

## 肉苁蓉多糖抑制NLRP3炎性小体活化改善肠道衰老

徐笑松<sup>1</sup>, 杜丽鹏<sup>1</sup>, 罗紫悦<sup>2</sup>, 周平平<sup>1</sup>, 张海强<sup>1</sup>, 常丽萍<sup>3</sup>, 张世雄<sup>1\*</sup>

(1. 河北省中医院, 石家庄 050011; 2. 河北中医药大学研究生学院, 石家庄 050200;  
3. 络病理论创新转化全国重点实验室, 石家庄 050035)

**[摘要]** 目的:探究肉苁蓉多糖改善肠道衰老的作用及机制。方法:将40只20月龄C57BL/6J小鼠随机分为自然衰老组、肉苁蓉多糖低剂量组(2.5 g·kg<sup>-1</sup>)、肉苁蓉多糖高剂量组(5.0 g·kg<sup>-1</sup>)、β-烟酰胺单核苷酸(NMN)组(200 mg·kg<sup>-1</sup>),另设10只2月龄C57BL/6J小鼠作为年轻对照组。连续灌胃给药2个月,年轻对照组与自然衰老组给予等体积生理盐水(10 mL·kg<sup>-1</sup>)。β-半乳糖苷酶(SA-β-gal)染色评估肠道衰老水平;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测回肠组织趋化因子(C-X-C基序)配体1(CXCL-1)、白细胞介素-6(IL-6)、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、核转录因子-κB(NF-κB)、p16及肿瘤坏死因子-α(TNF-α)等衰老相关分泌表型(SASP)表达水平;免疫荧光染色技术检测肠道屏障闭锁小带蛋白-1(ZO-1)表达水平;免疫组化技术检测增殖标志物细胞核增殖抗原(Ki67)及干细胞标志物富含亮氨酸重复序列的G蛋白偶联受体5(Lgr5)水平;酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清脂多糖(LPS)含量;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测炎性小体蛋白NOD样受体蛋白3(NLRP3)、胱天蛋白酶-1(Caspase-1)、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)表达水平;Real-time PCR检测下游炎症因子白细胞介素-1β(IL-1β)、白细胞介素-18(IL-18) mRNA水平。结果:与年轻对照组比较,自然衰老组SA-β-gal阳性细胞增加,SASP相关基因表达明显上调( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),ZO-1蛋白显著下降( $P<0.01$ ),Ki67、Lgr5表达显著降低( $P<0.01$ ),LPS及NLRP3、Caspase-1、ASC炎性小体蛋白显著升高( $P<0.01$ )。与自然衰老组比较,肉苁蓉多糖组上述衰老相关指标均显著改善,包括SA-β-gal阳性细胞减少,SASP基因表达明显下调( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),ZO-1及Ki67、Lgr5水平显著升高( $P<0.01$ ),并显著抑制NLRP3炎性小体活化及LPS释放( $P<0.01$ )。结论:肉苁蓉多糖通过降低LPS水平、抑制NLRP3炎性小体激活,下调SASP表达,促进肠道细胞增殖与干细胞功能,修复肠道屏障,从而改善自然衰老小鼠的肠道衰老。

**[关键词]** 肠道衰老; 炎症; NOD样受体蛋白3(NLRP3)炎性小体; 肉苁蓉多糖; 中医药

**[中图分类号]** R277;R285;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)15-0163-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20252137

**[网络出版地址]** <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.r.20251111.1556.008>

**[网络出版日期]** 2025-11-12 09:13:52 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>



## Cistanches Herba Polysaccharides Inhibit NLRP3 Inflammasome Activation to Improve Intestinal Aging

XU Xiaosong<sup>1</sup>, DU Lipeng<sup>1</sup>, LUO Ziyue<sup>2</sup>, ZHOU Pingping<sup>1</sup>, ZHANG Haiqiang<sup>1</sup>,  
CHANG Liping<sup>3</sup>, ZHANG Shixiong<sup>1\*</sup>

(1. Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China;  
2. Graduate School of Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China;  
3. State Key Laboratory for Innovation and Transformation of Collateral Disease Theory,  
Shijiazhuang 050035, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effects and mechanisms of Cistanches Herba polysaccharides (CHPs) on ameliorating intestinal aging. **Methods:** Forty 20-month-old C57BL/6J mice were randomly assigned to the natural aging group,

**[收稿日期]** 2025-09-04

**[基金项目]** 河北省自然科学基金青年项目(H2025423083);河北省中医药管理局课题(2024012,2026240);河北省医学科学研究课题计划项目(20250859);国家自然科学基金青年基金项目(82505511)

**[第一作者]** 徐笑松, 硕士, 工程师, 从事药物药理学与毒理学研究, [chengchuanyuanhang@163.com](mailto:chengchuanyuanhang@163.com)

**[通信作者]** \* 张世雄, 博士, 主治医师, 从事中医药防治衰老研究, [zhangshixiong1230@126.com](mailto:zhangshixiong1230@126.com)

low-dose CHPs group ( $2.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), high-dose CHPs group ( $5.0 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), and  $\beta$ -nicotinamide mononucleotide (NMN) group ( $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). Another 10 2-month-old C57BL/6J mice served as the young control group. All groups received intragastric administration for two months, with the young control and natural aging groups receiving an equal volume of saline ( $10 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). Senescence-associated  $\beta$ -galactosidase (SA- $\beta$ -gal) staining was used to assess intestinal senescence. Real-time quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR) detected the mRNA levels of senescence-associated secretory phenotype (SASP) factors, including chemokine (C-X-C motif) ligand 1 (CXCL-1), interleukin-6 (IL-6), matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B), p16, and tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) in ileal tissue. Immunofluorescence staining assessed the expression of the tight junction protein Zonula Occludens-1 (ZO-1). Immunohistochemistry evaluated the levels of the proliferation marker Ki67 and the stem cell marker Leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5 (Lgr5). Serum lipopolysaccharide (LPS) content was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Western blot analyzed the protein levels of inflammasome components NOD-like receptor protein 3 (NLRP3), Caspase-1, and apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain (ASC). Real-time PCR was performed to determine the mRNA levels of downstream inflammatory cytokines IL-1 $\beta$  and IL-18. **Results:** Compared with the young control group, the natural aging group showed increased SA- $\beta$ -gal-positive cells, upregulation of SASP-related genes ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), decreased ZO-1 protein ( $P<0.01$ ), reduced Ki67 and Lgr5 expression ( $P<0.01$ ), and elevated levels of LPS ( $P<0.01$ ), NLRP3, Caspase-1, and ASC proteins. Compared with the natural aging group, CHPs treatment significantly ameliorated these aging-related indicators, including reduced SA- $\beta$ -gal-positive cells, downregulated SASP gene expression ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), increased ZO-1, Ki67, and Lgr5 levels ( $P<0.01$ ), and suppressed NLRP3 inflammasome activation and LPS release ( $P<0.01$ ). **Conclusion:** CHPs ameliorate intestinal aging in naturally aged mice by reducing LPS levels, inhibiting NLRP3 inflammasome activation, downregulating SASP expression, promoting intestinal cell proliferation and stem cell function, and repairing the intestinal barrier.

