

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2019.04.10

女贞子多糖对仔猪抗氧化及 MAPK 通路的影响

朱 琪^{1,2}, 梁世岳¹, 鲁 森³, 赵 骏⁴, 李玉鹏¹, 乔家运^{1,2}, 李海花^{5*}

(1.天津大学化工学院,天津 300350;2.天津市畜牧兽医研究所,天津 300381;3.天津大学理学院化学系,天津 300072;
4.天津中医药大学中药学院,天津 301617;5.天津农学院动物科学与动物医学学院,天津 300384)

[收稿日期] 2018-10-31 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2019) 04-0065-07 [中图分类号] S853.74

[摘 要] 为了研究女贞子多糖对人工感染大肠杆菌 K88 仔猪氧化应激的保护作用,将实验猪分为四组:对照组、模型组、女贞子多糖组和女贞子多糖饲喂后攻毒组。试验运用血清生化、ELISA 和 RT-PCR 等技术,通过检测血清和肝肾组织的抗氧化酶和氧化产物,仔猪肝脏氧化应激相关基因转录水平和 MAPK 信号关键蛋白的转录,评价女贞子多糖的抗氧化机制。结果显示,女贞子多糖可以显著降低由大肠杆菌引起的仔猪血清 MDA 含量的升高,调节肝肾组织中 MDA 和 SOD 的水平;女贞子多糖可以提高仔猪肝脏中 CAT 和 CuZnSOD 的 mRNA 转录水平;正常情况下,女贞子多糖对仔猪肝脏 TNF- α 的 mRNA 转录表达无影响,但可以降低大肠杆菌攻毒后的转录水平;女贞子多糖抑制 MAPK 通路主要依靠调控 ERK1 起作用。结果表明,女贞子多糖可以通过调节肝脏抗氧化指标保护大肠杆菌引起的仔猪氧化应激反应,其作用分子机制可能与下调 MAPK 相关信号转录水平有关。

[关键词] 女贞子多糖;仔猪;大肠杆菌病;抗氧化;MAPK 通路

Studies on Antioxidant and MAPK Pathway of Ligustrum Polysaccharides in Piglets

ZHU Qi^{1,2}, LIANG Shi-yue^{1,2}, LU Sen³, ZHAO Jun⁴, LI Yu-peng^{1,2}, QIAO Jia-yun^{1,2}, LI Hai-hua^{5*}

(1.Tianjin Institute of Animal Husbandry and Veterinary, Tianjin 300381, China; 2.Tianjin Livestock and Poultry Health Breeding Technology Engineering Center, Tianjin 300381, China; 3.Tianjin University, School of science, Tianjin 300072, China; 4.Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, School of Chinese Materia Medica, Tianjin 300381, China; 5.Tianjin Agricultural University, College of animal science and animal medicine, Tianjin 300384, China)

Corresponding author: LI Hai-hua, E-mail: lihaihuaok@126.com

Abstract: In order to study the protective effect of ligustrum polysaccharide on oxidative stress of artificially infected piglets with *E.coli* K88, The experimental pigs were divided into four groups: control, model, ligustrum polysaccharide and ligustrum polysaccharide with *E.coli*. In this study, serum biochemical, ELISA and RT-PCR were used to detect antioxidant enzymes and oxidative products in serum and liver and kidney tissues, transcription level of genes related to liver oxidative stress in piglets, transcription of key proteins of MAPK signal, and antioxidant mechanism of ligustrum polysaccharide. The results showed that the ligustrum polysaccharide could significantly reduce the content of MDA in piglets caused by *E.coli* and regulate the level of MDA and SOD in liver

基金项目: 十三五国家重点研发计划“畜禽养殖绿色安全饲料饲养新技术研发”(编号:2018YFD0500600);天津市“131”创新型人才团队(编号:20180338)

作者简介: 朱 琪,博士,从事临床兽医学方向研究。

通讯作者: 李海花。E-mail: lihaihuaok@126.com

and kidney tissues. The mRNA transcription of CAT and CuZnSOD in the livers of piglets can be improved by the polysaccharides of livers. Under normal circumstances, the mRNA expression of TNF- α in the liver of piglets was not affected by the polysaccharides of the livers, but the expression of the transcription of *E.coli* after challenge was reduced. Ligustrum polysaccharide inhibited activation of MAPK pathway mainly depends on regulation of ERK1. Conclusion: ligustrum polysaccharide can protect piglet oxidative stress response induced by *E.coli* by regulating liver antioxidant index, and its molecular mechanism may be related to down-regulation of MAPK related signal transcription level.

