HA 不具有免疫原性、生殖、发育和遗传毒性,口服 HA 安全性较高^[48-49]。近年来,HA 相关研究大多集中在皮肤美容领域,皮肤作为暴露于外界细菌环境中的第一道屏障,外源性 HA 对皮肤屏障的抗炎和伤口修复功效受到广泛认可^[50]。同理,肠道也是人体与外界接触的重要组织,消化道及胃肠道黏膜屏障也长期与外界微生物接触,是抵抗外来异物侵入人体的重要入口,HA 作为一类食源性多糖,其特殊的生物活性引发人们探究 HA 是否具备调节肠道健康的功能。不同分子质量的 HA 通过特定受体促进肠上皮细胞中与肠道组织 ECM 中其它稳定成分发挥关键作用,起到预防肠道屏障感染和抗菌的功能^[9]。富含活性成分的功能食品对肠道健康的调控功能属于前沿研究方向,而 HA 作为新型食品原料,其口服效应更需要归纳整理。接下来,本文将通过相关研究报道,围绕 HA 对肠道稳态的维持作用与对肠道炎症的缓解功效两个方面,分析 HA 对人体肠道健康的功能作用。

3.1 HA 对肠道稳态的维持作用

肠道是抵御外来病原体和毒素的重要防御屏障,维持肠道上皮屏障与肠道共生微生物间的平衡是促进肠道健康的基础。口服 HA 主要通过保护肠上皮屏障完整性和调节肠道菌群平衡两个方面来维持肠道稳态,依靠肠上皮屏障、肠道菌群及营养代谢产物三者之间的相互作用促进肠道系统的动态平衡。

3.1.1 HA 对于肠上皮屏障完整性的保护作用 肠上皮屏障的破坏会导致肠道黏膜层的免疫失衡,

从而诱发一系列肠道炎症反应,造成肠道屏障的持续性损伤。外源性 HA 可通过肠上皮细胞的相互作用影响肠道屏障的生长发育状态,促进肠道的先天免疫反应功能,具备调节肠上皮屏障功能完整性的作用。例如,Riehl 等^[51]的研究中,采用 C57BL/6 小鼠腹腔注射 750 ku 的 HA 分析其对肠道健康的影响,结果表明,外源性 HA 摄入可促进结肠上皮细胞的增殖和分化,并通过体内 HAS1 酶的诱导促进内源性 HA 片段生成,然而注射 PEP-1(阻断 HA 与其受体结合的多肽)的小鼠则无法观察到此现象,证实体外摄入 HA 会影响体内 HA 水平,进而调节肠上皮屏障功能。另外,Zheng 等^[52]也发现,外源性 HA(750 ku)可缓解发炎的肠上皮屏障损伤,主要通过激活 MyD88/TLR4 受体的信号通路,诱导肿瘤坏死因子 α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α) 及环氧合酶 2(Cyclooxygenase-2, COX-2)表达。这两项研究均说明,高分子质量的 HA 可对肠上皮屏障起到保护作用。

除此以外,1 种分子质量分布约 35 ku 的 HA (HA35),认为是最具生物活性的 LMW-HA,因为它能有效诱导肠道细胞表面紧密连接蛋白和抗菌肽的表达^[8],其作用机制如图 4 所示。Kessler 等^[12]通过 C57BL/6J 小鼠模型模拟口服 HA35 在肠上皮屏障的功效,HA35 具备靶向结肠上皮层的特异性生物活性及诱导 β -防御素 2 表达的能力,上调紧密连接蛋白中 Zonula occludens-1 (ZO-1)、Claudin-2 的表达,提高肠道先天免疫的保护机制。肠道发生炎症反应时,紧密连接蛋白在细胞膜上的分布会显著降低,而 HA35 的靶向作用可起到促进病灶部位紧密连接蛋白的表达和募集,维持肠上皮屏障完整性。另外,Kim 等^[53]发现口服 HA35 后通过 Layilin 受体介导 RhoA/ROCK 信号通路释放 ROCK 信号,促进肠上皮细胞中 ZO-1 的表达,从而加强肠道屏障的防御作用。而该团队的另一项研究得出^[54],口服 HMW-HA (Mw=2 000 ku) 由于无法渗透肠上皮屏障而对紧密连接蛋白表达没有促进作用,然而可与细胞表面的黏蛋白形成致密网状结构,提高肠道黏液层的防御机制,有效阻断有害病原体向肠上皮屏障的扩散,起到保护肠上皮屏障完整性的功能^[55]。