**[Keywords]** intestinal aging; inflammation; NOD-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome; cistanche polysaccharides; traditional Chinese medicine

衰老可导致身体各项机能逐渐衰退,并增加年龄相关疾病的风险<sup>[1]</sup>。研究表明,衰老对肠道结构和功能影响显著<sup>[2]</sup>。肠道作为人体消化、代谢和免疫防御的核心器官,其衰老会导致营养吸收障碍、代谢紊乱和免疫功能下降<sup>[3-4]</sup>,并增加消化系统疾病易感性<sup>[5]</sup>。慢性炎症是肠道衰老的核心特征,但其分子机制尚未完全阐明。目前,具有抗衰老作用的药物主要有 $\beta$ -烟酰胺单核苷酸(NMN)、雷帕霉素、达沙替尼+槲皮素等<sup>[3]</sup>,其中,NMN是体内重要辅酶烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(氧化型)(NAD<sup>+</sup>)的关键前体,多项研究证实NMN能显著延缓自然衰老小鼠肠道衰老进程,是衰老研究领域公认的有效干预剂<sup>[4-5]</sup>。因此,探索肠道衰老相关机制及干预策略具有重要意义。

NOD样受体蛋白3(NLRP3)炎性小体是先天免疫的关键调控者,在衰老相关疾病中起重要作用。其激活需双重信号第一信号:病原体相关分子模式(PAMPs)和损伤相关分子模式(DAMPs)诱导NLRP3和白细胞介素-1 $\beta$ 前体(pro-IL-1 $\beta$ )表达;第二信号(如钾外流、线粒体损伤)触发炎性小体组装,胱天蛋白酶-1(Caspase-1)通过切割pro-IL-1 $\beta$ 和白细胞介素-18前体(pro-IL-18)产成熟IL-1 $\beta$ 和IL-18,从而驱动炎症反应<sup>[6]</sup>。在衰老过程中,肠道内稳态失衡导致脂多糖(LPS)等促炎因子释放,持续激活NLRP3炎性小体,形成慢性低度炎症,进一

步加剧肠道屏障损伤和菌群紊乱,并影响紧密连接蛋白表达,导致肠道通透性增加,加速肠道衰老进程<sup>[7-10]</sup>。

我国传统药食同源名贵中药肉苁蓉(*Cistanche deserticola*)素有“沙漠人参”之称,具有补肾阳,益精血,润肠通便的功效。其活性成分肉苁蓉多糖具有抗衰老、抗氧化及肠道保护作用<sup>[11-12]</sup>。就肠道保护而言,肉苁蓉多糖通过抑制Toll样受体4(TLR4)/核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)信号通路激活从而调节肠道菌群平衡、减少LPS表达,修复肠道屏障功能<sup>[13-14]</sup>。肉苁蓉多糖还可以通过激活腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)/沉默信息调节因子1(SIRT1)信号通路改善线粒体功能,延缓细胞衰老,同时调节脂代谢,减轻肠道上皮细胞损伤<sup>[15]</sup>。

尽管肉苁蓉多糖的肠道保护作用已被揭示,但其是否通过抑制NLRP3炎性小体通路改善肠道衰老尚不明确。本研究旨在探讨肉苁蓉多糖抑制NLRP3炎性小体活化改善肠道衰老的作用机制。

## 1 材料

**1.1 动物** 50只健康雄性C57BL/6J小鼠(2月龄10只,20月龄40只),购自北京斯贝福生物技术有限公司,生产合格证号SCXK(京)2024-0001,饲养于河北省中医院实验动物室屏障环境,饲养条件:温度( $22\pm 2$ ) $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度( $50\pm 10$ )%、12 h/12 h明暗交替。所有小鼠适应性饲养1周。

**1.2 伦理** 本研究已通过河北省中医院实验动物福利与伦理委员会批准(批准号 IACUC-HPHCM-2025001)。

**1.3 试剂** NMN(中国 Bontac 生物工程公司,货号 BT05N120A005); $\beta$ -半乳糖苷酶(SA- $\beta$ -gal)染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,货号 250003003);小鼠 LPS 酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(武汉华美生物工程有限公司,货号 CSB-E13066m);TransZol Up Plus RNA 试剂盒(北京全式金生物技术有限公司,货号 ER501-01-V2);MonAmp™ ChemoHS qPCR Mix[莫纳(苏州)生物科技有限公司,货号 MQ00501S];富含亮氨酸重复序列的 G 蛋白偶联受体 5(Lgr5)多克隆抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,货号 30007-1-AP);闭锁小带蛋白-1(ZO-1)单克隆抗体、NLRP3 单克隆抗体、Caspase-1 单克隆抗体、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)单克隆抗体、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)单克隆抗体、细胞核增殖抗原(Ki67)单克隆抗体、辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔免疫球蛋白 G(IgG)二抗、羊抗鼠 IgG 二抗(英国 Abcam 公司,货号分别为 ab307799、ab263899、ab179515、ab309497、ab8245、ab15580、ab6721、ab205719)。