Key words: ligustrum polysaccharides, piglets, colibacillosis, antioxidant, MAPK pathway

仔猪大肠杆菌病是由致病性大肠杆菌及其内毒素引起的,给中国乃至世界范围内养猪业造成巨大损失^[1]。仔猪断奶应激由多种原因引起,其中大肠杆菌病继发感染导致腹泻是仔猪死亡的重要原因,本课题组前期研究发现人工感染大肠杆菌可以引起仔猪氧化损伤,并激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路^[2]。饲料中添加女贞子可以提高断奶仔猪生长性能,免疫功能和抗氧化能力^[3]。女贞子多糖是女贞子的重要有效成分,具有促进仔猪生长、调节免疫、防病和抗氧化应激等多重功效^[4]。本研究通过在饲料中添加女贞子多糖饲喂断奶仔猪,口服大肠杆菌 K88 攻毒后,检测血清和肝肾组织中的氧化应激相关因子,并评价肝脏组织 MAPK 信号通路关键蛋白的转录水平,来分析女贞子多糖抗仔猪感染大肠杆菌病的分子机制,为临床应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物及分组 选取体重接近(7.93±1.36)kg, (21±2)日龄,健康三元杂交断奶仔猪“杜×长×大”20头。

1.1.2 女贞子多糖的制备 根据水提醇沉法进行女贞子多糖的提取。取 200 g 炙女贞子于 70 ℃烘箱中,3 h 后将烘干的女贞子倒入粉碎机粉碎,过 40 目筛。称 40 g 女贞子粉放于 320 mL 蒸馏水中在 100 ℃中加热回流 2 h,用真空泵抽滤。把分离出的水溶液,用旋转蒸发仪脱除水分浓缩,浓缩到 3 g/mL 时停止,此时加入一定量乙醇(约 67 mL),使乙醇体积分数占比达到 70%,再用玻璃棒进行搅拌 15 min

后静置 6 h。最后真空泵抽滤析出沉淀,抽滤得到的滤饼为女贞子多糖,最后放于烘箱中烘干,称重得 4.1 g 女贞子多糖,得糖率为 10.25%^[5]。用此方法共制得 200 g 女贞子多糖用于后续试验,制备工作在天津大学理学院和天津中医药大学中药学院共同完成。

1.1.3 试验日粮及饲养管理 断奶仔猪 20 头,每头仔猪为单笼饲养,随机分为 4 组,每组 5 头仔猪,标记为对照组、大肠杆菌组、女贞子多糖组和大肠杆菌+女贞子多糖组。对照组和大肠杆菌组饲喂基础饲料,女贞子多糖组和大肠杆菌+女贞子多糖组饲喂基础日粮中添加了 0.1%的女贞子多糖的饲料。试验为期 15 d,每头仔猪为单笼饲养,自由饮水和采食,湿度为 55%~70%,温度为 25~28 ℃。在试验进行到第 14 天时断料不断水,大肠杆菌组和大肠杆菌+女贞子多糖组攻毒大肠杆菌。24 h 后所有仔猪进行采血,分离血清进行检测。随后屠宰仔猪采取肝脏和肾脏,用磷酸盐缓冲液(PBS)进行冲洗,并迅速放到液氮中速冻后置于-80 ℃冰箱保存备用。

1.2 方法

1.2.1 仔猪大肠杆菌病模型的建立 在饲养第 14 天时,口服大肠杆菌 K88 菌液 1 mL/kg(菌液浓度为 2×10⁹ CFU/mL),菌种为实验室前期保存,具体操作方法参照文献^[5],通过临床诊断,血常规和血清生化指标作为仔猪大肠杆菌病的判定标准,在 24 h 内记录仔猪的发病情况,24 h 后采血剖检采样。

1.2.2 血清及肝、肾氧化指标检测 血清丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、谷胱甘

肽过氧化物酶(GSH-Px)、和过氧化氢酶(CAT)都采用的是比色的方法进行测定,仔猪屠宰后剖检,无菌采集肝脏和肾脏组织,2 h 内测定肝脏、肾脏的丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性,试剂盒购自南京建成生物工程研究所,并严格按照

