

基于 ARRB1 探讨亮菌多糖干预 5-FU 诱导的肠黏膜损伤的作用及机制

张泉¹, 赵秦英¹, 叶映泉¹, 刘利¹, 张梅^{1,2}

摘要 目的 探讨 β -抑制蛋白 1 (ARRB1) 对亮菌多糖 (ATPS) 逆转 5-氟尿嘧啶 (5-FU) 诱导的化疗性肠黏膜损伤的影响及机制。方法 ARRB1 基因敲除型 (ARRB1^{-/-}) 和野生型 (WT) C57BL/6J 小鼠各 12 只, 分别随机分成 Control 组、Model 组和 ATPS 组 (200 mg/kg), 连续 7 d 5-FU (50 mg/kg) 腹腔注射建立化疗性肠黏膜损伤模型; 比较各组小鼠体重变化, 肉眼观察肠道组织大体外观; HE 染色评价空肠组织病理损伤; 试剂盒测量血清中超氧化物歧化酶 (SOD) 和二胺氧化酶 (DAO) 的活性; 免疫组织化学检测紧密连接蛋白 (TJ) 标志物 ZO-1、Occludin、Claudin-1 和增殖相关蛋白 Ki-67 的表达情况; 隐窝分离和类器官培养, 检测小肠类器官生长状态。结果 5-FU 化疗减轻小鼠体质量, 加重小肠组织病理损伤, 降低 SOD 水平、TJ 蛋白和 Ki-67 蛋白表达, 升高血清 DAO 水平, 降低球形结构形成率和类器官形成率; 与模型组比较, WT 小鼠 ATPS 处理后体质量恢复, 病理损伤减轻, 血清 SOD 水平、TJ 蛋白和 Ki-67 蛋白表达增加, DAO 水平降低, 球形结构形成率和类器官形成率明显升高; 而 ARRB1^{-/-} 小鼠在 ATPS 治疗后未能逆转 5-FU 的效应。结论 ATPS 通过 ARRB1 的肠道屏障和类器官生长保护作用, 逆转 5-FU 诱导的肠黏膜炎。

关键词 ARRB1; 5-氟尿嘧啶; 化疗性肠黏膜损伤; 紧密连接蛋白; 类器官

中图分类号 R 730

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2023)10-1743-07
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.10.023

胃肠道黏膜炎是化疗患者常见的副作用, 约 40% 的癌症化疗患者会出现这种副作用^[1]。尽管目前在新型癌症治疗方法方面取得了较大进展, 但化疗仍是很多肿瘤治疗中最有效、最常用的方法之一^[2]。5-氟尿嘧啶 (5-fluorouracil, 5-FU) 作为一种重要的抗代谢化疗药物, 是临床抗肿瘤药物的基石, 其

引起的肠黏膜炎发生率更高^[3], 严重影响肿瘤患者抗癌疗效和生活质量。 β -抑制蛋白 1 (β -arrestin1, ARRB1) 是具有多种生物学功能的细胞内支架蛋白, 参与 G 蛋白偶联受体 (G protein-coupled receptor, GPCRs) 脱敏、内化及下游相关信号级联^[4]。ARRB1 还可以由 NF- κ B、MAPK 等非 GPCR 途径驱动^[5]。此外, ARRB1 还与炎症反应、肿瘤发生、细胞增殖密切相关^[5-6]。课题组前期研究^[7]表明, 亮菌多糖 (armillariella tabescens polysaccharides, ATPS) 可以保护肠上皮细胞炎性损伤, 调节 ARRB1 蛋白的表达水平, 并呈现剂量依赖效应。因此, 该研究以此为切入点, 探讨 ARRB1 在 ATPS 防治 5-FU 诱导的肠黏膜损伤中的作用, 以期为化疗药物引起的肠黏膜炎提供新的治疗思路, 为临床实现化疗药物抗肿瘤治疗优化提供选择。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 ARRB1 基因敲除 (ARRB1^{-/-}) 和野生型 (WT) C57BL/6J 小鼠各 12 只, 6~10 周, 购自北京唯尚立德生物科技有限公司, 雌雄不限, SPF 级。饲养环境为室温 22℃, 湿度 50%, 通风环境良好。

1.1.2 主要试剂 ATPS (合肥诚志生物制药有限公司); 5-FU (批号: 2101301, 天津金耀药业有限公司); 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、二胺氧化酶 (diamine oxidase, DAO) 检测试剂盒 (货号: A001-3、A088-1-1, 南京建成生物工程研究所); Claudin-1 (货号: 40747, 美国 Sab 公司); Occludin 抗体、紧密连接蛋白 ZO-1 抗体、Ki-67 抗体 (货号: ab216327、ab221547、ab16667, 英国 Abcam 公司); 山羊抗兔 IgG-HRP (货号: GB23303, 武汉生塞维尔生物科技有限公司); Matrigel 基质胶 (货号: 356237, 美国 Corning 公司); IntestiCult 类器官生长培养基、含 15 mmol/L HEPES DMEM/F12 培养基、温和细胞解离试剂 (货号: 06005、36254、07174, 美国 Stem-cell 公司)。

1.2 方法

2023-05-13 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81774051)

作者单位: ¹ 安徽医科大学第一附属医院中西医结合肿瘤科, 合肥 230022

² 安徽中医药大学研究生院, 合肥 230022

作者简介: 张泉, 女, 硕士研究生;