**1.4 仪器** CryoStar NX50 型冰冻切片机、7500 型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪(美国 Thermo Fisher 公司);AX 型激光扫描共聚焦显微镜(日本 Nikon 公司);Tecan Spark 型多功能酶标仪(瑞士 Tecan 公司);BG-verMINI 垂直电泳装置(北京百晶生物技术有限公司);VE-386 型转移电泳槽(北京原平皓生物技术有限公司)。

## 2 方法

**2.1 肉苁蓉多糖制备** 取肉苁蓉 50 g,加入 8 倍量的水,煎煮法提取 1 h,过滤,收集提取液,再加 8 倍量水,提取 1 次,合并提取液,冷却到室温,加无水乙醇沉淀到终浓度的 80%,5 000 r·min<sup>-1</sup>离心 15 min(离心半径 8.0 cm),弃上清,将沉淀用水溶解,透析,冷冻干燥,得样品。

**2.2 动物分组与给药** 40 只 20 月龄 C57BL/6J 小鼠适应性饲养结束后,随机分为自然衰老组、肉苁蓉多糖低剂量组(2.5 g·kg<sup>-1</sup>)、肉苁蓉多糖高剂量组(5.0 g·kg<sup>-1</sup>)、 $\beta$ -烟酰胺单核苷酸组(200 mg·kg<sup>-1</sup>),同时以 10 只 2 月龄 SPF 级 C57BL/6J 小鼠为年轻对照组。肉苁蓉多糖低、高剂量组分别以 2.5、5.0 g·kg<sup>-1</sup> 剂量口服灌胃(采用体表面积折算法,按照人与小鼠剂量换算系数 12<sup>[16]</sup>,折算小鼠的临床等效剂量,肉苁

蓉多糖低、高剂量分别相当于成人剂量的 1、2 倍), $\beta$ -烟酰胺单核苷酸组口服灌胃给予  $\beta$ -烟酰胺单核苷酸(200 mg·kg<sup>-1</sup>),年轻对照组和自然衰老组灌胃等体积生理盐水(10 mL·kg<sup>-1</sup>),连续给予 2 个月。

**2.3 冰冻切片制作** 腹腔注射戊巴比妥钠(30 mg·kg<sup>-1</sup>),将小鼠麻醉并实施安乐死。迅速打开小鼠腹腔,分离肠系膜,取出回肠组织,制作 5  $\mu$ m 冰冻切片<sup>[17]</sup>。

**2.4 SA- $\beta$ -gal 法检测肠道  $\beta$ -半乳糖苷酶活性** 根据 SA- $\beta$ -gal 染色试剂盒说明书进行染色,孵育结束后,吸除染色液并使用磷酸盐缓冲液(PBS)清洗切片。利用倒置显微镜观察并收集图像。

**2.5 Real-time PCR 检测衰老相关分泌表型(SASP)** 采用 TransZol Up Plus RNA 试剂盒提取回肠组织中的总 RNA,并利用 GoScript™ 反转录系统完成反转录。反应条件为 42 °C 15 min, 70 °C 15 min, 4 °C 10 min。随后,通过 MonAmp™ ChemoHS qPCR Mix 试剂盒进行 Real-time PCR 分析,反应条件为 95 °C 10 min, 95 °C 15 s, 60 °C 1 min,共 40 个循环。溶解曲线为 95 °C 15 s, 60 °C 15 s, 95 °C 15 s,以 GAPDH 为内参,使用 2<sup>- $\Delta\Delta$ C<sub>t</sub></sup> 方法定量,引物购自石家庄昱昇生物技术有限公司(美国 Promega 公司)。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
p16	上游 GGCTCTGCTCTTGGGATTGG	147
	下游 ATCGTGCATATTTCGTTCC	
TNF- $\alpha$	上游 CCCTCACACTCAGATCATCTTCT	61
	下游 GCTACGACGTGGGCTACAG	
NF- $\kappa$ B	上游 AGTGTGGAGGCTGCCTTGCGAATG	180
	下游 TGGGCTTTCAAGACTGGAACGGTC	
IL-6	上游 CTTCTTGGGACTGATGCTGGTGAC	94
	下游 AGGTCTGTTGGGAGTGGTATCCTC	
MMP-2	上游 CCATGTGTCTTCCC	122
	下游 CCCCCTTCCGGT	
IL-1 $\beta$	上游 TCGCAGCAGCACATCAACAAGAG	97
	下游 AGGTCCACGGGAAAAGACACAGG	
IL-18	上游 AGCTTGTGAAAAGAGAGACCT	101
	下游 GCTAGTCTTCGTTTTGAACAGTGA	
GAPDH	上游 TGGATTTGGACGCATTGGTC	21
	下游 TTTGCACTGGTACGTGTTGAT	

**2.6 免疫荧光染色法检测 ZO-1 表达** 将回肠组织固定在 4% 多聚甲醛中,制作 5  $\mu$ m 石蜡切片。切片

经0.3%Triton X-100透化15 min,10%山羊血清室温封闭1 h。加入ZO-1一抗(1:200)4 °C孵育过夜,PBS漂洗后孵育Cy3标记二抗(1:500)室温避光1 h,4,6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)染核5 min。抗荧光淬灭剂封片,共聚焦显微镜采集图像。荧光强度通过Image Pro软件计算。

**2.7 免疫组化染色法检测Ki67和Lgr5表达** 根据免疫组化染色试剂盒说明书,将小鼠回肠切片与一抗Ki67(1:1 000)和Lgr5(1:200)在4 °C下孵育过夜,次日用相应的二抗孵育,3,3'-二氨基联苯胺(DAB)溶液显色,光学显微镜下观察结果。平均光密度通过Image Pro软件计算。

**2.8 ELISA检测LPS水平** 向反应孔中加入标准品及待测样本,每孔100 μL,于室温下孵育1.5 h。随后,向各孔中添加辣根过氧化物酶(HRP)标记的链霉亲和素溶液,每孔100 μL,继续孵育30 min。之后,在避光条件下加入显色剂,反应30 min。加入终止液,在450 nm波长处测定各孔吸光度A。

