



甘晓锟,陈坤锥,申迎宾,等.鹿茸菇多糖对免疫抑制小鼠免疫及肠道菌群的作用[J].轻工学报,2025,40(6):54-66.

GAN X K, CHEN K Z, SHEN Y Y, et al. Effects of *Lyophyllum decastes* polysaccharides on immune activity and gut microbiota homeostasis in immunosuppressive mice [J]. Journal of Light Industry, 2025, 40(6): 54-66.

DOI:10.12187/2025.06.006

# 鹿茸菇多糖对免疫抑制小鼠免疫及肠道菌群的作用

甘晓锟<sup>1</sup>,陈坤锥<sup>1</sup>,申迎宾<sup>1</sup>,张磊<sup>2</sup>,李湛<sup>3</sup>

1. 广州大学 生命科学学院,广东 广州 510006;

2. 新疆农业大学 林学与风景园林学院,新疆 乌鲁木齐 830052;

3. 成都锦江勿痛峰中医诊所有限公司,四川 成都 610066

**摘要:**【目的】探究鹿茸菇多糖的免疫活性及对肠道菌群的作用。【方法】以环磷酰胺(Cyclophosphamide, CTX)诱导免疫抑制小鼠为模型,连续20 d灌胃不同剂量的鹿茸菇多糖(*Lyophyllum decastes* Polysaccharide, LDPS),采用酶免疫吸附(ELISA)法、苏木精-伊红染色法、免疫印迹(WB)法和16S rDNA研究LDPS对免疫抑制小鼠胸腺和脾脏指数、血清细胞因子(白细胞介素(IL-2)和肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ ))、小肠组织分泌性免疫球蛋白A(SIgA)、脾脏和小肠组织病理形态、紧密连接蛋白及肠道菌群的影响。【结果】LDPS可恢复免疫抑制小鼠的体质量和采食量,改善小鼠脾脏、胸腺和小肠组织损伤。与CTX模型组相比,LDPS中剂量组(MLDPS)和高剂量组(HLDPS)均能显著促进血清IL-2和小肠组织SIgA分泌,降低TNF- $\alpha$ 含量,并显著上调小肠组织胞质紧密粘连蛋白Claudin-1(45.36%、62.89%)和闭锁小带蛋白ZO-1相对表达量(30.31%、31.35%)。各组小鼠肠道菌群存在明显差异,高剂量LDPS干预能显著提高*Lachnospiraceae\_NK4A136\_group*(93.49%)、理研菌科(Rikenellaceae)、另枝菌属(*Alistipes*)等有益菌的相对丰度( $P<0.05$ ),降低潜在致病菌葡萄球菌属(*Staphylococcus*)的相对丰度( $P<0.05$ ),逆转CTX诱导小鼠的肠道菌群紊乱并使其趋于正常。【结论】LDPS对免疫抑制小鼠具有免疫调节作用,且其作用机制与肠道屏障和肠道菌群稳态有关。

**关键词:**鹿茸菇多糖;免疫调节;肠道菌群;肠道屏障

中图分类号:TS201.4 文献标识码:A 文章编号:2096-1553(2025)06-0054-13

## 0 引言

鹿茸菇(*Lyophyllum decastes*),又名荷叶离褶伞,属担子菌亚门伞菌目白蘑科离褶伞属,是一种食药兼用菌,风味独特,价格低廉,富含多糖、多酚、蛋白

质、矿物质等多种营养成分<sup>[1]</sup>。多糖是鹿茸菇最主要活性成分之一。研究<sup>[2]</sup>发现,鹿茸菇多糖(*Lyophyllum decastes* Polysaccharide, LDPS)的相对分子质量为8.6~305.0 kDa,主要由葡萄糖、半乳糖、甘露糖和岩藻糖组成,主链由1,4- $\alpha$ -葡萄糖残基组

收稿日期:2025-03-24;修回日期:2025-07-11;出版日期:2025-12-15

基金项目:广东省科技计划项目(620096-501)

作者简介:甘晓锟(1997—),女,广东省云浮市人,广州大学硕士研究生,主要研究方向为食品营养与健康。E-mail:13826863297@163.com

通信作者:申迎宾(1981—),男,河南省邓县人,广州大学副教授,博士,主要研究方向为食品营养与健康。E-mail:shenyb@gzhu.edu.cn

成,而在该残基的 6-O 位置上连有 2 个  $\beta$ -半乳糖残基组成的支链,并通过 1,6-结构连接。这些结构特点使 LDPS 具有调节免疫、抗氧化、抗炎、调节肠道菌群等药理活性。贾宁<sup>[3]</sup>通过建立环磷酰胺(Cyclophosphamide, CTX)致小鼠免疫低下模型,发现 LDPS 可改善小鼠免疫。刘影<sup>[4]</sup>通过体外实验发现,LDPS 能促进免疫细胞增殖及诱导肿瘤细胞凋亡。Y. S. Ma 等<sup>[5]</sup>用 LDPS 处理免疫抑制小鼠,发现 LDPS 能促进 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞增殖,提高白细胞介素(Interleukin-2, IL-2) 和肿瘤坏死因子(Tumor Necrosis Factor-alpha, TNF- $\alpha$ ) 水平,并通过调控丝裂原活性蛋白激酶(MAPK)信号通路调节小鼠免疫。

有研究<sup>[6]</sup>发现,多糖也可通过调节肠道菌群来影响免疫。肠道内存在大量菌群,它们通过自身成分的易位、代谢产物的循环及免疫细胞的迁移对人体肠道内外免疫系统产生重要影响。多糖是大分子物质,不易被消化,肠道菌群可通过分解这些大分子物质生成人体必需维生素、短链脂肪酸(Short-chain Fatty Acids, SCFAs)等多种代谢产物,其中 SCFAs 可经肠道黏膜进入机体并参与免疫调节<sup>[7]</sup>。Y. N. Li 等<sup>[8]</sup>研究发现,黄芪多糖能改善小鼠肠道炎症反应,恢复免疫器官指数,逆转免疫功能低下小鼠的肠道菌群失调。X. Han 等<sup>[9]</sup>研究发现,冬枣多糖能提高免疫抑制小鼠肠道分泌型免疫球蛋白 A(Secretory Immunoglobulin A, SIgA) 水平、紧密连接分子表达及肠道菌群多样性。