试剂盒使用说明进行操作。
1.2.3 引物设计与合成 基因序列的引物是由上海生工工程(北京)技术服务有限公司设计合成。基因名称及引物序列见表 1。

表 1 氧化应激相关基因引物序列
Tab 1 Oxidative stress related gene primer sequences

基因/编号	引物序列	扩增长度	退火温度
CATNM397568	F:CGAAGGCCGAAGGTGTTTG R:ACTGTGCGATCCATATCC	374	61
MnSOD NM100154319	F:GGACAAATCTGAGCCCTAACG R:CCTTGTGAAACCGAGCC	159	61
GPX1 NM397403	F:TGGGGAGATCCTGAATTG R:GATAAACTTGGGGTCGGT	184	61
CuZnSOD NM397036	F:TGAAGGGAGAGAAGACAGTGTTAG R:TCTCCAACGTGCCTCTCTTG	181	61
GPX4 NM399537	F:GATTCTGGCCTTCCCTTGC R:TCCCCTTGGGTGGACTTT	173	61
TNF-α NM397086	F:TCCAATGGCAGAGTGGGTATG R:AGCTGGTTGTCTTTCAGCTTCAC	67	61
COX2 NM397590	F:ATGATCTACCCGCCTCACAC R:AAAAGCAGCTCTGGGTCAAA	284	61
HSP70 NM396906	F:GCCCTGAATCCGCAGAATA R:TCCCCACGGTAGGAAACG	152	61
JNK NM396610	F:ACTACAGAGCACCTGAGGTCATCC R:ACATGGTGTTCCAAGCTGTTCAATAAC	167	61
P38 NM100156630	F:CTGGCTCGGCACACTGATGATG R:TCTGTGTAAGCTGGTTAATATGCTCTG	193	61
ERK1 NM45013	F:ACCTACTGCCAGCGGACCTTG R:AGAATGTCTCGGATGCCAATGACG	83	61
GAPDH NM396823	F:CCTCCCTGAGACACGATGGT R:GCCTTGACTGTGCCGTGGAAT	194	61

1.2.4 断奶仔猪肝脏相关基因的检测
1.2.4.1 总 RNA 的提取和反转录 样品处理:首先称重研磨管并记录,采取各组肝脏分别放于研磨管中,称重记录。RNA 提取:使用 DNA/RNA Ex-traction Kit(金瑞鸿捷生物科技有限公司)试剂盒进行提取。反转录:使用 All-in-One™ First-Strand cDNA Synthesis Kit(广州易锦生物技术有限公司)试剂盒。
1.2.4.2 实时荧光定量 PCR 使用 All-in-OneT-

MqPCR Mix(广州易锦生物技术有限公司)试剂盒,加样、离心、振荡、离心,然后把 8 连管放入到荧光定量 PCR 仪中。反应程序为:预变性 95 ℃,10 min;40 个循环;溶解曲线分析。
1.3 统计分析 Excel2013 对试验数据进行初步整理,采用 SPSS20.0 分析软件进行单因素方差统计分析,数据用平均值±标准差表示,以 $P<0.05$ 作为差异显著性判断标准,以 $P<0.01$ 作为差异极显著判断标准。

2 结果与分析

2.1 女贞子多糖对感染大肠杆菌仔猪血清抗氧化指标的影响 由表 2 可知,试验 I 组仔猪血清 MDA 含量显著高于对照组 ($P<0.05$),而超氧化物歧化酶 (SOD) 含量显著低于对照组 ($P<0.05$)。试验 I 组仔猪血清谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 含量与试验 III 组无显著差异 ($P>0.05$),且试验 II 与试验 I 组亦无显著差异 ($P>0.05$)。对照组仔猪血清过氧化氢酶 (CAT) 含量显著高于其余各组 ($P<0.05$),且其余各组间无显著差异 ($P<0.05$)。

2.2 女贞子多糖对感染大肠杆菌断奶仔猪肝、肾抗氧化指标的影响 由表 3 可知,肝脏 MDA 含量大肠杆菌组最高,和其它三组比较差异极显著 ($P<$

0.01),SOD 含量大肠杆菌组最低,比对照降低了 57.86%,差异极显著 ($P<0.01$);肾脏 MDA 含量各组差异不显著 ($P>0.05$),SOD 含量大肠杆菌组比对照组下降了 58.21%,差异极显著 ($P<0.01$)。