**2.9 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测NLRP3、Caspase-1、ASC蛋白水平** 取小鼠回肠组织30 mg于液氮中研磨,加入含蛋白酶/磷酸酶抑制剂的放射免疫沉淀分析裂解液(RIPA),冰上裂解30 min,4 °C、12 000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min(离心半径8.0 cm)

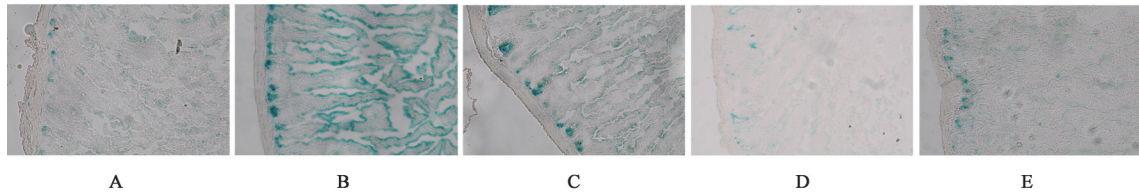
取上清。聚氰基丙烯酸正丁酯(BCA)法测定蛋白浓度,调整至2 g·L<sup>-1</sup>。取等量蛋白(20~40 μg)经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳后湿转至聚偏氟乙烯(PVDF)膜。5%脱脂牛奶室温封闭1 h,分别孵育一抗[NLRP3(1:1 000)、Caspase-1(1:500)、ASC(1:1 000)、GAPDH(1:1 000),4 °C过夜]及HRP标记二抗(1:5 000,室温1 h)。快速封闭液速溶缓冲液(TBST)洗膜后显影并拍照,Image-pro Plus 6.0软件测定目的蛋白灰度值,所得结果均以GAPDH条带为参照进行归一化处理,使用Image J软件进行数据分析。

**2.10 统计分析** 统计分析与图表绘制分别借助SPSS 26.0软件及GraphPad Prism 8.0.2软件完成,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析(One-way ANOVA)评估组间差异,并以图基(Tukey)检验作为事后多重比较方法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

### 3 结果

#### 3.1 肉苁蓉多糖对肠道SA-β-gal活性的影响

SA-β-gal染色结果表明,与年轻对照组比较,自然衰老组小鼠回肠组织中SA-β-gal阳性细胞水平明显升高;与自然衰老组比较,肉苁蓉多糖低剂量、高剂量组SA-β-gal阳性表达明显减少。上述结果表明,肉苁蓉多糖具有拮抗回肠组织衰老的作用。见图1。



注:A.年轻对照组;B.自然衰老组;C.肉苁蓉多糖低剂量组;D.肉苁蓉多糖高剂量组;E.β-烟酰胺核苷酸组(图2-图4同)

图1 肉苁蓉多糖(CHPs)对肠道SA-β-gal活性的影响(SA-β-gal染色,×200)

Fig. 1 Impact of Cistanches Herba polysaccharides (CHPs) on Activity of intestinal SA-β-gal (SA-β-gal staining, ×200)

**3.2 肉苁蓉多糖对SASP的影响** 与年轻对照组比较,自然衰老组CXCL-1、IL-6、MMP-2、NF-κB、p16及TNF-α mRNA表达水平明显升高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。与自然衰老组动物比较,肉苁蓉多糖

低、高剂量组上述SASP标志物mRNA表达水平均有不同程度降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。上述结果表明,肉苁蓉多糖抑制了SASP因子分泌。见表2。

表2 CHPs对衰老小鼠结肠组织SASP mRNA的影响( $\bar{x} \pm s$ , n=10)

Table 2 Effect of CHPs on SASP mRNA in colon tissue of aging mice ( $\bar{x} \pm s$ , n=10)

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	CXCL-1	IL-6	MMP-2	NF-κB	p16	TNF-α
年轻对照组		1.00±0.09	1.02±0.22	1.01±0.19	1.15±0.73	1.10±0.56	1.01±0.19
自然衰老组		3.18±0.79 <sup>2)</sup>	4.08±0.34 <sup>1)</sup>	4.73±0.79 <sup>2)</sup>	7.51±1.39 <sup>2)</sup>	6.33±0.42 <sup>2)</sup>	4.32±0.44 <sup>2)</sup>
肉苁蓉多糖低剂量组	2.5	2.24±0.67	2.48±0.37 <sup>3)</sup>	2.47±0.63 <sup>4)</sup>	2.69±0.58 <sup>3)</sup>	1.69±0.26 <sup>4)</sup>	3.57±0.11 <sup>4)</sup>
肉苁蓉多糖高剂量组	5.0	1.39±0.12 <sup>1)</sup>	1.38±0.13 <sup>3)</sup>	1.17±0.48 <sup>4)</sup>	2.09±0.83 <sup>4)</sup>	1.26±0.42 <sup>4)</sup>	1.37±0.30 <sup>4)</sup>
β-烟酰胺核苷酸组	0.2	2.21±0.06	2.27±0.59 <sup>3)</sup>	2.05±0.29 <sup>4)</sup>	3.77±0.87 <sup>3)</sup>	2.66±0.18 <sup>4)</sup>	2.16±0.64 <sup>4)</sup>

注:与年轻对照组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ ;与自然衰老组比较<sup>3)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>4)</sup> $P < 0.01$ (表3-表5同)

**3.3 肉苁蓉多糖对小鼠肠道屏障功能的影响** 与年轻对照组比较,自然衰老组回肠组织中ZO-1蛋白表达水平降低,提示肠道屏障功能显著下降( $P < 0.01$ );与自然衰老组比较,肉苁蓉多糖低、高剂量组ZO-1蛋白表达水平显著升高( $P < 0.01$ ),提示肉苁蓉多糖对肠道屏障功能具有保护作用。见图2、表3。

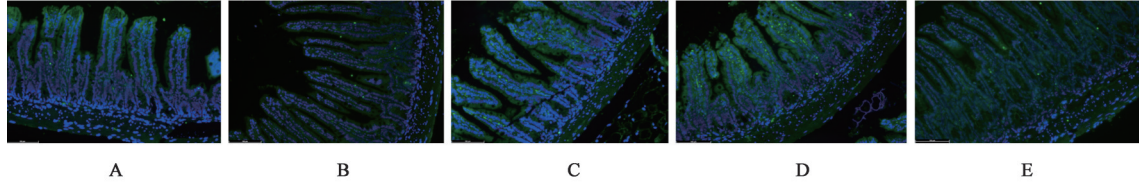


图2 肉苁蓉多糖对肠道屏障功能的影响(免疫荧光,×200)  
Fig. 2 Impact of CHPs on Intestinal Barrier Function (IF, ×200)