CTX 是应用最广的肿瘤化疗药物之一,其能在杀死肿瘤细胞的同时破坏肠道黏膜屏障和免疫系统,引起肠道菌群紊乱<sup>[10]</sup>。因此,寻找辅助 CTX 治疗的天然药物以降低其副作用尤为重要。目前,鲜见从肠道菌群角度阐述 LDPS 对 CTX 致免疫抑制小鼠影响的文献报道。鉴于此,本文拟通过给小鼠腹腔注射 CTX 建立免疫抑制模型,分别采用酶免疫吸附(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA)法、苏木精-伊红染色法、免疫印迹(Western Blot, WB)法和 16S rDNA 探索 LDPS 对免疫抑制小鼠脾脏和小肠组织病理、血清细胞因子(IL-2 和 TNF- $\alpha$ )、小肠组织 SIgA、紧密连接分子和肠道菌群结构的影响。

响,以期为 LDPS 在功能性食品、肿瘤化疗药物等领域的开发与应用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料与试剂

鹿茸菇子实体干燥样品,云南楷美食品有限公司;无水乙醇、正丁醇、苯酚、二甲苯、H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,天津市永大化学试剂厂;三氯甲烷,上海穗市公司;CTX(纯度 97%),合肥博美生物科技有限公司;4% 多聚甲醛固定液,北京兰杰柯科技有限公司;苏木精染液、伊红染液,珠海贝索生物科技有限公司;IL-2、TNF- $\alpha$ 、SIgA ELISA 检测试剂盒,武汉纯度生物科技有限公司;放射免疫沉淀法裂解(RIPA)缓冲液、二辛可酸(BCA)蛋白浓度测定试剂盒、磷酸盐(PBS)缓冲液、聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)蛋白上样缓冲液、Tris-HCl(pH 值为 8.8)、Tris-HCl(pH 值为 6.8)、DNA 试剂盒、ZO-1、Claudin-1、 $\beta$ -actin 一抗、脱脂奶粉,碧云天生物科技有限公司;丙烯酰胺、过硫酸铵,美国 Sigma 公司。除特别标注外,上述试剂均为分析纯。

### 1.2 主要仪器与设备

FB224 型电子天平,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;UV-1500 型紫外-分光光度计,上海美析仪器;SCIENTZ-18N 型真空冷冻干燥机,宁波新芝生物科技股份有限公司;SHA-B 型恒温水浴锅,金坛市新航仪器有限公司;DHG-9075A 型电热鼓风干燥箱,上海一恒科学仪器有限公司;TD5B 型离心机,长沙英泰仪器有限公司;DMI 8 型光学显微镜,德国徕卡公司;RE212-B 型旋转蒸发仪,雅马拓科学株式会社;EPS-300 型电泳仪,中国 Tanon 科技公司;1658001 小型垂直电泳槽、170-3930 型转印槽,中国 Bio-rad 公司;TY-80B 型脱色摇床,中国 Aohua 公司。

### 1.3 实验动物及其饲养

SPF 级健康雄性级 Balb/c 小鼠(动物许可证号:SCXK(粤)2020—0051),6~8 周龄,体质量(22±2) g,购自珠海百试通生物科技有限公司,饲养于瑞业模型动物(广州)生物科技有限公司,环境明暗交替(12 h/12 h),温度 20~25 °C,相对湿度 50%~70%,自由进食饮水。本研究经广州瑞业模型

动物生物科技有限公司实验动物伦理委员会批准(批号:RYEth-20240919557),所有实验程序均按照《实验用动物管理与使用指南》<sup>[11]</sup>进行。

## 1.4 实验方法

**1.4.1 LDPS 制备** 将鹿茸菇子实体干燥样品用粉碎机粉碎,再用体积分数为 80% 的乙醇溶液浸泡 24 h,烘干得到粉末;在温度 95 ℃、液料比 60 : 1 (mL/g) 条件下提取 2.5 h,于 4000 r/min 条件下离心 10 min,采用旋蒸法将上清液浓缩至原体积的 1/3,并添加浓缩液体积 3 倍的无水乙醇,于 4 ℃ 条件下醇沉 12 h,经 4500 r/min 离心 12 min,用少量蒸馏水重新溶解沉淀物;利用 Sevage 法去除蛋白质后,对粗多糖进行透析(相对分子质量截留≥3500 Da)至电导率接近蒸馏水,经冷冻干燥后,即得到 LDPS 样品<sup>[12]</sup>。采用苯酚-硫酸法测得该样品中多糖含量为 (82.95±0.86)%,利用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测得该样品中蛋白质含量为 (0.73±0.06)%。

**1.4.2 实验分组、造模及给药** 取 50 只小鼠,以每组 10 只(5 只/笼)随机分为 5 组,即正常组(CN)、模型组(CTX)、LDPS 低剂量组(LLDPS)、LDPS 中剂量组(MLDPS)和 LDPS 高剂量组(HLDPS)。CN 组小鼠腹腔注射 200 μL 生理盐水,其余各组小鼠腹腔注射 200 μL 80 mg/(kg·d)的 CTX,每日 1 次,连续 3 d,以建立免疫抑制小鼠模型;LLDPS 组、MLDPS 组和 HLDPS 组小鼠经口分别灌胃 100 mg/kg、200 mg/kg、400 mg/kg 的 LDPS,CN 组、CTX 组小鼠灌胃等体积生理盐水,每日上午 9 点灌胃 1 次,并记录体质量和采食量,连续 20 d<sup>[5]</sup>。