张梅, 女, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: zhangmei@ahmu.edu.cn

1.2.1 实验分组与处理 适应性喂养 7 d 后, 12 只野生型 (WT) 小鼠随机分为对照组 (WT-Control 组)、模型组 (WT-Model 组) 和亮菌多糖组 (WT-ATPS 组), 另外 12 只 ARRBI 基因敲除 (ARRBI^{-/-}) 小鼠也同样随机分为对照组 (ARRBI^{-/-}-Control 组)、模型组 (ARRBI^{-/-}-Model 组) 和亮菌多糖组 (ARRBI^{-/-}-ATPS 组)。ATPS 组每天灌胃 ATPS (200 mg/kg), 模型组每天灌胃等体积的生理盐水, 连续 14 d。从第 8 天开始模型组和 ATPS 组均在灌胃后 2 h 腹腔内注射 5-FU (50 mg/kg) 连续 7 d。对照组以 10 ml/kg 灌胃和腹腔注射生理盐水。在 5-FU 治疗结束后 24 h 处死所有动物。获取动物组织和离心后的血清, 储存 -80 °C 冰箱以供后续分析。

1.2.2 肉眼观察及评分 取十二指肠至回盲部肠管, 肉眼观察大体形态。根据 Morris et al [8] 的评分标准, 宏观外观评分范围为 0~4 分: 0 分, 肉眼无变化; 1 分, 仅黏膜红斑; 2 分, 轻度黏膜水肿、轻微出血或小糜烂; 3 分, 中度水肿、出血性溃疡或糜烂; 4 分, 严重溃疡、糜烂、水肿和组织坏死。

1.2.3 组织学分析与组织处理 中段空肠组织在 4% 多聚甲醛溶液中固定、石蜡包埋、切片。苏木精和伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色, 中性树脂封片, 光学显微镜下观察空肠病理结构。根据以下参数进行评分: 炎症严重程度 (0~3 分; 无、轻度、中度和重度)、损伤深度 (0~3 分; 无、黏膜、黏膜和黏膜下层、透壁) 和隐窝损伤 (0~3 分; 无、基底损伤、严重基底损伤、仅完整的表面上皮、缺失整个隐窝和上皮)。

1.2.4 血清中 SOD、DAO 活性测定 采集小鼠血样, 室温下 3 500 r/min 离心 3 min。收集血清并储存于 -80 °C 冰箱, 用检测试剂盒测定 SOD 和 DAO 活性。

1.2.5 免疫组织化学 将空肠切片经二甲苯和乙醇梯度脱蜡, 10% 羊血清封闭。一抗稀释浓度分别为 Claudin-1 (1:200)、Occludin (1:200)、ZO-1 (1:500) 和 Ki-67 (1:100) 4 °C 孵育过夜。PBS 清洗, 二抗 (1:200 稀释) 室温孵育 30 min, PBS 清洗后, DAB 显色液显色, 苏木精复染脱水后中性树脂封片。显微镜下观察并采集图像, 采用 Image-Pro Plus 6.0 软件测定阳性染色的累积光密度值 (integrated optical density, IOD)。

1.2.6 小肠隐窝分离与类器官培养 取近胃端 10~15 cm 的小肠组织, 用预冷的 PBS 冲洗, 去除残留

的肠内容物, 分离肠外脂肪和系膜。纵向剪开肠段, 小心去除小肠绒毛。剪成约 5 mm × 5 mm 的碎片, 置于 GCDR 溶液中, 摇床上室温消化 15 min。PBS 重悬, 上清用 70 μm 细胞过滤器过滤 4 次, 收集滤液, 离心并用 10 ml DMEM/F12 重悬。计算并获取所需的体积。再次离心并重新悬浮在完全培养基和基质胶中, 然后以每孔 300 个隐窝接种于 24 孔板内。待基质胶凝固后加入 500 μl 完全培养基。置于恒温培养箱中培养, 每隔 2 d 进行换液。倒置显微镜观察, 并在第 2 天和第 7 天记录球形结构和类器官结构的数量, 计算球形结构形成率 (球形结构形成率 = 球形结构的数量/隐窝的数量) 和类器官结构形成率 (类器官的形成率 = 类器官结构的数量/隐窝的数量)。

1.3 统计学处理 应用 GraphPad Prism 8.0 软件处理和分析数据, 各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 *t* 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠一般状况及体质量变化 实验过程见图 1A。隔天称量体质量并观察小鼠一般状况, 如图 1B 所示。化疗后 WT-Model 组和 ARRBI^{-/-}-Model 组体质量明显减轻 (*t* = 4.161, *P* < 0.01; *t* = 9.436, *P* < 0.001), ATPS 治疗后 WT 小鼠的体质量减轻减少