这些研究表明,分子质量不同的HA可能通过不同途径或靶点作用以维持肠上皮屏障的完整

性和稳定性。

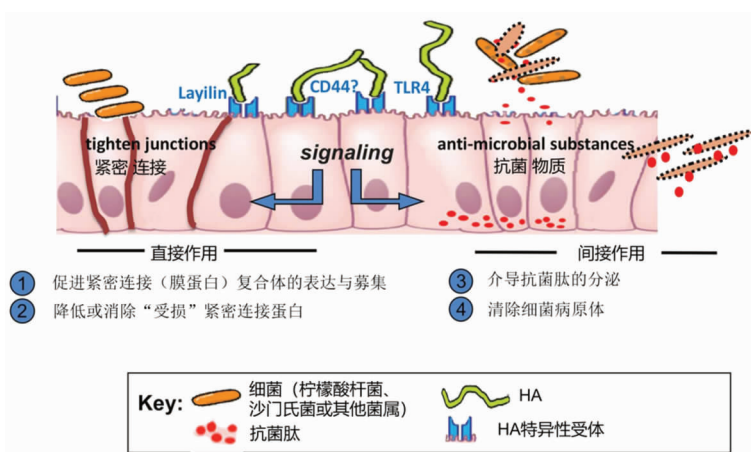


图4 HA35促进肠上皮屏障稳定性的作用机制^[8]

Fig.4 Mechanism of promoting intestinal epithelial barrier stability by HA35^[8]

3.1.2 HA调节肠道菌群平衡的功能 肠道菌群构成了肠道的生物屏障,通过调节免疫反应,诱导对病原体的防御机制,促进难消化的膳食纤维发酵,维持维生素合成和药物代谢等作用以维持肠道健康。其中,嗜黏蛋白阿克曼氏菌(*Akkermansia muciniphila*)是健康人体肠道中丰富的黏蛋白分解细菌,是维持肠道稳态健康的关键微生物。HA可提升这类益生菌的丰度,有效抑制病原菌的黏附,保护肠道免受病原体侵害^[3]。HA可作为潜在的益生元成分^[10],促进益生菌定殖和存活,更好地维持肠道稳态。牛沂菲等^[56]的研究表明,口服HA有助于提高肠道对有害菌(李斯特菌、柠檬酸杆菌、肠致病性大肠杆菌等)感染的控制能力,说明HA可保护肠道免受细菌感染,维持肠道菌群平衡。肠道菌群的稳态与肠上皮屏障的稳定性有一定关联性,如Kim等^[54]研究表明,口服HA35可以上调肠上皮细胞间紧密连接蛋白的表达,维持肠上皮屏障的稳定性来预防肠道免受细菌(柠檬酸杆菌和沙门氏菌)感染,提高肠道先天免疫的防御机制。除此之外,肠道菌群对外源性HA的降解代谢还能提高肠道菌群的多样性和丰富度,并通过肠道菌群酵解HA产生乙酸、丙酸和丁酸等代谢副产物SCFAs,为肠上皮细胞提供能量,起到保护肠上皮屏障的作用^[57]。其中,丁酸盐通过激活腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase,

AMPK)和提高紧密连接蛋白Claudin-1的转录和表达,对炎症引起的肠上皮屏障损伤同样具有修复作用^[58]。Mao等^[20]的研究中也证实口服HA可促进肠道中益生菌的富集,减少鼠柠檬酸杆菌定殖,降低由细菌感染引发结肠炎的风险,进而提高肠道对病原微生物的控制能力。另外,HA作为肠道外基质的重要组成成分,其前体乙酰葡糖胺也是有益菌(阿克曼氏菌、梭状芽胞杆菌XIVa簇、乳酸杆菌)的碳源,促进肠道菌群的共生,或作为细胞壁中主要成分肽聚糖的底物,参与肽聚糖的合成。这进一步验证HA可作为益生元维持肠道微生态平衡^[19]。

口服HA可有效发挥对肠道菌群的动态调节作用,提高肠道屏障对抗病原体入侵的抵抗力和免疫功能,具有维持肠道稳态的功能。现有研究暂未基于其分子量讨论HA对于肠道共生菌群的调节功能是否存在肠道菌群丰度及多样性的影响偏差,待后续研究学者进一步探究HA在分子量差异性上对肠道菌群的影响。

3.2 HA对肠道炎症状态的改善作用

许多研究表明,外源性HA摄入肠道组织中存在的持续炎症状态具有一定缓解作用^[9]。其中,肠道炎症是发生炎症性肠病(Inflammatory bowel disease,IBD)的前兆,包含溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis,UC)和克罗恩病(Crohn's disease,

CD)。这类疾病通过其炎症部位不同而区分,CD主要表现在胃肠道整体的炎症损伤,而UC主要体现在直肠和结肠部位的黏膜损伤^[58]。UC的发病率普遍高于CD,特别是我国UC发病率较高,现在逐渐发展为亟待解决的肠道健康隐患。

3.2.1 HA对肠道炎症的缓解作用 目前UC的治疗手段主要以药物治疗为主,5-氨基水杨酸(5-Amino salicylic acid,5-ASA)是用于治疗轻度至中度UC的首选药物,通过口服或灌肠方式给予药物,可减缓UC症状。Chiu等^[59]研究发现通过构建5-ASA和HA的复合物,相较于单独使用5-ASA,显著抑制结肠组织中髓过氧化物酶(Myeloperoxidase,MPO)活性,并显著降低炎症细胞因子TNF- α 表达,一方面具有促进肠道黏膜伤口愈合的作用,另一方面可降低由UC引起的炎症反应。