**1.4.3 样本采集** 给药实验结束前,小鼠禁食过夜,次日称重后,眼球取血;将血样静置 30 min,以 3000 r/min 离心 15 min,将所得血清置于 -80 ℃ 冰箱保存。取血后,通过颈椎脱臼杀死小鼠,取脾脏、胸腺组织并称重,将部分小肠组织和盲肠内容物置于 -80 ℃ 冰箱保存,将脾脏和部分小肠组织于 4% 多聚甲醛固定液中进行固定。

**1.4.4 胸腺指数和脾脏指数测定** 用预冷生理盐水清洗脾脏、胸腺,去除结缔组织后,再用滤纸吸干水分,称重并按下式计算胸腺指数和脾脏指数( $D/(mg \cdot g^{-1})$ )<sup>[10]</sup>。

$$D = \frac{m_1}{m}$$

式中, $m_1$  为小鼠脾脏或胸腺质量/mg; $m$  为小鼠体质量/g。

### 1.4.5 血清细胞因子和小肠组织 SIgA 含量测定

按照 IL-2、TNF- $\alpha$ 、SIgA ELISA 检测试剂盒说明书,采用 ELISA 法测定血清细胞因子(IL-2、TNF- $\alpha$ )和小肠组织 SIgA 的含量。

**1.4.6 脾脏和小肠组织病理形态观察** 取各组小鼠的脾脏和小肠组织,在 4% 多聚甲醛固定液中浸泡过夜,再对脾脏和小肠组织进行石蜡包埋、连续切片、脱蜡、苏木精-伊红染色、中性树胶封片等实验操作后,在光学显微镜下观察各组小鼠脾脏和小肠组织病理形态变化,最后利用 Image J 软件测量小肠绒毛长度和隐窝深度。

**1.4.7 小肠紧密连接蛋白表达水平测定** 将小肠黏膜组织剪碎后研磨,以 5000 r/min 离心 15 min,收集上清液,以 BCA 法测定蛋白质含量。将待测蛋白样品上样并进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,转膜后封闭,加入 ZO-1、Claudin-1 和  $\beta$ -actin(内参蛋白)一抗,4 ℃ 孵育过夜,将洗涤后的聚偏氯乙烯膜(PVDF)放入二抗工作液中,室温、避光缓慢摇动 60 min 后进行洗涤显影。用 Image J 软件定量分析各蛋白条带灰度值,以目的蛋白与内参蛋白的灰度值比值作为目的蛋白的相对表达量。

**1.4.8 肠道菌群检测** 将采集的盲肠内容物解冻后,采用 DNA 试剂盒提取基因组 DNA,通过带有 barcode 的特异引物扩增 16S rDNA 的 V3+V4 区。在广州基迪奥生物科技有限公司进行盲肠内容物样本的测序和生物信息学分析。根据 97% 的成对一致性阈值定义操作分类单元(Operational Taxonomic Units, OTUs),再利用 Omicsmart 平台根据 OTUs 的相对丰度筛选不同物种。

## 1.5 数据处理与分析

采用 SPSS 26.0 软件对数据进行统计分析,数据结果均以(平均值±标准差)表示。若符合正态分布,多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),组间两两比较采用 LSD 检验;若不符合正态性,采用非参数检验; $P<0.05$  或  $P<0.01$  表示具有统计学意义。使用 Origin 2021 进行绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 小鼠体质量和采食量分析

各组小鼠的采食量和体质量如图 1 所示,其中与 CN 组相比, \* 表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), \*\* 表示差异极显著 ( $P < 0.01$ );与 CTX 组相比, △表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), △△表示差异极显著 ( $P < 0.01$ ),下同。由图 1 可知,经 CTX 诱导后,CN 组小鼠的体质量和采食量均明显下降,表明造模成功。第 20 d, LLDPS 组、MLDPS 组和 HLDPS 组小鼠的采食量比 CTX 组分别显著提高了 3.15%、8.21% 和 9.79% ( $P < 0.05$ ) (见图 1a)),而 MLDPS 组和 HLDPS 组小鼠的体质量比 CTX 组分别显著提高了 5.31% 和 6.00% ( $P < 0.05$ ) (见图 1b))。这表明 LDPS 干预有利于小鼠体质量和采食量恢复,其中高剂量和中剂量干预对恢复小鼠体质量效果更显著。