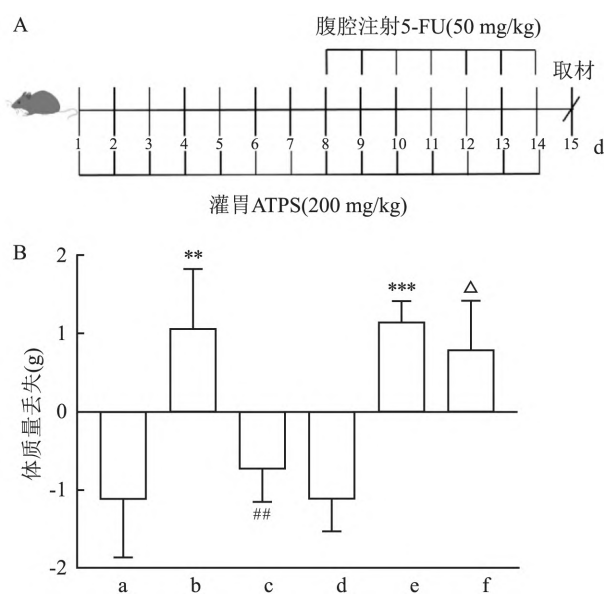


图1 实验流程图和小鼠体质量变化

A: 5-FU 诱导肠道黏膜炎造模和 ATPS 给药流程; B: 化疗前后小鼠体质量的变化; a: WT-Control 组; b: WT-Model 组; c: WT-ATPS 组; d: ARRBI^{-/-}-Control 组; e: ARRBI^{-/-}-Model 组; f: ARRBI^{-/-}-ATPS 组; 与相应的对照组比较: ***P* < 0.01, ****P* < 0.001; 与相应的模型组比较: ##*P* < 0.01; 与 WT-ATPS 组比较: Δ*P* < 0.05

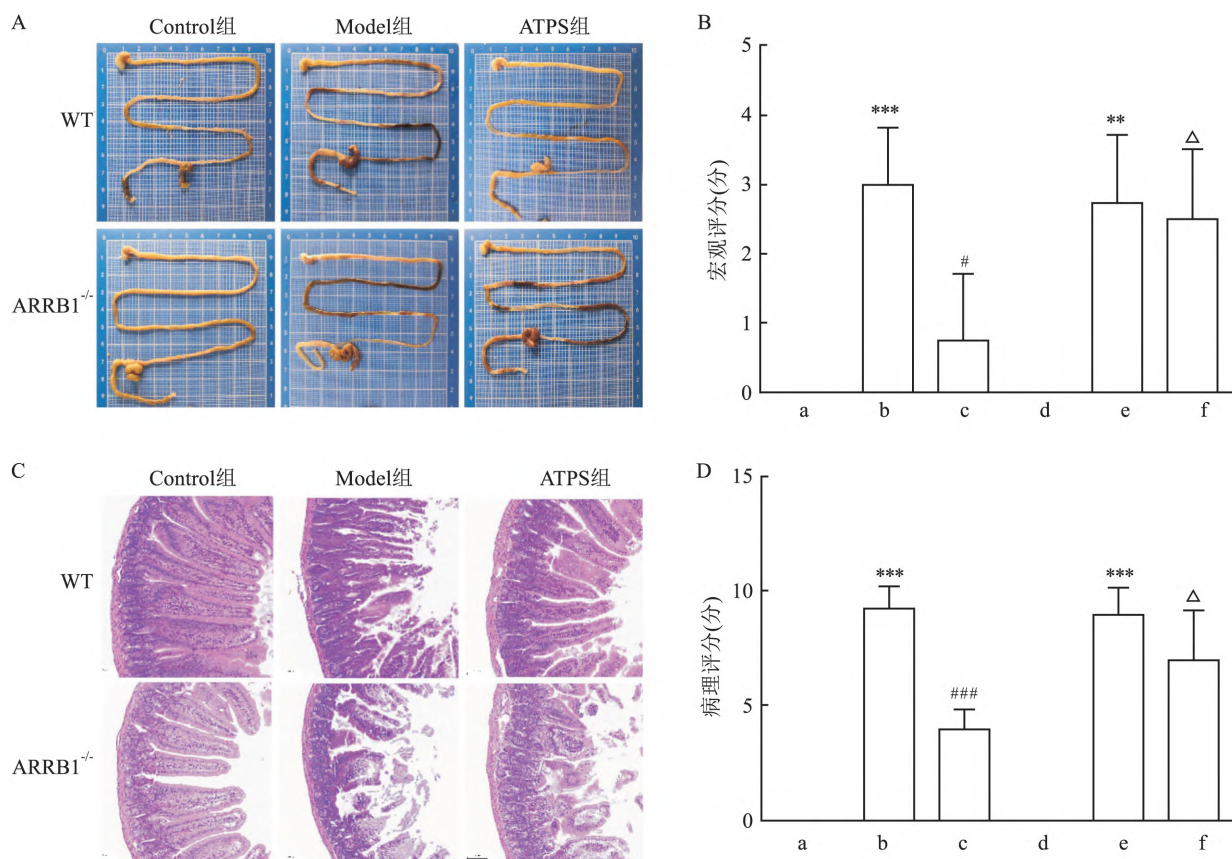


图2 肠道的宏观观察和组织病理学观察

A: 肠道的大体外观; B: 宏观的损伤评分; C: 空肠组织学切片 HE 染色 $\times 100$; D: 组织学评分; a: WT-Control 组; b: WT-Model 组; c: WT-ATPS 组; d: ARRBI^{-/-}-Control 组; e: ARRBI^{-/-}-Model 组; f: ARRBI^{-/-}-ATPS 组; 与相应的对照组比较: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与相应的模型组比较: # $P < 0.05$, ### $P < 0.001$; 与 WT-ATPS 组比较: $\Delta P < 0.05$