2.3 女贞子多糖对感染大肠杆菌断奶仔猪肝脏氧化应激相关基因表达的影响 由表 4 可知,肝脏 CAT 基因转录水平:大肠杆菌组显著高于对照组和大肠杆菌+女贞子多糖组 ($P<0.05$),与女贞子多糖组差异不显著 ($P>0.05$);锰超氧化物歧化酶 (Mn-SOD) 和锌铜超氧化物歧化酶 (CuZnSOD) 各组变化趋势基本一致;谷胱甘肽过氧化物酶 1 (GPX1):大肠杆菌组显著高于其它各组 ($P<0.05$);谷胱甘肽过氧化物酶 4 (GPX4) 各组差异不显著 ($P>0.05$)。

表 2 女贞子多糖对感染大肠杆菌断奶仔猪血清抗氧化指标的影响

Tab 2 Effects of ligustrum polysaccharide on serum antioxidant indexes of weaned piglets				
项目 (单位)	对照组	大肠杆菌组	女贞子多糖组	大肠杆菌+女贞子多糖组
MDA (nmol/mL)	4.43±0.51 ^b	7.09±1.30 ^a	3.76±1.72 ^b	5.06±1.36 ^b
SOD (ng/mL)	7.40±1.71 ^a	5.44±0.89 ^b	6.42±0.71 ^a	6.71±0.64 ^a
GSH-Px (ng/mL)	27.82±5.03 ^a	21.70±2.50 ^b	29.27±6.41 ^a	23.25±2.25 ^b
CAT (ng/mL)	13.49±3.64 ^a	8.79±1.91 ^b	7.38±2.04 ^b	7.56±1.24 ^b

同行数据相同或无字母表示差异不显著 ($P>0.05$),不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$),大写字母表示差异极显著 ($P<0.01$)

表 3 女贞子多糖对断奶仔猪感染大肠杆菌肝肾抗氧化能力的影响

Tab 3 Effects of ligustrum polysaccharide on liver and kidney antioxidant capacity of weaned piglets infected with <i>E.coli</i>				
项目	对照组	大肠杆菌组	女贞子多糖组	大肠杆菌+女贞子多糖组
MDA (肝 nmol/mL)	5.10±0.32 ^B	13.70±1.91 ^A	6.35±0.08 ^B	5.34±0.95 ^B
MDA (肾 nmol/mL)	8.21±0.75	10.84±0.83	10.53±1.07	8.72±2.63
SOD (肝 ng/mL)	6.63±0.36 ^{Aa}	4.20±1.53 ^{Bbc}	5.16±0.66 ^{ac}	4.44±0.29 ^{bc}
SOD (肾 ng/mL)	5.60±1.96 ^{Ab}	2.34±0.48 ^{Bc}	5.02±0.33 ^b	5.37±0.76 ^{Aa}

同行数据相同或无字母表示差异不显著 ($P>0.05$),不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$),大写字母表示差异极显著 ($P<0.01$)

表 4 女贞子多糖对感染大肠杆菌断奶仔猪肝脏的氧化应激相关基因 mRNA 表达的影响

Tab 4 Effects of ligustrum polysaccharide on mRNA expression of oxidative stress related genes in liver of weaned piglets infected with *E.coli*

项目	对照组	大肠杆菌组	女贞子多糖组	大肠杆菌+女贞子多糖组
CAT	1.00±0.05 ^b	1.64±0.09 ^a	1.43±0.04 ^a	1.11±0.21 ^b
MnSOD	1.00±0.10 ^B	1.8±0.3 ^A	0.29±0.06 ^C	0.26±0.08 ^C
CuZnSOD	1.01±0.05 ^C	10.88±4.7 ^A	7.49±1.48 ^B	7.19±1.82 ^B
GPX1	1.03±0.07 ^b	1.31±0.16 ^a	1.04±0.13 ^b	1.06±0.06 ^a
GPX4	1.03±0.07	1.07±0.13	1.06±0.31	1.01±0.39

同行数据相同或无字母表示差异不显著 ($P>0.05$),不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$),大写字母表示差异极显著 ($P<0.01$)

2.4 女贞子多糖对感染大肠杆菌断奶仔猪炎症介质与细胞内分子相关基因表达的影响 由表 5 可知,肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 各组均高于对照组