表3 肉苁蓉多糖对肠道屏障功能及肠细胞增殖分化的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 3 Impact of CHPs on intestinal barrier function and cell proliferation and differentiation ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	ZO-1	Ki67	Lgr5
年轻对照组		429.00±7.43	0.400±0.008	0.250±0.005
自然衰老组		165.63±33.22 <sup>2)</sup>	0.250±0.002 <sup>2)</sup>	0.220±0.002 <sup>2)</sup>
肉苁蓉多糖低剂量组	2.5	418.71±30.56 <sup>4)</sup>	0.280±0.005 <sup>4)</sup>	0.240±0.004 <sup>4)</sup>
肉苁蓉多糖高剂量组	5.0	401.75±31.24 <sup>4)</sup>	0.310±0.011 <sup>4)</sup>	0.260±0.003 <sup>4)</sup>
β-烟酰胺单核苷酸组	0.2	344.94±21.55 <sup>4)</sup>	0.300±0.001 <sup>4)</sup>	0.250±0.002 <sup>4)</sup>

**3.4 肉苁蓉多糖对小鼠肠细胞增殖分化的影响** 与年轻对照组比较,自然衰老组肠道细胞增殖显著减少,Ki67表达显著降低;ISC标志物Lgr5水平显著下调( $P < 0.01$ )。与自然衰老组比较,肉苁蓉多

糖低剂量、高剂量组肠道细胞增殖水平得到显著改善,且ISC标志物Lgr5水平趋于正常( $P < 0.01$ )。这些结果表明,肉苁蓉多糖可能参与了肠道细胞增殖和分化过程。见图3、表3。

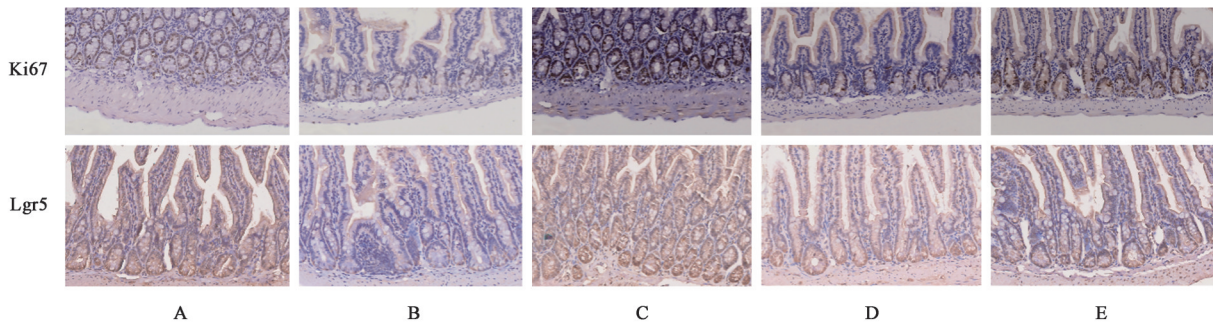


图3 CHPs对肠细胞增殖分化的影响(免疫组化,×200)  
Fig. 3 Impact of CHPs on intestinal cell proliferation and differentiation (IHC, ×200)

**3.5 肉苁蓉多糖对炎症小体介导炎症反应的影响** 与年轻对照组比较,自然衰老组LPS水平显著升高( $P < 0.01$ );与自然衰老组比较,肉苁蓉多糖低、高剂量组LPS水平显著下降( $P < 0.01$ )。与年轻对照组比较,自然衰老组NLRP3炎症小体相关蛋白NLRP3、ASC和Caspase-1的表达水平上调;与自然衰老组比较,肉苁蓉多糖低、高剂量组蛋白水平下调,见图4、表4。Real-time PCR结果进一步证实,与年轻对照组比较,自然衰老组细胞焦亡炎症因子IL-18、IL-1β水平显著上调( $P < 0.01$ );与自然衰老组比较,肉苁蓉多糖低、高剂量组明显下调IL-18、

IL-1β水平( $P < 0.05, P < 0.01$ ),见表5。

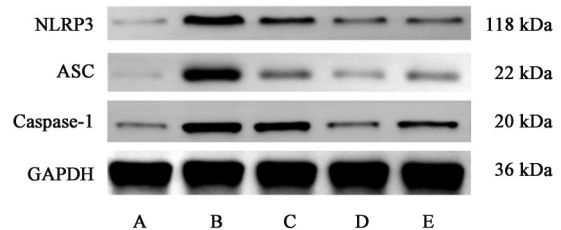


图4 各组小鼠回肠组织中NLRP3、ASC和Caspase-1蛋白表达电泳  
Fig. 4 Electrophoresis of protein expressions of NLRP3, ASC and Caspase-1 in ileal tissues of each group of mice

4 讨论

中医肾虚衰老说认为肾为人之根本,“肾气盛

表4 CHPs对衰老小鼠回肠组织中NLRP3、ASC和Caspase-1蛋白表达的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 4 Effect of CHPs on protein expression of NLRP3, ASC, and Caspase-1 in ileum tissue of aging mice ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	NLRP3 /GAPDH	ASC /GAPDH	Caspase-1 /GAPDH
年轻对照组		0.10±0.01	0.26±0.02	0.23±0.01
自然衰老组		1.05±0.04 <sup>2)</sup>	1.11±0.04 <sup>2)</sup>	1.06±0.04 <sup>2)</sup>
肉苁蓉多糖低剂量组	2.5	0.60±0.02 <sup>4)</sup>	0.39±0.02 <sup>4)</sup>	0.86±0.03 <sup>4)</sup>
肉苁蓉多糖高剂量组	5.0	0.27±0.01 <sup>4)</sup>	0.18±0.02 <sup>4)</sup>	0.26±0.01 <sup>4)</sup>
β-烟酰胺单核苷酸组	0.2	0.31±0.01 <sup>4)</sup>	0.20±0.02 <sup>4)</sup>	0.54±0.01 <sup>4)</sup>