($t = 4.265$, $P < 0.01$) ,而 ARRBI^{-/-}-ATPS 小鼠的体质量减轻仍然严重,与 WT-ATPS 组比较显著升高 ($t = 4.155$, $P < 0.05$) 。

2.2 肠道的宏观观察和组织病理学观察 两对照结肠管颜色鲜嫩,未见充血、水肿等异常表现;而相应的两模型组均呈现暗红色、充血、水肿明显及较高的宏观评分;WT-ATPS 组损伤减轻,轻度水肿,无明显充血,而 ARRBI^{-/-}-ATPS 组结肠管损伤未得到改善(图 2A、B)。HE 染色显示:两对照组空肠绒毛形态规则,结构清晰完整,隐窝浅,无坏死及炎性细胞浸润;相应的两模型组组织被广泛破坏,结构不完整,绒毛组织不规则,断裂和顶端脱落,隐窝加深,炎症细胞浸润;WT-ATPS 小鼠组织损伤减轻且组织学评分降低;而 ARRBI^{-/-}-ATPS 组病理学损伤和组织学评分未见明显改善(图 2C、D)。

2.3 ARRBI 对血清中 SOD 和 DAO 水平的影响 5-FU 明显降低 WT-Model 组和 ARRBI^{-/-}-Model 组血清中的 SOD 活性水平($t = 15.600$, $P < 0.001$; t

$= 6.390$, $P < 0.01$) 且升高 DAO 活性水平($t = 2.685$, $P < 0.05$; $t = 4.003$, $P < 0.01$);与 WT-Model 组比较,WT-ATPS 组 SOD 水平显著升高($t = 7.251$, $P < 0.01$)。而 ARRBI^{-/-}-ATPS 组与 ARRBI^{-/-}-Model 组比较差异无统计学意义,但与 WT-ATPS 组比较,ARRBI^{-/-}-ATPS 组 DAO 水平显著升高($t = 3.038$, $P < 0.05$)。见图 3。

2.4 ARRBI 对小肠屏障功能的影响 免疫组化染色显示,与相应的对照组比较,两模型组均表现为棕黄色颗粒染色较浅,呈淡黄色、弱阳性,各蛋白表达均降低;与 WT-Model 组比较,WT-ATPS 组有更多的棕黄色颗粒,Claudin-1 ($t = 6.849$, $P < 0.01$)、Occludin ($t = 6.451$, $P < 0.01$)、ZO-1 ($t = 5.902$, $P < 0.01$) 和 Ki-67 ($t = 4.826$, $P < 0.01$) 的表达均明显升高;但 ARRBI^{-/-}-ATPS 组中各蛋白表达水平显著低于 WT-ATPS 组,Claudin-1 ($t = 10.620$, $P < 0.001$)、Occludin ($t = 4.754$, $P < 0.01$)、ZO-1 ($t = 5.893$, $P < 0.01$) 和 Ki-67 ($t = 4.476$, $P < 0.05$)。见图 4。

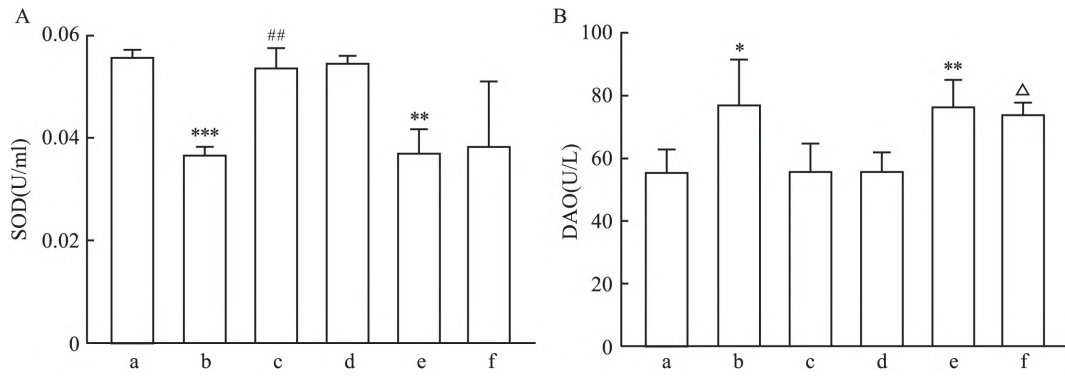


图3 血清 SOD 和 DAO 水平

A: 血清中 SOD 的水平; B: 血清中 DAO 的水平; a: WT-Control 组; b: WT-Model 组; c: WT-ATPS 组; d: ARRB1^{-/-}-Control 组; e: ARRB1^{-/-}-Model 组; f: ARRB1^{-/-}-ATPS 组; 与相应的对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与相应的模型组比较: ## $P < 0.01$; 与 WT-ATPS 组比较: Δ $P < 0.05$