HA除了与治疗药物联合作用下能够显著缓解肠道炎症损伤外,其单独给予也具备减轻肠道炎症的功效。例如,HMW-HA可通过和肿瘤坏死基因 α 刺激基因-6(Tumor necrosis factor α stimulated gene 6,TSG-6)蛋白的相互作用,促进肠道屏障的伤口愈合,并诱导肠上皮细胞CD44受体表达,促进肠道黏膜层的修复^[60-61]。Asari等^[37]的研究显示HMW-HA(900 ku)可通过TLR-4受体激活肠上皮的免疫防御机制,促进抗炎细胞因子白介素10(IL-10)的分泌,降低单核细胞趋化蛋白5(Monocyte chemotactic protein 5,MCP-5)、干细胞因子(Stem cell factor,SCF)及血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor,VEGF)的表达,并通过上调细胞因子信号转导抑制因子3(Suppressor of cytokine signaling 3,SOCS3)和下调多效蛋白(Pleiotrophin,PTN)来抑制肠道炎症反应的进程。由此说明,在应对炎症损伤时,HMW-HA既可与黏蛋白相互作用形成多孔复杂的致密网面^[4],减少病原体和抗原在肠黏膜的扩散,发挥对肠道屏障的保护作用;还可刺激抗炎细胞因子产生,调控生长因子、趋化因子的生成^[37],从而起到抗炎的功能。

此外,LMW-HA也具有对肠道炎症的缓解作用,Hill等^[11]利用HT-29结肠上皮细胞探究不同HA片段对 β -防御素2蛋白表达的影响,相较于于

HMW-HA(2 000 ku)及O-HA(4.7 ku)的不显著作用,功能活性HA片段($16 \text{ ku} \leq \text{Mw} \leq 74 \text{ ku}$)能够显著促进细胞内 β -防御素2表达,促进肠道屏障的保护。Gunasekaran等^[62]的研究结果显示,口服HA35可通过上调肠道中紧密连接蛋白表达来调控肠道通透性,并改善肠道或血清中TNF- α 、 γ 干扰素(IFN- γ)、白介素6(Interleukin-6,IL-6)、白介素1 β (Interleukin-1 β ,IL-1 β)、趋化因子CXCL1(GRO- α)等细胞因子/趋化因子失调,增强肠道组织应对炎症状态的免疫防御作用。而在乙醇诱导的肠道损伤模型^[63]中也证实这种功效,HA35经口给予可以恢复Tollip蛋白信号通路的过度激活,改善TLR-2/4受体信号传导的过度刺激,调控miR155、miR181b-3p等miRNA水平正常化,并抑制炎症因子,如TNF- α 的表达,从而恢复正常的肠道屏障功能。

由此可见,口服给予HA可通过多种方式调控肠道内炎症细胞因子、生长/趋化因子的分泌,或影响其肠道通透性或紧密连接蛋白表达,增强肠道屏障的免疫防御功能,缓解肠道中的不良炎症反应,尽快恢复肠道稳态健康。而且,不同分子质量大小的HA的调控效果不同,其中最有效的HA样品的平均分子质量为35 ku。

3.2.2 基于HA靶向功能的纳米颗粒对肠道炎症的改善作用 如今,纳米颗粒已运用于天然食品、加工食品中,大多数金属元素(如银、氧化铁、二氧化钛、氧化锌等)、纳米碳材料、树状性聚合物构成纳米颗粒骨架,可能对肠屏障及肠道菌群造成潜在的细胞毒性危害^[64]。HA作为肠道屏障中肠道上皮层、肠壁黏膜层的重要成分,具有很好的生物相容性,基于HA靶向功能的纳米递送系统可有效改善肠道炎症^[65]。例如,Kotla等^[66]构建出HA功能化聚合物纳米颗粒,与原始HA相比能够更好地聚集于发炎结肠上皮层,形成黏性物理屏障,促进紧密连接的信号传导作用,通过肠上皮层钙黏蛋白(E-Cadherin)介导来调控肠上皮细胞生长、增殖及细胞骨架重排,降低肠道通透性来缓解肠道炎症损伤。