且差异极显著 ($P<0.01$);热休克蛋白 70 (HSP70) 各组均高于对照组且差异极显著 ($P<0.01$);环氧酶 2 (COX2) 各组差异不显著 ($P>0.05$)。

表 5 女贞子多糖对断奶仔猪感染大肠杆菌炎症介质与细胞内分子相关基因表达的影响

Tab 5 Effects of ligustrum polysaccharide on the expression of intracellular molecule-related genes and inflammatory mediators of weaned piglets infected with *E.coli*

项目	对照组	大肠杆菌组	女贞子多糖组	大肠杆菌+女贞子多糖组
TNF- α	1.027±0.068 ^C	3.41±1.62 ^A	1.03±0.46 ^C	1.92±0.35 ^B
COX2	1.020±0.061	1.003±0.002	1.051±0.008	1.006±0.003
HSP70	1.01±0.07 ^A	14.67±6.48 ^B	26.97±5.00 ^B	20.57±1.52 ^B

同行数据相同或无字母表示差异不显著 ($P>0.05$),不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$),大写字母表示差异极显著 ($P<0.01$)

2.5 女贞子多糖对感染大肠杆菌断奶仔猪肝脏组织 MAPK 信号通路相关基因表达的影响 由表 6 可知,大肠杆菌组仔猪肝脏的细胞外调节蛋白激酶 1 (ERK1) 极显著高于其他各组 ($P<0.01$),女贞子多糖组与对照组比较差异不显著 ($P>0.05$),大肠杆

菌+女贞子多糖组高于对照组且差异显著 ($P<0.05$);应激活化蛋白激酶 (JNK) 各组均低于对照组且差异极显著 ($P<0.01$);p38 丝裂原活化蛋白激酶 各组均低于对照组且差异极显著 ($P<0.01$)。

表 6 女贞子多糖对感染大肠杆菌断奶仔猪肝组织 MAPK 相关基因表达的影响

Tab 6 Effects of ligustrum polysaccharide on MAPK-related gene expression in liver of weaned piglets infected with *E.coli*

项目	对照组	大肠杆菌组	女贞子多糖组	大肠杆菌+女贞子多糖组
ERK1	1.02±0.05 ^{Ba}	15.30±2.05 ^A	1.36±0.42 ^{Ba}	5.25±3.46 ^{Cb}
JNK	1.01±0.05 ^A	0.40±0.04 ^B	0.34±0.05 ^B	0.31±0.08 ^B
P38	1.010±0.082 ^A	0.010±0.004 ^B	0.014±0.008 ^B	0.008±0.005 ^B

同行数据相同或无字母表示差异不显著 ($P>0.05$),不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$),大写字母表示差异极显著 ($P<0.01$)

3 讨论与结论

3.1 女贞子多糖对大肠杆菌诱导断奶仔猪氧化应激的保护作用 大肠杆菌可以引起断奶仔猪应激,产生大量自由基,进而导致仔猪机体的氧化损伤^[6]。通过一系列的脂质过氧化反应最终产生 MDA,其含量的高低能够间接反应自由基产生的多少,也可以体现脂质过氧化在畜禽机体组织细胞内的反应程度。SOD 和 GSH 广泛的存在动物机体的组织中,可以使超氧阴离子 O₂⁻转化为 H₂O₂ 进而被清除,它含量的高低能够反映出动物机体清除自由基的能力^[7]。动物机体内的 CAT 是防御体系非常重要的酶,能够将过氧化氢 (H₂O₂) 转化为分子氧和水。

前期研究发现,女贞子萃取物可以有效降低仔猪血清和肌肉中的 MDA 含量,提高肝脏 SOD 和血清 GSH-Px 水平。植物多糖可以显著提高断奶仔猪血清总超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶的活性和总抗氧化能力,降低血清和组织中的 MDA 含量^[8]。研究发现,女贞子多糖可以显著降低由大肠杆菌引起的仔猪血清 MDA 含量的升高,对大肠杆菌引起的抗氧化酶下调有缓解作用,但对正常对照组仔猪无显著影响,揭示出女贞子多糖对仔猪的调节保护作用。本课题组前期研究表明仔猪人工感染大肠杆菌后,血清生化指标显示肝、肾功能异常,研究选取肝、肾组织两个关键氧化指标 MDA 和 SOD 作为参数^[7]。从结果来看女贞