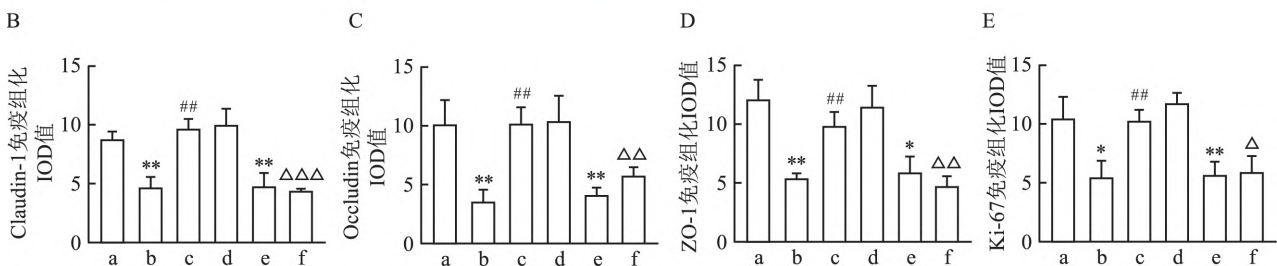
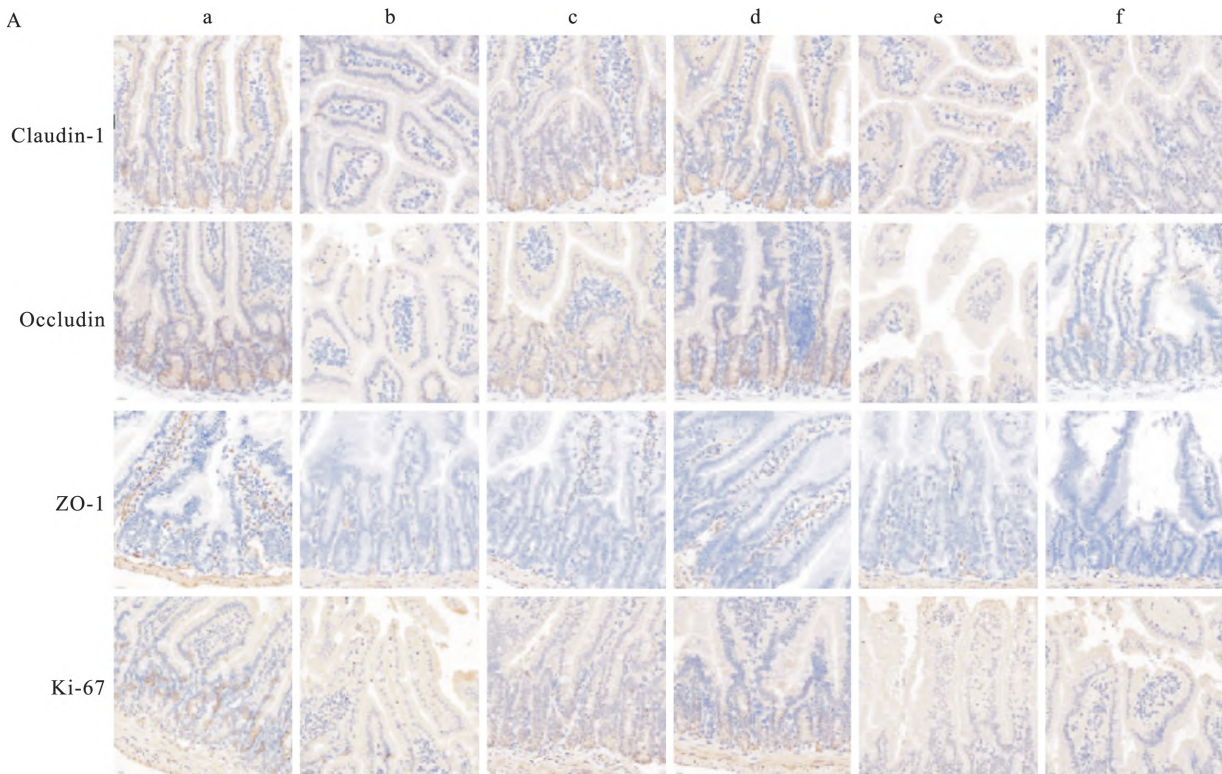


图4 各组小鼠肠道组织中 Claudin-1、Occludin、ZO-1 和 Ki-67 蛋白的表达情况

A: 免疫组化染色的代表图像 ×400; B~D: Claudin-1、Occludin、ZO-1 和 Ki-67 蛋白的 IOD 值; a: WT-Control 组; b: WT-Model 组; c: WT-ATPS 组; d: ARRB1^{-/-}-Control 组; e: ARRB1^{-/-}-Model 组; f: ARRB1^{-/-}-ATPS 组; 与相应的对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与相应的模型组比较: ## $P < 0.01$; 与 WT-ATPS 组比较: Δ $P < 0.05$, ΔΔ $P < 0.01$, ΔΔΔ $P < 0.001$

2.5 ARRB1 对小肠类器官形成的影响 进一步建立了体外类器官模型,以检测每组分离的小肠隐窝在三维培养中形成类器官的潜力。WT-Control 组和 $ARRB1^{-/-}$ -Control 组中,第 2 天可见数量不等的球形结构,第 4 天可见出芽结构,但尚未形成成熟的类器官结构,第 7 天可见较为成熟的类器官结构;WT-Model 组和 $ARRB1^{-/-}$ -Model 组的球形结构数量少且分布稀疏,出芽结构数量较少,类器官数量明显减少;WT-ATPS 组的球形结构数量恢复较好且密度均匀,类器官结构和出芽数量均有所恢复,而 $ARRB1^{-/-}$ -ATPS 组的球形结构数量较低,出芽和类器官数量仍未恢复。见图 5A。