另外,活性化合物仅通过口服给予的方式可能无法抵抗胃肠道的消化环境亦或导致功能失活,若没有将其封装在具有靶向性的纳米递送系

统,纳米颗粒将扩到非炎症的组织区域,易造成脱靶的副作用。而HA是具备生物相容性的天然多糖,且可以特异性结合CD44受体,而后者在UC组织的结肠上皮细胞和巨噬细胞表面过度表达,因此,构建基于HA的纳米递送系统能增强肠道中活性物质对炎症区域的选择性。姜黄素(Curcumin,CUR)具有抗氧化、抗肿瘤等多种生物活性,然而由于其稳定性差且代谢速率快的问题,使CUR在食品中的应用受到限制,而以HA为材料制备CUR的食品运载体系可改善这个问题^[67]。Xiao等^[68]合成了HA功能化的纳米颗粒并成功包埋CUR及CD98 siRNA(siCD98),使其在体内消化后能够在结肠发炎部位靶向递送并缓慢释放两种活性分子;与基于siCD98或CUR的单药治疗相比,HA功能化的纳米颗粒可以通过保护黏膜层和减轻炎症对UC发挥联合作用。另外,胆红素是一类具有防御疾病、抗衰老等作用的天然色素,在食品领域中也作为抗氧化剂使用^[69]。Lee等^[70]构建HA-胆红素纳米颗粒(Hyaluronic acid-bilirubin nanomedicine,HABN),发现口服HABN能显著缓解结肠和肠道黏膜的炎症损伤,促进结肠组织中抗炎细胞因子中IL-10及TGF- β 分泌,快速恢复肠道屏障的免疫调节功能,而HA和胆红素的单纯混合物(HA+BR)仅具有很少的治疗效果。另外,PEG-BN(基于PEG的胆红素纳米颗粒对照组)虽在静脉注射显示良好的抗炎功效^[71],但是口服给药时与HABN相比仅发挥中等缓解作用^[70],这进一步证实HA的靶向性在发挥胆红素的抗炎特性上发挥了关键作用。赖氨酸-脯氨酸-缬氨酸(KPV)是一种天然存在的三肽,已被证明可减轻结肠细胞的炎症反应^[72]。Xiao等^[73]通过体内及体外试验数据均表明,与水凝胶包裹的KPV-NP相比,HA进一步包裹的HA-KPV-NPs纳米颗粒能更好地发挥加速肠道黏膜愈合及抑制TNF- α 分泌的作用,促进UC疾病的恢复进程,发挥对肠道炎症的改善作用。

考虑到HA所具备的多种生物学功能,无论是单独使用还是与其它活性物质联合使用,又或是纳米递送系统中作为配方之一,均有可能缓解肠道中的不良炎症反应,以调节肠道稳态。另外,分子质量的大小也决定纳米颗粒的尺寸,影响黏

附肠道黏膜表面发挥相互作用。例如,HABN选择中发现分子质量为100 ku的HA具备最适的纳米颗粒粒径及Zeta电位,从而显示最高细胞摄取率^[70];Souza等^[6]通过探究不同分子质量HA的流变学及黏膜黏附特性,证实LMW-HA($M_w \leq 10^5$ u)相较于HMW-HA($M_w > 10^5$ u)及O-HA($M_w \leq 10^4$ u)能显著被肠道吸收并附着于肠黏膜表面,可用于改善肠道免疫失调。

4 结语

作为食品新原料,不同分子质量HA的生物活性表现出显著差异,分子质量对其发挥独特的生理功能产生重要影响。因此开发基于不同分子质量HA精准、高效和规模化制备技术是开发功能性HA的关键技术之一,还需要进一步深入研究。工业上多数通过酶切制备小分子HA,这需要经历2个步骤。如若能克服HA多糖黏度较高的困难,优化出高产量的酶膜耦合技术的制备工艺,又或者通过基因工程等技术开发出直接生产LMW-HA且产量较高的优势发酵菌株,进一步解决工业化生产小分子HA的难题,将会大幅度提升小分子HA在食品中的应用范围。

此外,随着近年来基于HA分子质量作用机制的不断探索,口服HA对肠道稳态的多重调节功能将引起重视。相关研究表明HA口服后不仅可以通过不同途径或靶点作用,促进肠道屏障的完整性和稳定性;而且可以有效地对肠道菌群组成进行动态调节,提高机体应对肠道内细菌感染的抵抗力,维持肠道的微生态平衡;HA作用于肠道时,能够缓解肠道炎症状态;HA与纳米颗粒技术的结合,能更有效地促进肠道稳态功能恢复稳定。食源性多糖的HA对肠道健康的多重调节作用,还有许多方向值得进一步研究。例如,根据细胞类型或机体不同生理作用的调节需求,如何选择合适分子质量大小的HA。这些工作将为今后富含HA原料的食品开发提供更好的思路,进一步促进HA在营养与健康产业的精准开发及应用。