子多糖可以通过调节肝肾组织中 MDA 和 SOD 的水平,起到保护肝肾的目的,这与前期的研究相一致。

3.2 女贞子多糖对大肠杆菌仔猪肝脏氧化应激相关转录因子和 MAPK 信号的调控 GPX1、GPX4 是 GSH-Px 家族的同工酶,它能够使细胞避免氧化攻击、抵抗脂质过氧化反应和清除动物机体内的氧自由基。GPX4 在机体内对磷脂氢过氧化物有比较高的活性,与 VE 结合能够起到抗氧化的作用,并且能够还原磷脂,使动物机体的细胞避免脂质过氧化。

研究发现,断奶仔猪感染大肠杆菌后,肝脏 GPX1 基因转录水平有所升高,预示肝组织将产生更多的 GSH-Px 酶抵御氧化应激。

CuZnSOD 能够将超氧阴离子的自由基转移性清除,在维持动物机体内的氧自由基相对平衡能够起到十分重要的作用。在动物发生氧化应激的时候 MnSOD 有着非常迅速的反应性,以及它在细胞的线粒体中能够将超氧化物转化为氧分子和 H_2O_2 ,进而把机体内有害的 ROS 清除。与 CAT 相关的基因能够调节机体内过氧化氢酶的分泌与合成,CAT 在机体内能够将 H_2O_2 转化成水和分子氧,进而使 H_2O_2 得到清除,使机体免受过氧化的伤害。研究发现,当仔猪感染大肠杆菌后,女贞子多糖可以提高仔猪肝脏中 CAT 和 CuZnSOD 转录水平,从而清除体内过量的氧自由基。

COX2 和 TNF- α 是动物体内非常重要的急性炎症因子,正常情况下表达量很少或者不表达,机体在发生炎症后,COX2 和 TNF- α 的表达量会大幅增加。HSP 在细胞内能够起到保护作用,在动物机体细胞当中能够找到高效的 HSP70,它能够缓解机体发生的炎症反应,并且对肝脏的再生起到促进作用。有研究证实,动物机体细胞内的 HSP70 能够与 NF- κ B 相互反应,避免 NF- κ B 在动物机体内活化^[9]。实验表明仔猪感染大肠杆菌后,肝脏 COX2 基因表达量相对不变,而 TNF- α 的表达量极显著升高;女贞子多糖前处理后,TNF- α 的表达量变化不显著,但攻毒大肠杆菌后 TNF- α 的表达量极显著降低。这说明在正常情况下,女贞子多糖对仔猪肝脏 TNF- α 的转录表达无影响,但可以降低大肠

杆菌攻毒后的转录表达,提示女贞子多糖对肝组织的保护机理与抑制急性炎症因子相关。

MAPK 是一种丝氨酸蛋白激酶或者是一种苏氨酸蛋白激酶,能够感受上游受体传来的信号,并且能够将信号传导到相应的细胞核当中,能够调节基因的表达以及细胞的增殖和凋亡。MAPK 由三种重要的蛋白激酶组成,ERK 对细胞能够起到保护的作用,而 P38 和 JNK 对细胞起到促进凋亡的作用^[10]。MAPK 信号通路当中 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路是一条比较成熟的通路,它能够将细胞膜的受体所接受信号转移到细胞核内,进而细胞内相应蛋白得到了表达,它可以调节细胞的自噬、凋亡、分化和增殖等重要功能^[11-12]。研究表明抑制 ERK 信号通路之后,可以缓解氧化损伤对细胞的损害,与之相反,激活 ERK 信号通路能够对细胞起到损伤的作用。本试验通过研究发现仔猪肝脏 mRNA 转录水平 ERK1 的大肠杆菌+女贞子多糖组与大肠杆菌组相比降低且差异极显著,而女贞子多糖组与对照组相比差异不显著,说明女贞子多糖对断奶仔猪感染大肠杆菌起到了保护作用,且对正常仔猪没有不良影响,但 P38 和 JNK 基因表达相对较低,与上述研究一致。

3.3 结论 女贞子多糖可以通过调节肝脏抗氧化指标保护大肠杆菌引起的仔猪氧化应激反应,其作用机制可能与下调 MAPK 相关信号转录水平有关,从而揭示女贞子保护仔猪肝脏的分子机理。