此外,进一步计算了球形结构形成率和类器官形成率。结果显示:与相应的对照组比较,WT-Model 组和 $ARRB1^{-/-}$ -Model 组可见球形结构形成率均显著下降 ($t = 6.455, P < 0.001; t = 8.695, P <$

0.001);与 WT-Model 组比较,WT-ATPS 组形成率恢复 ($t = 4.684, P < 0.01$),而 $ARRB1^{-/-}$ -ATPS 组形成率未恢复,且与 WT-ATPS 组比较显著降低 ($t = 5.400, P < 0.01$);同样,WT-Model 组与 WT-Control 组比较 ($t = 5.882, P < 0.01$)、 $ARRB1^{-/-}$ -Model 组与 $ARRB1^{-/-}$ -Control 组比较 ($t = 10.140, P < 0.001$) 类器官形成率均显著下降;ATPS 处理后 WT 小鼠类器官形成率得到恢复 ($t = 5.732, P < 0.01$),而 $ARRB1^{-/-}$ -ATPS 组的类器官形成率未见升高,且与 WT-ATPS 组比较显著降低 ($t = 9.900, P < 0.001$)。见图 5B、C。

3 讨论

胃肠道并发症是接受化疗和腹部放疗患者的主要剂量限制因素之一,严重降低癌症患者的生活质量。本研究通过 WT 和 $ARRB1^{-/-}$ 小鼠建立 5-FU

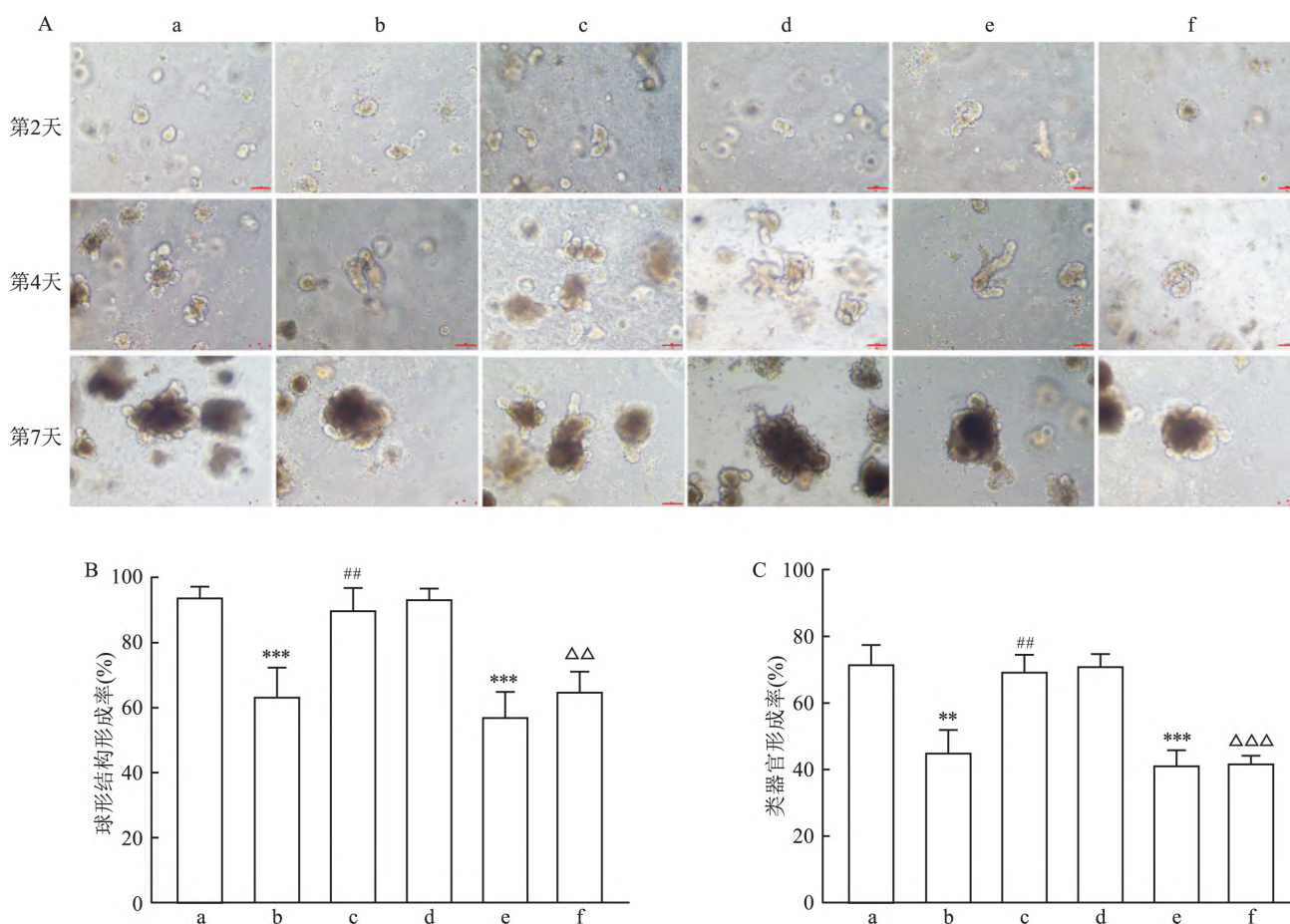


图 5 类器官的形态和类器官形成率

A: 隐窝分离后第 2、4、7 天各组的球形结构和类器官结构 $\times 100$; B: 计算球形结构形成率; C: 计算类器官的形成率; a: WT-Control 组; b: WT-Model 组; c: WT-ATPS 组; d: $ARRB1^{-/-}$ -Control 组; e: $ARRB1^{-/-}$ -Model 组; f: $ARRB1^{-/-}$ -ATPS 组; 与相应的对照组比较: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与相应的模型组比较: ## $P < 0.01$; 与 WT-ATPS 组比较: △△ $P < 0.01$, △△△ $P < 0.001$