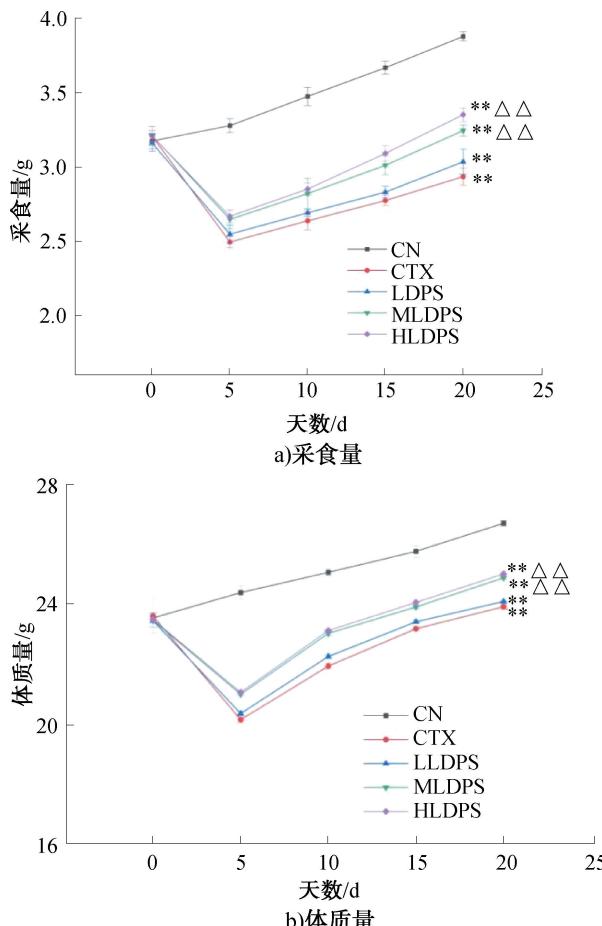


图 1 各组小鼠的采食量和体质量

Fig. 1 Feed intake and body weight of mice in each group

### 2.2 胸腺指数和脾脏指数分析

胸腺是 T 细胞分化和发育的场所,是机体重要中枢免疫器官;脾脏是最大的淋巴器官,也是对血源性抗原产生免疫应答的场所,因此胸腺指数、脾脏指数间接反映了机体的免疫状况<sup>[13]</sup>。各组小鼠的胸腺指数和脾脏指数如图 2 所示。由图 2 可知,与 CN 组相比,CTX 组的胸腺指数和脾脏指数分别显著下降了 21.30% 和 24.75% ( $P < 0.01$ ),这表明 CTX 可以诱导小鼠免疫抑制。与 CTX 组相比,HLDPS 组的脾脏指数和胸腺指数分别显著升高了 12.50% ( $P < 0.05$ ) 和 20.51% ( $P < 0.01$ ),而低剂量干预对免疫抑制小鼠器官指数有一定恢复效果,但效果不显著 ( $P > 0.05$ )。这表明 LDPS 干预均对 CTX 所致的小鼠脾脏、胸腺损伤具有一定的改善作用,且高剂量干预的效果更明显。

### 2.3 血清细胞因子和小肠组织 SIgA 含量分析

IL-2 是辅助性 T 淋巴细胞分泌的重要免疫

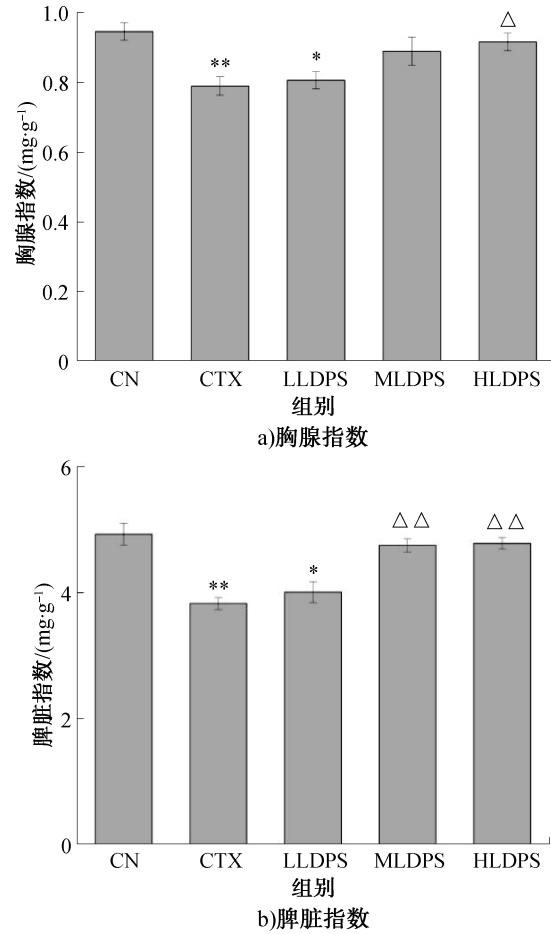


图 2 各组小鼠的胸腺指数和脾脏指数

Fig. 2 Thymus index and spleen index of mice in each group

因子,可促进T细胞的生长和分化,并诱导杀伤细胞分化<sup>[14]</sup>。各组小鼠血清IL-2、TNF- $\alpha$ 及小肠组织SIgA的含量如图3所示。由图3a)可知,与CN组相比,CTX组的IL-2含量显著降低了56.54%( $P<0.01$ ),而HLDPS组的IL-2含量无显著变化( $P>0.05$ )。与CTX组相比,LLDPS组的IL-2含量增加了15.45%( $P>0.05$ ),MLDPS组和HLDPS组的IL-2含量分别显著增加了67.76%和81.76%( $P<0.01$ )。

TNF- $\alpha$ 是由巨噬细胞分泌且能直接杀死肿瘤的细胞因子,是机体免疫防护的重要介质,但其过量分泌会造成机体的免疫病理损伤,并产生炎症<sup>[15]</sup>。由图3b)可知,与CN组相比,经CTX诱导后,小鼠血清中TNF- $\alpha$ 含量显著升高,而经LDPS干预后,小鼠血清中TNF- $\alpha$ 含量均有不同程度地回落。与CTX组相比,LLDPS组、MLDPS组和HLDPS组的TNF- $\alpha$ 含量分别降低了8.26%( $P>0.05$ )、33.55%( $P<0.01$ )和35.67%( $P<0.01$ )。这与Y.S.Ma等<sup>[5]</sup>得出的LDPS会逆转CTX导致的TNF- $\alpha$ 分泌下降的结果相反。李钦等<sup>[16]</sup>研究发现,CTX能促使小鼠血清中TNF- $\alpha$ 含量升高、IL-2含量下降,而富硒黄芪提取物能缓解这一改变。J.Huang等<sup>[17]</sup>研究发现,用CTX处理BabI/c小鼠后,其血清中的TNF- $\alpha$ 含量比正常小鼠高,而经海藻酸钠处理后会有所下降。

SIgA是肠道免疫的主效因子,占机体分泌抗体总量的3/4,能够调节肠道菌群组成,阻止外来病原体侵入,是黏膜免疫的重要指标之一<sup>[18]</sup>。由图3c)可知,与CN组相比,经CTX诱导后,小鼠小肠组织中SIgA含量显著降低;相较于CTX组,MLDPS组和HLDPS组的SIgA含量分别显著提高了53.8%和55.87%( $P<0.01$ )。上述结果表明,CTX可通过降低小鼠血清IL-2和小肠组织SIgA含量,以及使小鼠血清TNF- $\alpha$ 含量异常增多来破坏机体免疫和肠道屏障,而LDPS干预能使上述指标恢复至正常值。