表5 CHPs对衰老小鼠血清LPS和回肠IL-18、IL-1β mRNA表达的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 5 Effect of CHPs on serum LPS and expression of IL-18 and IL-1β mRNA in ileum of aging mice ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	LPS	IL-18	IL-1β
年轻对照组		1.38±0.32	1.01±0.16	1.37±1.34
自然衰老组		6.26±0.73 <sup>2)</sup>	5.53±0.23 <sup>2)</sup>	9.90±0.43 <sup>2)</sup>
肉苁蓉多糖低剂量组	2.5	3.23±0.58 <sup>4)</sup>	2.04±1.49 <sup>4)</sup>	4.57±3.76 <sup>3)</sup>
肉苁蓉多糖高剂量组	5.0	1.82±0.35 <sup>4)</sup>	1.76±0.55 <sup>4)</sup>	3.32±1.36 <sup>3)</sup>
β-烟酰胺单核苷酸组	0.2	3.63±1.33 <sup>4)</sup>	3.67±1.48	4.84±3.18

则寿延,肾气衰则寿夭”(虞抟《医学正传》)。早在20世纪80年代陈可冀院士就作出补肾法延缓衰老的展望<sup>[18]</sup>。沈自尹院士更是针对肾阳与衰老之间的关系展开深入研究<sup>[19]</sup>,肾阳亏虚是衰老的关键环节。衰老实质上是在外界各种因素作用下,随着时间推移肾阳不足以温煦五脏六腑所致<sup>[20]</sup>,肠道衰老也不例外。肾与小肠同居下焦,肠道受盛、化物的功能有赖于肾阳的温煦蒸化。而“肾气怯,真元衰劣,自是不能消化饮食”(许叔微《普济本事方·二神丸》)。当肾阳不足时,推动无力,温煦不足,不能推动脾阳,脾失健运,水谷精微的生成减少,进而影响后天之精,造成输布和排泄障碍而产生痰、湿、浊、瘀等病理产物,导致肠道衰老进展。因此,肾阳亏虚是肠道衰老的重要病机,为补肾温阳药干预肠道衰老提供理论依据。

肉苁蓉是补肾温阳的关键药物,契合肠道衰老的核心病机。据《神农本草经》记载,肉苁蓉位列“上品”,功效以补益见长,被誉为“沙漠人参”,由此奠定其抗衰之功效<sup>[21]</sup>。多糖是一类由10个以上单糖以糖苷键连接构成的高分子聚合物<sup>[22]</sup>。近年来,天然多糖研究取得突破性进展,包括抗衰老在内的10余种药理作用备受关注<sup>[23]</sup>。肉苁蓉多糖是肉苁

蓉的主要活性成分<sup>[21]</sup>。既往研究表明,肉苁蓉多糖可调节肠道菌群紊乱、改善肠道黏膜屏障稳态、逆转衰老导致的肠绒毛缩短<sup>[11]</sup>。但其系统改善肠道衰老的作用及机制尚待进一步研究。

本研究采用肉苁蓉提取物肉苁蓉多糖,结合自然衰老小鼠模型,验证肉苁蓉多糖干预后SA-β-gal水平、肠道屏障标志蛋白,以及NLRP3炎性小体活化水平,证实其有效改善肠道衰老的作用及机制。SA-β-gal是溶酶体内的水解酶。伴随细胞衰老,溶酶体的生物合成和运转功能发生障碍,导致SA-β-gal的含量和活性水平升高<sup>[24-25]</sup>。肉苁蓉多糖显著降低小鼠回肠中SA-β-gal阳性表达,有效缓解回肠衰老进程。进一步从基因表达层面分析,肉苁蓉多糖下调p16、TNF-α、NF-κB等SASP核心因子,提示其通过调控SASP减轻慢性炎症微环境<sup>[26-27]</sup>,这与既往多糖类物质调节免疫代谢的效应<sup>[28-30]</sup>一致。肠道屏障完整性是维持内环境稳态的关键。本研究中,肉苁蓉多糖上调紧密连接蛋白ZO-1,与既往通过改善肠道通透性缓解衰老的研究结果一致<sup>[31-33]</sup>。其作用机制与LPS水平下降,从而抑制NLRP3炎性小体激活有关<sup>[34-35]</sup>。这一“屏障修复-炎症抑制”的正反馈机制,为肠道衰老干预提供了双重靶点。值得注意的是,肉苁蓉多糖不仅调控衰老相关通路,还显著促进肠道干细胞功能。Ki67与Lgr5阳性细胞增加,表明肉苁蓉多糖激活肠干细胞增殖分化程序<sup>[36-37]</sup>,这可能与抑制NLRP3介导的IL-1β/IL-18释放<sup>[38-39]</sup>,缓解炎症微环境对干细胞功能的损伤有关。相较于靶向NLRP3的小分子抑制剂<sup>[40]</sup>,肉苁蓉多糖的优势在于多维度干预:既可通过降低LPS水平阻断炎性小体上游激活信号,又能促进ZO-1表达增强屏障功能,同时调节SASP与干细胞活性。较单一靶点抑制剂更具整体调控优势。此外,本研究创新性地将NLRP3炎性小体活化与肠道干细胞耗竭联系起来,提出“炎症-衰老-再生失衡”的新病理轴,为衰老相关肠道疾病提供了潜在干预靶点。见增强出版附加材料。

本研究揭示了中医“肾阳亏虚”与肠道衰老现代病理特征的内在联系。肠道衰老的核心病机为肾阳亏虚。肾阳失于温煦,则肠腑气化无权,传导失司,津液不布,久则导致肠络失养、腑气壅滞,其微观实质与肠道屏障功能障碍、慢性低度炎症及菌群失调等衰老表型高度契合。在机制层面,肾阳虚衰所致“阴寒内凝”可视为激活NLRP3炎性小体、触发级联炎症反应的关键始动环节;在靶点层面,本