诱导的肠黏膜损伤模型,给予 ATPS 治疗。结果显示 5-FU 诱导后肠黏膜炎症明显,屏障破坏,类器官形成率下降且形态受损。ATPS 治疗后 WT 小鼠的小肠组织和黏膜表现健康,其小肠组织培养类器官也与对照组形态类似。但是 ATPS 治疗的 *ARRB1*^{-/-} 小鼠并未获得类似的治疗效果。因此提示 ATPS 的肠黏膜保护作用依赖于 *ARRB1* 的小肠黏膜屏障和类器官维持作用。

ARRB1 是一种广泛表达的支架蛋白,在多种肿瘤发生、转移和侵袭中的作用已受到广泛关注^[5]。研究^[6-9]表明 *ARRB1* 通过调节内质网应激抑制肝脏巨噬细胞的激活,而敲除则可增加巨噬细胞的浸润,还通过抑制 *NF-κB p65* 的激活而缓解急性胰腺炎。此外,*ARRB1* 刺激小鼠结肠细胞的增殖,对谷氨酸诱导的细胞生长和增殖至关重要^[10]。本研究使用了 *ARRB1* 基因敲除小鼠,发现 *ARRB1* 缺失对小鼠的生存和一般情况无明显影响。而且,WT 和 *ARRB1*^{-/-} 小鼠在 5-FU 诱导后都表现出严重的肠毒性,但 *ARRB1* 缺失明显影响 ATPS 对肠黏膜炎的损伤修复过程。因此,*ARRB1* 可能是 ATPS 调节肠黏膜炎的一个重要媒介。

肠道结构的完整性破坏、渗透性增加、上皮屏障功能严重丧失是晚期肠道黏膜炎的常见表现。血清 DAO 水平是诊断肠道黏膜损伤的一个敏感指标。肠道屏障的结构完整性依赖于紧密连接蛋白,它提供了有助于屏障功能的机械特性,*Occludin*、*Claudin* 和 *ZOs* 是构成紧密连接(tight-junction, TJ)完整性的 3 个关键蛋白,对保护小肠黏膜免受外来损伤至关重要^[11]。在本研究中,ATPS 处理降低了血清 DAO 水平,增加了小肠 TJ 蛋白的表达,表明 ATPS 逆转了 5-FU 诱导的屏障损伤,增强了肠道屏障的完整性,但 *ARRB1* 的缺乏却未能得到逆转。

位于隐窝底部的肠道干细胞(intestinal stem cell, ISC)通过自我更新和分化时刻保持平衡,对于维持肠道上皮的结构和功能完整性以及肠道损伤后的黏膜修复至关重要^[12]。肠道类器官在体外模拟了复杂的肠道内部结构,在再生医学、模型构建和药物筛选等各个领域有很好的应用前景^[13]。在合适的微环境培养条件下,单个 *Lgr5* 阳性 ISC 可以形成肠道类器官^[14]。因此,肠道类器官被认为是探索肠道发育和肠道疾病的病理过程的良好工具,为 ISC 提供了一个新的研究途径。此外,研究^[15-16]表明,*ARRB1* 参与调控干细胞特性,包括肿瘤干细胞和正常干细胞的自我更新。在本研究中,5-FU 诱导的

肠黏膜炎小鼠的 ISC 仍然保留了形成器官模型的能力,但与对照组比较,器官模型在培养中表现不佳,其增殖和分化能力受到影响;ATPS 改善了 5-FU 诱导的小肠类器官的形态学、球形结构形成率和类器官形成率受损;*ARRB1* 的缺乏未能通过 ATPS 改善类器官的生长和分化,*ARRB1* 的缺乏不能改善受损的类器官生长和形态;提示 ATPS 对小肠黏膜的保护作用可能依赖于 *ARRB1* 对小肠 ISCs 干性的保护和维持。

综上所述,ATPS 对 5-FU 诱导的肠黏膜炎具有保护作用,并且其保护作用可能依赖于 *ARRB1* 维持肠黏膜屏障完整性、小肠类器官形成和 ISC 干性的作用。