## 2.4 脾脏和小肠组织病理形态分析

LDPS对小鼠脾脏和小肠组织病理形态的影响如图4所示。由图4a)可知,CN组的脾脏结构清晰,淋巴细胞排列紧密,白髓和红髓边界清晰且分布均匀。CTX组的白髓模糊,红髓偏多,且出现空泡状。经LDPS干预后,尤其是MLDPS组和HLDPS

组的白髓和红髓边界变得更清晰,其中白髓显著增多且分布均匀,表明淋巴细胞增多,LDPS能有效改善脾脏损伤。

肠道屏障是肠道免疫系统的首要防线,植物多糖可作为一种外源性益生元保护肠道屏障,调节由药物刺激、不良饮食习惯等多种因素引起的免疫抑制

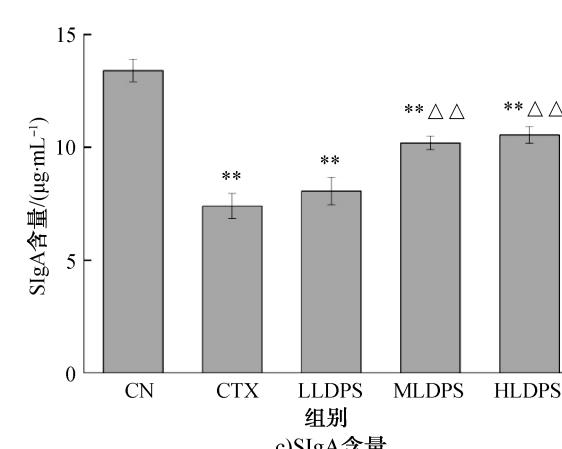
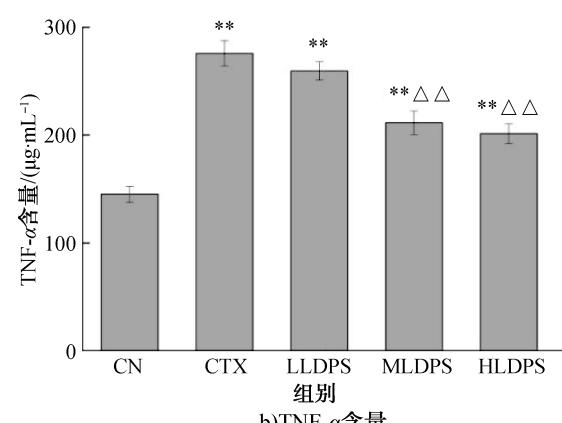
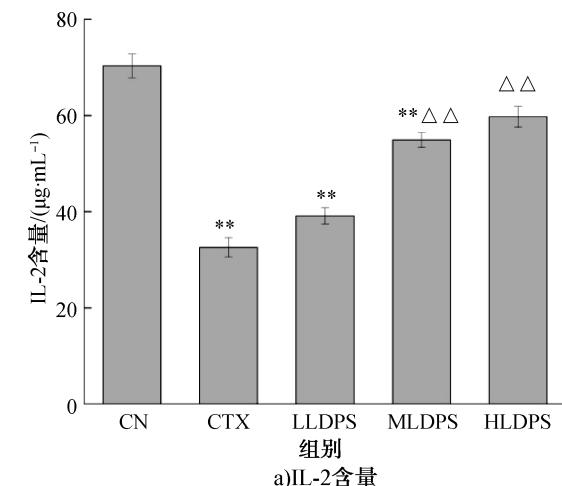


图3 各组小鼠血清IL-2、TNF- $\alpha$ 及小肠组织SIgA的含量

Fig. 3 Serum IL-2, TNF- $\alpha$  and intestine tissue SIgA levels of mice in each group

和肠黏膜损伤<sup>[19]</sup>。由图 4b) 和 c) 可知,相较于 CN 组,CTX 组的小肠绒毛出现了肿胀、变短、隐窝变浅、断裂严重等现象。相较于 CTX 组,LLDPS 组的小肠绒毛长度无明显改善( $P>0.05$ ),MLDPS 组和 HLDPS 组的小肠绒毛肿胀程度降低,绒毛长度显著增长( $P<0.05$ )。由图 4d) 可知,CTX 组的小肠绒毛长度与隐窝深度的比值较 CN 组显著降低( $P<0.05$ ),而 LDPS 干预组与 CN 组均无显著性差异( $P>0.05$ )。这表明 CTX 可致正常小鼠的肠道机械屏障损伤,而 LDPS 干预能在一定程度上改善肠道绒毛形态。

## 2.5 小肠紧密连接蛋白表达分析

黏膜是机体最大的免疫组织,处于被大量抗原包围的状态,具备防御肠内致炎因子及致病微生物入侵的功能。肠黏膜上皮细胞之间的主要连接方式为紧密连接,而紧密连接蛋白是由闭锁蛋白(Occludin)、胞质紧密粘连蛋白(Claudin)及闭锁

小带蛋白(Zonula Occludens, ZO)家族组成,其表达量是反映肠道紧密连接屏障和通透性功能的重要指标<sup>[20]</sup>。LDPS 对小鼠紧密连接蛋白表达的影响如图 5 所示。由图 5 可知,相较于 CN 组,CTX 组的 Claudin-1、ZO-1 相对表达量分别降低了 52.24% 和 39.68% ( $P<0.05$ ),这表明 CTX 可通过降低紧密连接蛋白表达量使肠道黏膜受损。经 LDPS 干预后,MLDPS 组和 HLDPS 组的 Claudin-1 相对表达量分别较 CTX 组显著提高了 45.36% ( $P<0.05$ ) 和 62.89% ( $P<0.01$ )。除了 LLDPS 组,MLDPS 组和 HLDPS 组的 ZO-1 相对表达量分别比 CTX 组提高了 30.31% 和 31.35% ( $P<0.05$ )。因此,LDPS 干预可通过提高小肠紧密连接蛋白的相对表达量来调节肠道渗透能力,进而调节肠道免疫。H. Ma 等<sup>[21]</sup>的研究也发现,黄蘑菇多糖可通过上调免疫抑制小鼠 Claudin-1、ZO-1 的相对表达水平,增强肠道屏障功能。