研究发现 NLRP3/Caspase-1/ASC 信号通路是连接“阳衰”与“肠损”的核心分子枢纽,促进炎症因子释放与肠道屏障功能破坏,共同加剧肠道衰老。而 CHPs 作为温补肾阳法的代表性活性成分,通过有效抑制 NLRP3 炎性小体的活化,阻断 Caspase-1 剪切及 ASC 成熟,从而扭转“阳虚致衰”的病理过程,为从温补肾阳角度防治肠道衰老提供科学依据。

综上,本研究揭示了肉苁蓉多糖通过抑制 NLRP3 炎性小体活化改善肠道衰老的作用及机制,不仅为肉苁蓉药效物质基础研究提供新证据,更为多靶点抗衰老策略开发提供了理论依据。但本研究仍存在局限性:其一,肉苁蓉多糖抑制 NLRP3 的具体分子靶点,是直接结合 NLRP3 还是调控上游模式识别受体尚未明确;其二,肉苁蓉多糖是否通过肠道菌群-代谢物轴间接调控 NLRP3 需进一步验证。未来可结合单细胞测序与菌群移植技术,深入解析 CHPs 的跨器官调控网络,推动其临床转化应用。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] GAVRILOV L A, GAVRILOVA N S. Is aging a disease? Biodemographers' point of view[J]. *Adv Gerontol*, 2017, 30(6):841-842.
- [2] ZHANG X, ZHANG F, LI Y, et al. Blockade of PI3K/Akt signaling pathway by astragaloside IV attenuates ulcerative colitis via improving the intestinal epithelial barrier[J]. *J Transl Med*, 2024, 22(1):406.
- [3] RYBINA O Y, SYMONENKO A V, PASYUKOVA E G. Compound combinations targeting longevity: Challenges and perspectives[J]. *Ageing Res Rev*, 2023, 85:101851.
- [4] LIAO G, XIE Y, PENG H, et al. Advancements in NMN biotherapy and research updates in the field of digestive system diseases[J]. *J Transl Med*, 2024, 22(1):805.
- [5] NADEESHANI H, LI J, YING T, et al. Nicotinamide mononucleotide (NMN) as an anti-aging health product-promises and safety concerns[J]. *J Adv Res*, 2022, 37:267-278.
- [6] 刘峰,庄万欣,杨媛,等. NLRP3 炎症小体激活的调控机制研究进展[J]. *生物医学转化*, 2024, 5(2):2-11.
- LIU F, ZHUANG W X, YANG Y, et al. Research advances in the regulatory mechanisms of NLRP3 inflammasome activation[J]. *Biomed Transform*, 2024, 5(2):2-11.
- [7] LIU Y, XU X, LEI W, et al. The NLRP3 inflammasome in fibrosis and aging: The known unknowns[J]. *Ageing Res Rev*, 2022, 79:101638.
- [8] CHEN H, ZHANG X, LIAO N, et al. Identification of NLRP3 inflammation-related gene promoter hypomethylation in diabetic retinopathy[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2020, 61(13):12.
- [9] ZHU H, ZHANG L, XIAO F, et al. Melatonin-driven NLRP3 inflammation inhibition via regulation of NF- $\kappa$ B nucleocytoplasmic transport: Implications for postoperative cognitive dysfunction[J]. *Inflammation*, 2023, 46(4):1471-1492.
- [10] HAN X, SUN S, SUN Y, et al. Small molecule-driven NLRP3 inflammation inhibition via interplay between ubiquitination and autophagy: Implications for Parkinson disease[J]. *Autophagy*, 2019, 15(11):1860-1881.
- [11] XUE T, ZHENG D, WEN L, et al. Advance in *Cistanche deserticola* Y. C. Ma. polysaccharides: Isolation, structural characterization, bioactivities and application: A review[J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 278(Pt 2):134786.
- [12] CHENG N, WANG H, HAO H, et al. Research progress on polysaccharide components of *Cistanche deserticola* as potential pharmaceutical agents[J]. *Eur J Med Chem*, 2023, 245(Pt 1):114892.
- [13] 罗欣杰,杨建华,胡君萍. 肉苁蓉多糖通过影响肠道菌群抑制 Toll 样受体 4/核因子- $\kappa$ B 途径改善小鼠糖尿病肾病[J]. *食品科学*, 2024, 45(21):185-193.
- LUO X J, YANG J H, HU J P. *Cistanche deserticola* polysaccharide attenuates diabetic nephropathy in mice by affecting the intestinal flora and inhibiting the Toll-like receptor 4/nuclear factor- $\kappa$ B signaling pathway[J]. *Food Sci*, 2024, 45(21):185-193.
- [14] 张春生,李冰,王鲁豫,等. 肉苁蓉多糖通过改善肠道菌群稳态产生抗衰老作用的研究[J]. *中华中医药学刊*, 2025, 43(3):92-95.
- ZHANG C S, LI B, WANG L Y, et al. Study on anti-aging effect of *Cistanche deserticola* polysaccharide by improving homeostasis of intestinal flora[J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2025, 43(3):92-95.
- [15] 侯悦,靳灿,文畅,等. 中药多糖作用机制与靶向性的研究进展[J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2024, 26(5):1142-1161.
- HOU Y, JIN C, WEN C, et al. Research progress on the mechanism of action and targeting of polysaccharides in traditional Chinese medicine[J]. *Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol*, 2024, 26(5):1142-1161.
- [16] NAIR A, MORSY M A, JACOB S. Dose translation between laboratory animals and human in preclinical and clinical phases of drug development[J]. *Drug Dev Res*, 2018, 79(8):373-382.
- [17] 沈钰淇,张娟,李璐,等. 番茄红素通过成纤维细胞生长因子 21/线粒体动力介导改善 D-半乳糖诱导的 CD-1 雌性小鼠肝脏衰老[J]. *卫生研究*, 2025, 54(2):265-272.
- SHEN Y Q, ZHANG J, LI L, et al. Lycopene ameliorates D-galactose-induced hepatic senescence in CD-1 female mice through fibroblast growth factor 21 / mitochondrial dynamics mediation[J]. *J Hyg Res*, 2025, 54(2):265-272.