参 考 文 献

- [1] FALLACARA A, BALDINI E, MANFREDINI S, et

- al. Hyaluronic acid in the third millennium[J]. *Polymers*, 2018, 10(7): 701–736.
- [2] 王钊, 徐康, 王方, 等. 经口给予透明质酸的生理功能及其作用机制研究进展[J]. *食品科学*, 2021, 42(23): 1–10.
WANG Z, XU K, WANG F, et al. Progress in research on physiological function and mechanism of oral hyaluronic acid[J]. *Food Science*, 2021, 42(23): 1–10.
- [3] CYPHERT J M, TREMPUS C S, GARANTZIOTIS S. Size matters: Molecular weight specificity of hyaluronan effects in cell biology[J]. *International Journal of Cell Biology*, 2015, 2015: 563818.
- [4] TAVIANATOU A G, CAON I, FRANCHI M, et al. Hyaluronan: Molecular size-dependent signaling and biological functions in inflammation and cancer[J]. *The FEBS Journal*, 2019, 286(15): 2883–2908.
- [5] DE LA MOTTE C A. Hyaluronan in intestinal homeostasis and inflammation: Implications for fibrosis[J]. *American Journal of Physiology–Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2011, 301(6): 945–949.
- [6] SOUZA A B, CHAUD M V, SANTANA M H A. Hyaluronic acid behavior in oral administration and perspectives for nanotechnology-based formulations: A review[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 222: 115001.
- [7] DE SOUZA A B, CHAUD M V, ALVES T F, et al. Hyaluronic acid in the intestinal tract: Influence of structure, rheology, and mucoadhesion on the intestinal uptake in rats[J]. *Biomolecules*, 2020, 10(10): 1422–1441.
- [8] KIM Y, DE LA MOTTE C A. The role of hyaluronan treatment in intestinal innate host defense[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 569.
- [9] BOSI A, BANFI D, BISTOLETTI M, et al. Hyaluronan: A neuroimmune modulator in the microbiota-gut axis[J]. *Cells*, 2021, 11(1): 126–145.
- [10] ZHENG X L, WANG B T, TANG X, et al. Absorption, metabolism, and functions of hyaluronic acid and its therapeutic prospects in combination with microorganisms: A review[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2022, 299: 120153.
- [11] HILL D R, KESSLER S P, RHO H K, et al. Specific-sized hyaluronan fragments promote expression of human β -defensin 2 in intestinal epithelium[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287(36): 30610–30624.
- [12] KESSLER S P, OBERY D R, NICKERSON K P, et al. Multifunctional role of 35 kilodalton hyaluronan in promoting defense of the intestinal epithelium[J]. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 2018, 66(4): 273–287.
- [13] MEYER K, PALMER J W. The polysaccharide of the vitreous humor[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1934, 107(3): 629–634.
- [14] 卢方云, 吴瑛婕, 黄瑾, 等. 透明质酸的制备及其应用的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(5): 440–447.
LU F Y, WU Y J, HUANG J, et al. Research progress on preparation and application of hyaluronic acid[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(5): 440–447.
- [15] 宋永民, 郭学平, 栾贻宏, 等. 新资源食品-透明质酸[J]. *食品与药品*, 2009, 11(3): 56–59.
SONG Y M, GUO X P, LUAN Y H, et al. New food resource-hyaluronic acid[J]. *Food and Drug*, 2009, 11(3): 56–59.
- [16] 聂少平, 唐炜, 殷军艺, 等. 食源性多糖结构和生理功能研究概述[J]. *中国食品学报*, 2018, 18(12): 1–12.
NIE S P, TANG W, YIN J Y, et al. Research progress on structure and functional activities of food-derived polysaccharides[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2018, 18(12): 1–12.
- [17] 郭凤仙, 高芑, 耿桂英, 等. 透明质酸钠的毒理学研究[J]. *中国生化药物杂志*, 2010, 31(5): 316–319.
GUO F X, GAO P, GENG G Y, et al. Study on toxicology of sodium hyaluronate[J]. *Chinese Journal of Biochemical and Pharmaceuticals*, 2010, 31(5): 316–319.
- [18] 彭帮柱, 姚小巧. 一种具有调节肠道菌群作用的透明质酸钠饮料及其制备方法: CN114081114A[P]. 2022-02-25.
PENG B Z, YAO X Q. A sodium hyaluronate beverage with the effect of regulating intestinal flora and its preparation method: CN114081114A [P]. 2022-02-25.
- [19] 甄文博, 宋永民, 冯晓毅, 等. 透明质酸及其盐在改善肠道菌群失调中的用途及其组合物: CN114191447A[P]. 2022-03-18.