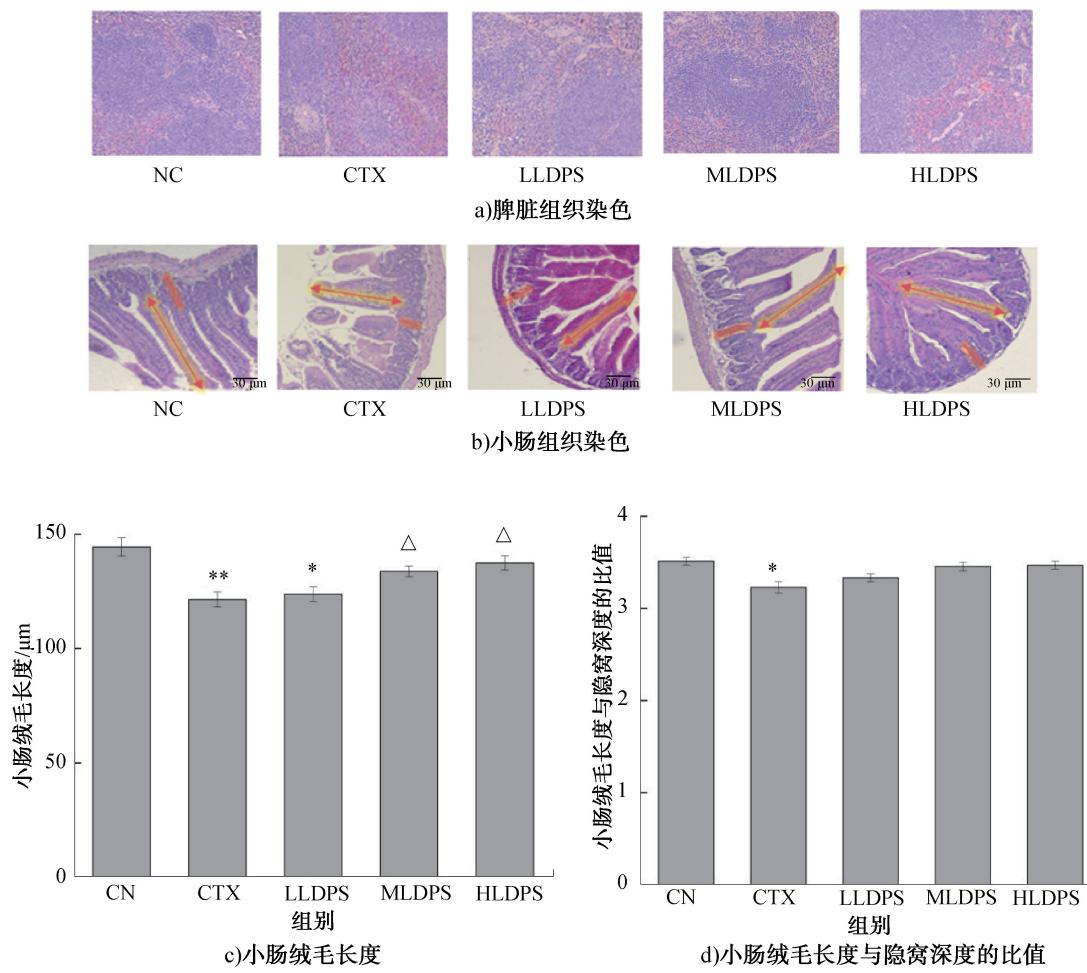


图 4 LDPS 对小鼠脾脏和小肠组织病理形态的影响( $\times 200$ )

Fig. 4 Effects of LDPS on splenic and intestinal histomorphology( $\times 200$ )