- [18] 陈可冀,周文泉. 补肾法延缓衰老研究的现状及展望[J]. 上海中医药杂志,1985(6):16-17.  
CHEN K J, ZHOU W Q. The current status and prospects of research on kidney tonifying methods to delay aging [J]. Shanghai J Tradit Chin, 1985(6):16-17.
- [19] 沈自尹,黄建华,林伟,等. 从整体论到系统生物学进行肾虚和衰老的研究[J]. 中国中西医结合杂志,2009,29(6):548-550.  
SHEN Z Y, HUANG J H, LIN W, et al. Transition of studying on shen deficiency syndrome and aging from holistic concept to systematic biologic viewpoint [J]. Chin J Integr Tradit Chin West Med, 2009, 29(6):548-550.
- [20] 集川原,李红蓉,郝佳梦,等. 气络学说精气神理论指导早衰防治及研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2025,31(2):279-285.  
JI C Y, LI H R, HAO J M, et al. Premature aging prevention and treatment guided by essence-Qi-spirit theory of qiluo doctrine: A review [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2025, 31(2):279-285.
- [21] 毕龙成,钟平胜,田义明,等. 荒漠肉苁蓉活性成分的药理作用及质量影响因素[J]. 食品科学,2026,47(2):307-321.  
BI L C, ZHONG P S, TIAN Y M, et al. Pharmacological effects of active components from *Cistanche deserticola* and factors affecting its quality [J]. Food Sci, 2026, 47(2):307-321.
- [22] ATANASOVA A, PETROVA A, TENEVA D, et al. Subcritical water extraction of rosmarinic acid from lemon balm (*Melissa officinalis* L.) and its effect on plant cell wall constituents [J]. Antioxidants (Basel), 2023, 12(4):888.
- [23] LI X, SU Q, XUE J, et al. Mechanisms, structure-activity relationships, and skin applications of natural polysaccharides in anti-aging: A review [J]. Int J Biol Macromol, 2025, 310 (Pt 3):143320.
- [24] MARZULLO M, EL MAI M, FERREIRA M G. Whole-mount senescence-associated beta-galactosidase (SA-beta-GAL) activity detection protocol for adult zebrafish [J]. Bio Protoc, 2022, 12(13):e4457.
- [25] ZHAO Q, HUANG Y, FU N, et al. Podocyte senescence: From molecular mechanisms to therapeutics [J]. Ren Fail, 2024, 46(2):2398712.
- [26] WANG B, HAN J, ELISSEFF J H, et al. The senescence-associated secretory phenotype and its physiological and pathological implications [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2024, 25(12):958-978.
- [27] ALQAHTANI S, ALQAHTANI T, VENKATESAN K, et al. SASP modulation for cellular rejuvenation and tissue homeostasis: Therapeutic strategies and molecular insights [J]. Cells, 2025, 14(8):608.
- [28] CAI Y, LIU S, GE X, et al. Inhibitory effect of tea flower polysaccharides on oxidative stress and microglial oxidative damage in aging mice by regulating gut microbiota [J]. Food Funct, 2024, 15(23):11444-11457.
- [29] WEI J, LI X, LIU W, et al. *Eucommia* polysaccharides ameliorate aging-associated gut dysbiosis: A potential mechanism for life extension in *Drosophila* [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(6):5881.
- [30] 李银妹,林茜,龚乃霞,等. 海藻多糖结构、生物活性和提取技术研究进展[J]. 化学试剂,2025,47(5):56-65.  
LI Y S, LIN Q, GONG N X, et al. Progress of research on the structure, bioactivity and extraction technology of seaweed polysaccharides [J]. Chem Reagents, 2025, 47(5):56-65.
- [31] 杨萍,李蓉,李明鉴,等. 发酵枸杞多糖对D-半乳糖致衰老模型小鼠肠道的保护作用[J]. 食品科学,2024,45(19):77-86.  
YANG P, LI R, LI M J, et al. Protective effects of fermented *Lycium barbarum* polysaccharides on the intestine in D-galactose-induced aging mouse model [J]. Food Sci, 2024, 45(19):77-86.
- [32] 石露露. 黑皮鸡枞菌多糖ORP-1改善肠道粘膜屏障功能的机制研究[D]. 合肥:安徽大学,2021.  
SHI L L. The mechanism of ORP-1 in improving intestinal mucosal barrier function [D]. Hefei: Anhui University, 2021.
- [33] ZHENG H, ZHANG C, WANG Q, et al. The impact of aging on intestinal mucosal immune function and clinical applications [J]. Front Immunol, 2022, 13:1029948.
- [34] LIANG Y, SHEIKH F. Zippering up a role for ZO-1 in atrioventricular node conduction and disease [J]. Circ Res, 2020, 127(2):298-300.
- [35] HAAS A J, KARAKUS M, ZIHNI C, et al. ZO-1 regulates hippo-independent YAP activity and cell proliferation via a GEF-H1- and TBK1-regulated signalling network [J]. Cells, 2024, 13(7):640.
- [36] XIAO X, HU M, GAO L, et al. Low-input redoxomics facilitates global identification of metabolic regulators of oxidative stress in the gut [J]. Signal Transduct Target Ther, 2025, 10(1):8.
- [37] EL MAI M, BIRD M, ALLOUCHE A, et al. Gut-specific telomerase expression counteracts systemic aging in telomerase-deficient zebrafish [J]. Nat Aging, 2023, 3(5):567-584.
- [38] ZHANG S, LI M, CHANG L, et al. Bazi Bushen capsule improves the deterioration of the intestinal barrier function by inhibiting NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis through microbiota-gut-brain axis [J]. Front Microbiol, 2023, 14:1320202.
- [39] LIU W, WANG S, ZHANG X, et al. Enhanced cardiomyocyte NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis promotes D-galactose-induced cardiac aging [J]. J Am Heart Assoc, 2024, 13(14):e032904.
- [40] SUI B, ZHAO J, WANG J, et al. Lyssavirus matrix protein inhibits NLRP3 inflammasome assembly by binding to NLRP3 [J]. Cell Rep, 2024, 43(7):114478.

[责任编辑 孙丛丛]