参考文献:

- [1] Xia L, Dai L, Zhu L, *et al.* Proteomic analysis of IPEC-J2 cells in response to coinfection by porcine transmissible gastroenteritis virus and enterotoxigenic *Escherichia coli* K88 [J]. *Proteomics Clin Appl*, 2017, 11: 11-12.
- [2] Li H, Zhang L, Chen L, *et al.* *Lactobacillus acidophilus* alleviates the inflammatory response to enterotoxigenic *Escherichia coli* K88 via inhibition of the NF- κ B and p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathways in piglets [J]. *BMC Microbiology*, 2016, 16: 273.
- [3] 吕帅兵. 女贞子在猪禽饲料中的应用研究 [J]. *饲料广角*, 2014(16): 41-43.

- Lu S. Application of fructus ligustris in pig and poultry feed[J]. Feed China, 2014(16): 41-43.
- [4] 王阳阳, 冯清清, 武 蓉, 等. 女贞子多糖的提取工艺及其体外抗氧化活性研究[J]. 农产品加工(学刊), 2012(09): 41-44.
- Wang Y, Feng Q, Wu R, *et al.* Study on extraction technology and antioxidant activity of fructus ligustris polysaccharide *in vitro* [J]. Agricultural product processing (journal), 2012(09): 41-44.
- [5] 邱蓉丽, 李 璘. 女贞子多糖的提取工艺研究[J]. 中成药, 2008, 30(4): 612-614.
- Qiu R, Li L. Study on extraction technology of fructus ligustris polysaccharide[J]. Chinese patent medicine, 2008, 30(4): 612-614.
- [6] 李海花, 等. 产肠毒素大肠杆菌 K88 诱导仔猪炎症反应的分子机制. 中国畜牧兽医, 2017(01): 262-267.
- Li H, *et al.* Molecular mechanism of enterotoxigenic *E.coli* K88 inducing inflammatory response in piglets[J]. Chinese animal husbandry and veterinary medicine, 2017(01): 262-267.
- [7] 邢 帅, 朱 琪, 梁东梅, 等. 丁酸梭菌缓解仔猪应激防御大肠杆菌病[J]. 中国饲料, 2018(07): 54-58.
- Xing S, Zhu Q, Liang D, *et al.* Clostridium butyrate alleviates stress - resistant escherichia coli in piglets[J]. China Feed, 2018(07): 54-58.
- [8] Lv Y, Li X, Zhang L, *et al.* Injury and mechanism of recombinant *E.coli* expressing STa on piglets colon[J]. J Vet Med Sci, 2018, 80(2): 205-212.
- [9] 刘梦杰, 王 飞, 张 燕, 等. 黄芩多糖的体内抗氧化活性[J]. 中国食品学报, 2016, 16(07): 52-58.
- Liu M, Wang F, Zhang Y, *et al.* Antioxidant activity of scutellaria baicalensis polysaccharides *in vivo*[J]. Chinese food journal, 2016, 16(07): 52-58.
- [10] Jin W, Peng J, Jiang S. The epigenetic regulation of embryonic myogenesis and adult muscle regeneration by histone methylation modification[J]. BiochemBiophys Rep, 2016, 6: 209-219.
- [11] 王 雪, 余 沛, 王 怡, 等. ATRA 通过 ERK/MAPK 通路调控 AS 兔心脏 MLCK 的表达[J]. 安徽医科大学学报, 2018(10): 1494-1499.
- Wang X, Yu P, Wang Y, *et al.* ATRA regulates the expression of MLCK in the heart of AS rabbits through the ERK/MAPK pathway[J]. Acta Universitatis Medicinalis Anhui, 2018(10): 1494-1499.
- [12] 王耀岐, 李 军, 曹 红, 等. ERK 和 JNK 通路在沙土鼠脑缺血预处理中的表达及作用[J]. 中国药理学通报, 2006(03): 337-340.
- Wang Y, Li J, Cao H, *et al.* Expression and role of ERK and JNK pathways in cerebral ischemic preconditioning in sand rats [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2006(03): 337-340.
- [13] Hung C C, *et al.*, Protection of renal epithelial cells against oxidative injury by endoplasmic reticulum stress preconditioning is mediated by ERK1/2 activation[J]. J Biol Chem, 2003. 278(31): 29317-29326.

(编辑:陈 希)