- ZHEN W B, SONG Y M, FENG X Y, et al. Application of and of hyaluronan and its composition in improving intestinal flora imbalance: CN114191447A [P]. 2022-03-18.
- [20] MAO T, SU C W, JI Q, et al. Hyaluronan-induced alterations of the gut microbiome protects mice against *Citrobacter rodentium* infection and intestinal inflammation [J]. Gut Microbes, 2021, 13 (1): 1972757.
- [21] 张子辉. 透明质酸的制备及其对人结肠癌细胞 TNF- α 表达、迁移和转录组的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2021.
- ZHANG Z H. Preparation of hyaluronic acid and its effect on TNF- α expression, migration and transcriptome of human colon cancer cells[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2021.
- [22] 杜平中. 透明质酸的功能, 制备及其在医学中的应用[J]. 上海医药, 2012, 33(8): 46-51.
- DU P Z. The function, preparation and medical application of hyaluronan [J]. Shanghai Medical and Pharmaceutical Journal, 2012, 33(8): 46-51.
- [23] HAFSA J, CHAOUCH M A, CHARFEDDINE B, et al. Effect of ultrasonic degradation of hyaluronic acid extracted from rooster comb on antioxidant and antiglycation activities [J]. Pharmaceutical Biology, 2017, 55(1): 156-163.
- [24] 刘金龙, 赵国群, 李志敏, 等. 培养条件对 *Streptococcus equisimilis* 合成透明质酸相对分子质量的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2015, 34(2): 209-214.
- LIU J L, ZHAO G Q, LI Z M, et al. Effect of culture condition on the molecular weight of hyaluronic acid synthesized by *Streptococcus equisimilis*[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2015, 34(2): 209-214.
- [25] CHEN H Y, QIN J, HU Y. Efficient degradation of high-molecular-weight hyaluronic acid by a combination of ultrasound, hydrogen peroxide, and copper ion[J]. Molecules, 2019, 24(3): 617-628.
- [26] TAWADA A, MASA T, OONUKI Y, et al. Large-scale preparation, purification, and characterization of hyaluronan oligosaccharides from 4-mers to 52-mers[J]. Glycobiology, 2002, 12(7): 421-426.
- [27] 何曼君, 陈维孝, 董西侠. 高分子物理[M]. 上海: 复旦大学出版社, 2000: 208-211.
- HEM J, CHEN W X, DONG X X. Polymer physics [M]. Shanghai: Fudan University Press, 2000: 208-211.
- [28] YUAN P H, LV M X, JIN P, et al. Enzymatic production of specifically distributed hyaluronan oligosaccharides [J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 129: 194-200.
- [29] 韦朝宝, 堵国成, 陈坚, 等. 发酵透明质酸寡糖兽疫链球菌工程菌株的构建[J]. 生物工程学报, 2019, 35(5): 805-815.
- WEI C B, DU G C, CHEN J, et al. Construction of engineered *Streptococcus zooepidemicus* for the production of hyaluronan oligosaccharides[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2019, 35(5): 805-815.
- [30] 陈万河, 储消和, 沈建, 等. 一种连续化生产低分子量透明质酸的方法及所得低分子量透明质酸和应用: CN111893151A[P]. 2020-11-06.
- CHEN W H, CHU X H, SHEN J, et al. Method and application for continuous production of low molecular weight hyaluronic acid: CN111893151A[P]. 2020-11-06.
- [31] 吴凌天, 卢成慧, 高华, 等. 一步法高效制备小分子硫酸软骨素和小分子透明质酸的方法: CN109988739B[P]. 2021-10-19.
- WU L T, LU C H, GAO H, et al. One-step method for efficient preparation of low molecular weight chondroitin sulfate and hyaluronic acid: CN109988739B[P]. 2021-10-19.
- [32] STERN R, ASARI A A, SUGAHARA K N. Hyaluronan fragments: An information-rich system[J]. European Journal of Cell Biology, 2006, 85 (8): 699-715.
- [33] LU Y, LI X R, LIU S S, et al. Toll-like receptors and inflammatory bowel disease[J]. Frontiers in Immunology, 2018, 9: 107-123.
- [34] HU J B, LI S J, KANG X Q, et al. CD44-targeted hyaluronic acid-curcumin prodrug protects renal tubular epithelial cell survival from oxidative stress damage[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 193: 268-280.
- [35] WOLNY P M, BANERJI S, GOUNOU C, et al. Analysis of CD44-hyaluronan interactions in an artificial membrane system: Insights into the distinct binding properties of high and low molecular weight hyaluronan[J]. Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(39): 30170-30180.
- [36] YANG C X, CAO M L, LIU H, et al. The high