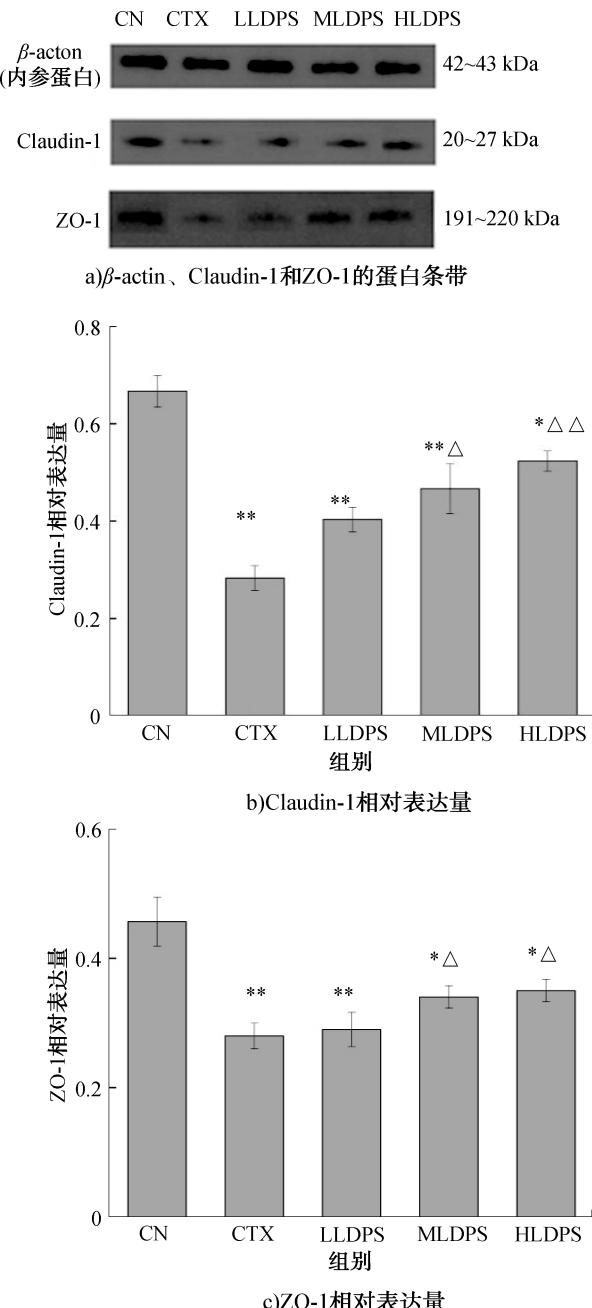


图 5 LDPS 对小鼠紧密连接蛋白表达的影响

Fig. 5 Effects of LDPS on tight junction protein expression levels

## 2.6 肠道菌群分析

肠道菌群由数万亿细菌组成,它们可以通过与植物多糖相互作用产生有益代谢物来调节宿主免疫<sup>[22]</sup>。经 LDPS 干预后, HLDPS 组的免疫效果最好,因此选取 HLDPS 组作为 LDPS 干预的代表进行 16S rDNA 测序,共获得 1 027 052 条序列 Reads,再将双端 Reads 质控、拼接后,共获得 1 026 693 条 Clean Reads,每个样品至少获得 88 665 条 Clean Reads,平均获得 102 669 条 Clean Reads。肠道菌群

检测结果如图 6 所示。Sobs 稀释曲线可直接反映测序数据量的完整性,并间接反映样品物种的丰富度。由图 6a)可知,在随机抽取的测序数量>40 000 种时,Sobs 稀释曲线趋于平缓,表明测序数量合理。当测序数量≥60 000 种时,微生物群落 OTUs 数目表现为 CN 组>HLDPS 组>CTX 组。

**2.6.1 肠道菌群多样性分析**  $\alpha$  多样性指数可评估肠道菌群的丰富性和多样性<sup>[23]</sup>。其中 Chao1 用于衡量物种丰度,即物种数量的多少。Shannon 和 Simpson 指数用于衡量物种多样性,受样品群落中物种丰度和物种均匀度的影响;Shannon 和 Simpson 指数越大,表明样品的物种多样性越高。在相同物种丰度下,群落中各物种的均匀度越大,则认为群落的多样性越丰富。由图 6b)–d) 可知,与 CN 组相比,CTX 组中 Chao1 指数显著降低 ( $P<0.05$ ),而经高剂量 LDPS 干预后,除了 Simpson 指数无显著变化,Chao1 和 Shannon 指数均显著升高 ( $P<0.05$ ),表明高剂量 LDPS 干预能恢复肠道菌群多样性。

$\beta$  多样性可度量不同样本之间菌群组成的相似性。其中主坐标分析(Principal Coordinates Analysis, PCoA)结果可展示样品之间的关系,评估样品分组情况及组内重复性;样品越相似,则样品在 PCoA 图中的距离越近,而不同环境样品之间往往可能表现出各自聚集的分布情况。非加权组平均法(Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean, UPGMA)可用于研究样品之间的相似性,样品越相似,拥有的共同分支越短<sup>[24]</sup>。由图 6e) 和 f) 可知,CTX 组的肠道菌群组成与其他各组存在明显差异,表明经 CTX 诱导的免疫抑制小鼠的肠道菌群组成发生了明显变化;CN 组与 HLDPS 组样本之间的距离相近,表明高剂量 LDPS 干预可逆转 CTX 诱导引起的小鼠肠道菌群组成改变,使肠道菌群组成恢复正常。

**2.6.2 肠道菌群组成分析** 门水平上的物种相对丰度分布如图 7 所示,仅展示各样品相对丰度排名前 10 的物种,下同。由图 7 可知,各组小鼠的肠道菌群主要由厚壁菌门(Bacillota)和拟杆菌门(Bacteroidota)组成,占菌落总数的 90% 以上。其中,HLDPS 组中厚壁菌门占 59.70%,拟杆菌门占 36.49%;而 CTX 组中厚壁菌门占 64.44%,拟杆菌