参考文献

- [1] Zhao Y, Feng Y, Liu M, et al. Single-cell RNA sequencing analysis reveals alginate oligosaccharides preventing chemotherapy-induced mucositis [J]. *Mucosal Immunol* 2020, 13(3): 437-48.
- [2] Vodenkova S, Buchler T, Cervena K, et al. 5-fluorouracil and other fluoropyrimidines in colorectal cancer: Past, present and future [J]. *Pharmacol Ther* 2020, 206: 107447.
- [3] Sethy C, Kundu C N. 5-Fluorouracil (5-FU) resistance and the new strategy to enhance the sensitivity against cancer: Implication of DNA repair inhibition [J]. *Biomed Pharmacother* 2021, 137: 111285.
- [4] Lei Y, Xu X, Liu H, et al. HBx induces hepatocellular carcinogenesis through *ARRB1*-mediated autophagy to drive the *G₁/S* cycle [J]. *Autophagy* 2021, 17(12): 4423-41.
- [5] Xu X, Lei Y, Chen L, et al. Phosphorylation of *NF-κB p65* drives inflammation-mediated hepatocellular carcinogenesis and is a novel therapeutic target [J]. *J Exp Clin Cancer Res* 2021, 40(1): 253.
- [6] Lei Y, Wan S, Liu H, et al. *ARRB1* suppresses the activation of hepatic macrophages via modulating endoplasmic reticulum stress in lipopolysaccharide-induced acute liver injury [J]. *Cell Death Discov* 2021, 7(1): 223.
- [7] 张梅, 吴悦, 苏丽, 等. 亮菌多糖对 LPS 诱导的肠上皮细胞炎性损伤的保护作用及机制探讨 [J]. *安徽医科大学学报*, 2021, 56(4): 533-8.
- [8] Morris G P, Beck P L, Herridge M S, et al. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon [J]. *Gastroenterology*, 1989, 96(3): 795-803.
- [9] Tao L, Lin X, Tan S, et al. *β-arrestin1* alleviates acute pancreatitis via repression of *NF-κB p65* activation [J]. *J Gastroenterol Hepatol* 2019, 34(1): 284-92.
- [10] Li X R, Cheng X, Sun J, et al. Acetylation-dependent glutamate receptor *GluR* signalosome formation for *STAT3* activation in both transcriptional and metabolism regulation [J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1): 11.
- [11] Kuo W T, Zuo L, Odenwald M A, et al. The tight junction protein

- ZO-1 is dispensable for barrier function but critical for effective mucosal repair [J]. *Gastroenterology* 2021 ,161(6) : 1924 – 39.
- [12] Won J H ,Choi J S ,Jun J I. Ccn1 interacts with integrins to regulate intestinal stem cell proliferation and differentiation [J]. *Nat Commun* 2022 ,13(1) : 3117.
- [13] Mead B E ,Hattori K ,Levy L ,et al. Screening for modulators of the cellular composition of gut epithelia *via* organoid models of intestinal stem cell differentiation [J]. *Nat Biomed Eng* 2022 6(4) : 476 – 94.
- [14] Rahmani S ,Breyner N M ,Su H M ,et al. Intestinal organoids: A new paradigm for engineering intestinal epithelium *in vitro* [J]. *Biomaterials* 2019 ,194: 195 – 214.
- [15] Kallifatidis G ,Smith D K ,Morera D S ,et al. β -arrestins regulate stem cell-like phenotype and response to chemotherapy in bladder cancer [J]. *Mol Cancer Ther* 2019 ,18(4) : 801 – 11.
- [16] Khongthong P ,roseweir A K ,Edwards J. The NF- κ B pathway and endocrine therapy resistance in breast cancer [J]. *Endocr Relat Cancer* 2019 26(6) : R369 – 80.

Exploring the role and mechanism of armillariella tabescens polysaccharides interference in 5-FU-induced intestinal mucosal injury based on ARRB1

Zhang Quan¹ ,Zhao Qinying¹ ,Ye Yingquan¹ ,Liu Li¹ ,Zhang Mei^{1,2}

(¹*Oncology Dept of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine ,The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University ,Hefei 230022;* ²*Graduate School of Anhui University of Traditional Chinese Medicine ,Hefei 230022)*

Abstract Objective To investigate the effect and mechanism of ARRB1 on *Armillariella tabescens* polysaccharides reversal of 5-fluorouracil (5-FU) -induced chemotherapeutic intestinal mucosal injury. **Methods** Twelve ARRB1 knockout (ARRB1^{-/-}) and wild-type (WT) C57BL/6 mice were randomly divided into Control ,Model and ATPS groups (200 mg/kg) ,respectively. 5-FU (50 mg/kg) was injected intraperitoneally for 7 days to establish a model of chemotherapeutic intestinal mucosal injury. The histopathological damage of jejunum was evaluated by HE staining; the activity of serum superoxide dismutase (SOD) and diamine oxidase (DAO) was measured by kits; the expression of tight junction protein (TJ) markers ZO-1 ,Occludin ,Claudin-1 and proliferation-associated protein Ki-67 was detected by immunohistochemistry. Crypt isolation and organoid culture were used to detect the growth status of small intestinal organoids. **Results** 5-FU chemotherapy reduced body weight ,aggravated histopathological damage in small intestine ,decreased SOD level ,TJ protein and Ki-67 protein expression ,increased serum DAO level ,decreased spherical structure formation rate and organoid formation rate; compared with the model group ,after ATPS treatment ,WT mice recovered body weight ,decreased pathological damage ,increased serum SOD level ,TJ protein and Ki-67 protein expression ,DAO levels decreased ,and the rates of spherical structure formation and organoid formation were significantly higher. However ,ARRB1^{-/-} mice failed to reverse the effect of 5-FU after ATPS treatment. **Conclusion** ATPS reverses 5-FU-induced intestinal mucositis through the protective effects of ARRB1 on intestinal barrier and organoid growth.

Key words ARRB1; 5-fluorouracil; intestinal mucositis; tight junction protein; organoid