- and low molecular weight forms of hyaluronan have distinct effects on CD44 clustering[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287(51): 43094–43107.
- [37] ASARI A, KANEMITSU T, KURIHARA H. Oral administration of high molecular weight hyaluronan (900 kDa) controls immune system via Toll-like receptor 4 in the intestinal epithelium[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(32): 24751–24758.
- [38] JIANG D H, LIANG J R, NOBLE P W. Hyaluronan as an immune regulator in human diseases[J]. *Physiological Reviews*, 2011, 91(1): 221–264.
- [39] TOOLE B P, GHATAK S, MISRA S. Hyaluronan oligosaccharides as a potential anticancer therapeutic[J]. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2008, 9(4): 249–252.
- [40] HISADA N, SATSU H, MORI A, et al. Low-molecular-weight hyaluronan permeates through human intestinal Caco-2 cell monolayers via the paracellular pathway[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2008, 72(4): 1111–1114.
- [41] KIMURA M, MAESHIMA T, KUBOTA T, et al. Absorption of orally administered hyaluronan[J]. *Journal of Medicinal Food*, 2016, 19(12): 1172–1179.
- [42] MA S Y, NAM Y R, JEON J, et al. Simple and efficient radiolabeling of hyaluronic acid and its *in vivo* evaluation via oral administration[J]. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 2015, 305: 139–145.
- [43] SATO Y, JOUMURA T, TAKEKUMA Y, et al. Transfer of orally administered hyaluronan to the lymph[J]. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2020, 154: 210–213.
- [44] 木村守. 経口摂取ヒアルロン酸の消化・吸収および皮膚・関節障害抑制効果に関する研究[D]. 東京都: 東京農工大学, 2017.
- KIMURA M. The digestibility and absorbability of hyaluronan, and amelioration of skin and joint disorder model by the orally administration of hyaluronan[D]. Tokyo: Tokyo University of Agriculture and Technology, 2017.
- [45] KAWAI K, KAMOCHI R, OIKI S, et al. Probiotics in human gut microbiota can degrade host glycosaminoglycans[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 1–13.
- [46] 聂少平, 黄晓君. 天然产物多糖对胃肠道功能的影响[J]. *中国食品学报*, 2015, 15(5): 11–19.
- NIE S P, HUANG X J. Effects of natural polysaccharides on gastrointestinal function[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2015, 15(5): 11–19.
- [47] HUO J Y, WU Z Y, SUN W Z, et al. Protective effects of natural polysaccharides on intestinal barrier injury: A review[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, 70(3): 711–735.
- [48] DANIEL M P, INGRID M, CESAR F, et al. Efficacy of oral administration of yoghurt supplemented with a preparation containing hyaluronic acid (Mobilee™) in adults with mild joint discomfort: A randomized, double-blind, placebo-controlled intervention study[J]. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 2013, 6(1): 63–68.
- [49] CANUT L, ZAPATERO J, LÓPEZ S, et al. Genotoxicity, acute and subchronic toxicity studies in rats of a rooster comb extract rich in sodium hyaluronate[J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2012, 62(3): 532–541.
- [50] 中国中西医结合学会皮肤性病学会湿疹皮炎学组, 中国老年保健医学研究会皮肤科分会. 不同相对分子质量及结构的透明质酸在皮肤科合理选择应用专家共识[J]. *世界临床药物*, 2022, 43(3): 222–225.
- Eczema and Dermatitis Group, Dermatology and Venereology Branch, Chinese Association of Integrative Medicine; Dermatology Branch of Chinese Association of Geriatric Research. Expert consensus on rational selection and application of hyaluronic acid with different relative [J]. *World Clinical Drugs*, 2022, 43(3): 222–225.
- [51] RIEHL T E, EE X P, STENSON W F. Hyaluronic acid regulates normal intestinal and colonic growth in mice[J]. *American Journal of Physiology–Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2012, 303(3): 377–388.
- [52] ZHENG L, RIEHL T E, STENSON W F. Regulation of colonic epithelial repair in mice by Toll-like receptors and hyaluronic acid[J]. *Gastroenterology*, 2009, 137(6): 2041–2051.
- [53] KIM Y, WEST G A, RAY G, et al. Layilin is critical for mediating hyaluronan 35 kDa-induced intestinal epithelial tight junction protein ZO-1 *in vitro* and *in vivo*[J]. *Matrix Biology*, 2018, 66: 93–109.
- [54] KIM Y, KESSLER S P, OBERY D R, et al.

- Hyaluronan 35 kDa treatment protects mice from *Citrobacter rodentium* infection and induces epithelial tight junction protein ZO-1 *in vivo*[J]. *Matrix Biology*, 2017, 62: 28–39.
- [55] HANSEN I M, EBBESEN M F, KASPERSEN L, et al. Hyaluronic acid molecular weight-dependent modulation of mucin nanostructure for potential mucosal therapeutic applications[J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2017, 14(7): 2359–2367.
- [56] 牛沂菲, 王海方, 付杰, 等. 透明质酸促进肠道抵抗感染[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2018, 45(9): 981–986.
- NIU Y F, WANG H F, FU J, et al. Hyaluronic acids protects against gastric infection[J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2018, 45(9): 981–986.
- [57] PAN L, AI X Z, FU T Y, et al. *In vitro* fermentation of hyaluronan by human gut microbiota: Changes in microbiota community and potential degradation mechanism [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 269: 118313.
- [58] HADJI H, BOUCHEMAL K. Advances in the treatment of inflammatory bowel disease: Focus on polysaccharide nanoparticulate drug delivery systems [J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2022, 181: 114101.
- [59] CHIU C T, KUO S N, HUNG S W, et al. Combined treatment with hyaluronic acid and mesalamine protects rats from inflammatory bowel disease induced by intracolonic administration of trinitrobenzenesulfonic acid[J]. *Molecules*, 2017, 22(6): 904–917.
- [60] 侯林林, 高艳霞. TSG-6 蛋白在疾病模型中的研究进展[J]. *临床急诊杂志*, 2019, 20(9): 696–700.
- HOU L L, GAO Y X. Research progress of TSG-6 protein in disease model[J]. *Journal of Clinical Emergency*, 2019, 20(9): 696–700.
- [61] SAMMARCO G, SHALABY M, ELANGOVA S, et al. Hyaluronan accelerates intestinal mucosal healing through interaction with TSG -6[J]. *Cells*, 2019, 8(9): 1074–1091.
- [62] GUNASEKARAN A, ECKERT J, BURGE K, et al. Hyaluronan 35 kDa enhances epithelial barrier function and protects against the development of murine necrotizing enterocolitis[J]. *Pediatric Research*, 2020, 87(7): 1177–1184.
- [63] SAIKIA P, ROYCHOWDHURY S, BELLOS D, et al. Hyaluronic acid 35 normalizes TLR4 signaling in Kupffer cells from ethanol-fed rats via regulation of microRNA291b and its target Tollip [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 1–12.
- [64] BERGIN I L, WITZMANN F A. Nanoparticle toxicity by the gastrointestinal route: Evidence and knowledge gaps[J]. *International Journal of Biomedical Nanoscience and Nanotechnology*, 2013, 3(1/2): 163–210.
- [65] KOTLA N G, BONAM S R, RASALA S, et al. Recent advances and prospects of hyaluronan as a multifunctional therapeutic system[J]. *Journal of Controlled Release*, 2021, 336: 598–620.
- [66] KOTLA N G, ISA I L M, RASALA S, et al. Modulation of gut barrier functions in ulcerative colitis by hyaluronic acid system[J]. *Advanced Science*, 2022, 9(4): 229–240.
- [67] 任爽, 董文霞, 刘锦芳, 等. 食品运载体系包埋姜黄素的研究进展[J]. *食品科学*, 2021, 42(9): 264–274.
- REN S, DONG W X, LIU J F, et al. Progress in food delivery systems used for curcumin encapsulation[J]. *Food Science*, 2021, 42(9): 264–274.
- [68] XIAO B, ZHANG Z, VIENNOIS E, et al. Combination therapy for ulcerative colitis: Orally targeted nanoparticles prevent mucosal damage and relieve inflammation[J]. *Theranostics*, 2016, 6(12): 2250–2266.
- [69] 张能荣, 王德祥. 胆红素的应用[J]. *中国生化药物杂志*, 1992(3): 1–3.
- ZHANG N R, WANG D X. Application of bilirubin [J]. *Chinese Journal of Biochemical and Pharmaceuticals*, 1992(3): 1–3.
- [70] LEE Y, SUGIHARA K, GILLILLAND M G, et al. Hyaluronic acid-bilirubin nanomedicine for targeted modulation of dysregulated intestinal barrier, microbiome and immune responses in colitis [J]. *Nature Materials*, 2020, 19(1): 118–126.
- [71] LEE Y, KIM H, KANG S, et al. Bilirubin nanoparticles as a nanomedicine for anti-inflammation therapy[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2016, 55(26): 7460–7463.
- [72] KANNENGIESSER K, MAASER C, HEIDEMANN J, et al. Melanocortin-derived tripeptide KPV has anti-inflammatory potential in murine models of inflammatory bowel disease[J]. *Inflammatory Bowel Dis-*

- eases, 2008, 14(3): 324–331.
- [73] XIAO B, XU Z G, VIENNOIS E, et al. Orally targeted delivery of tripeptide KPV via hyaluronic acid-functionalized nanoparticles efficiently alleviates ulcerative colitis [J]. *Molecular Therapy*, 2017, 25(7): 1628–1640.

Recent Advances on the Preparation, Cell Functions and Absorption of Hyaluronic Acid and Its Regulatory Effect on Intestinal Homeostasis and Inflammation

Teng Wei¹, Liu Shutao^{1*}, Wu Jinhong^{2*}, Zhang Yong³

(¹*Institute of Biotechnology, Fuzhou University, Fuzhou 350002*

²*School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240*

³*State Key Laboratory of Microbial Metabolism, School of Life Sciences and Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240*)

Abstract Hyaluronic acid (HA) is a non-sulfated glycosaminoglycan. After HA was approved to become a ‘new food ingredient’ in 2021, it provoked the widespread interest from both food researchers and industrial field. However, in recent years, more and more research has shown that the biological activity of HA can have effect on pro-inflammatory or anti-inflammatory as well as pro-proliferation or anti-proliferation according to its different molecular weight. Therefore, in order to efficiently and accurately improve the application value of HA in food health industry, it is necessary to comprehensively conclude and summarize the study progress of HA in food science and technology, according to its differences in molecular weight. In views of this idea, this paper, based on the overview of developing progress of HA application, focuses on preparation, cell activity and absorption of HA with different molecular weights. And it describes the modulatory effect of HA towards intestinal tract from two dimensions, which are homeostasis maintenance and inflammation regulation, aiming to fully explore the potential of HA in the field of nutrition and health industry.

Keywords hyaluronic acid; molecular weight; preparation; biological function; intestinal tract