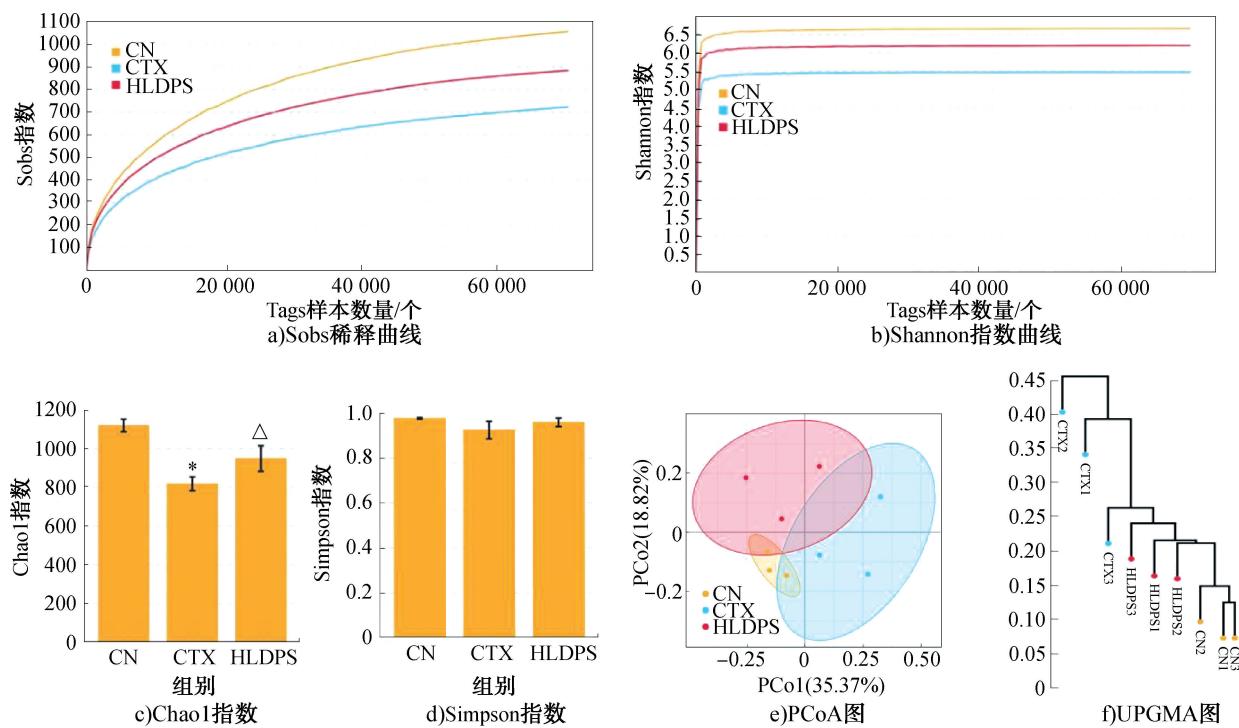


图 6 肠道菌群检测结果

Fig. 6 Results of gut microbiota analysis

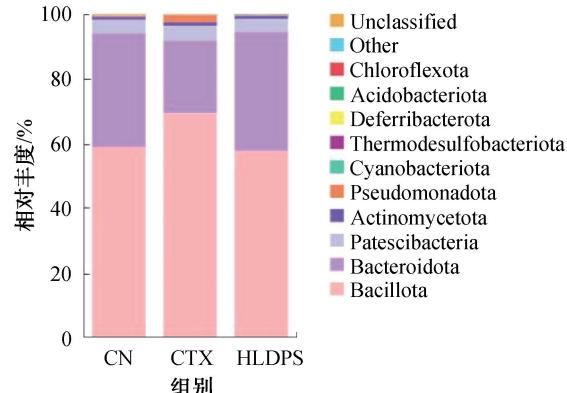


图 7 门水平上的物种相对丰度分布

Fig. 7 Species relative abundance at the phylum level

门占 28.37%。经高剂量 LDPS 干预后,厚壁菌门的相对丰度下降了 7.34% ( $P > 0.05$ ) ,拟杆菌门的相对丰度提高了 31.05% ( $P > 0.05$ ) 。研究<sup>[25]</sup>表明,拟杆菌门可通过多项机制调节免疫,如可以通过产生代谢产物丁酸盐等 SCFAs 调节 IL-10、IL-4 等细胞因子生成,抑制 Th17 细胞活性,进而减少炎症反应;其中,脆弱拟杆菌 (*Bacteroides fragilis*) 作为拟杆菌门中的重要成员之一,其在免疫调节中的作用尤为显著,例如,J. M. Wu 等<sup>[26]</sup>研究发现,脆弱拟杆菌能通过激活 TLR2/TLR4 信号通路,增强 CD47 阻断疗法的抗肿瘤效果。厚壁菌门占比的增加与肥胖、代谢

综合征等疾病密切相关,而这些疾病的发生往往伴随着免疫功能紊乱。拟杆菌门与杆菌门的比值通常被用来反映肠道菌群的平衡状态,在健康状态下,该比值较高,这有助于维持免疫系统的正常功能;当该比值失衡时,如拟杆菌减少或杆菌增加,可能会导致免疫功能异常,甚至引发炎症性疾病<sup>[27]</sup>。

科水平上的物种相对丰度分布如 8 所示。由图 8a) 和 b) 可知,毛螺菌科 (*Lachnospiraceae*) 和鼠杆菌科 (*Muribaculaceae*) 在各组中的占比均较高。与 CN 组相比,CTX 组毛螺菌科和鼠杆菌科的相对丰度分别显著下降了 33.35% 和 43.16% ( $P > 0.05$ ) ,而经高剂量 LDPS 干预后,这 2 个科的相对丰度分别显著提升了 36.11% 和 64.51% ( $P > 0.05$ ) 。毛螺菌科能参与多种碳水化合物的代谢,发酵产生的乙酸和丁酸可调节宿主免疫和炎症反应<sup>[28]</sup>。有研究<sup>[29]</sup>发现,毛螺菌科有助于人体对抗艰难梭菌感染。X. S. Zhang 等<sup>[30]</sup>的研究则发现,毛螺菌科家族细菌 *Ruminococcus gnavus* (Rg) 和 *Blautia producta* (Bp) 作为肿瘤抑制因子,可激活免疫系统,即毛螺菌科细菌能通过促进肿瘤免疫监测来防止结直肠癌的发生。鼠杆菌科属于拟杆菌门拟杆菌目,在肠道的能量代谢、血糖血脂调控等方面具有重要作用<sup>[31]</sup>。J. M. Huang 等<sup>[32]</sup>研究发现,人参多糖通过

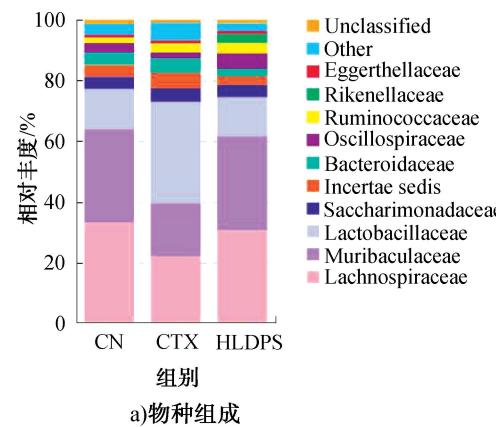
调节鼠杆菌(*Muribaculum*)等细菌来增强抗PD-1抗体的抗肿瘤反应,改善免疫抑制微环境。

由图8c)可知,高剂量LDPS干预还能显著增加理研菌科(*Rikenellaceae*)的相对丰度。理研菌科细菌是肠道菌群中重要的产SCFAs菌,且与炎症缓解有关。Z. H. Ji等<sup>[33]</sup>研究发现,康普茶多糖可以使溃疡性结肠炎患者的理研菌科相对丰度上调。孙思燕<sup>[12]</sup>研究发现,用高剂量LDPS干预结肠炎小鼠,能显著提升理研菌科的相对丰度。因此,高剂量LDPS可能通过提高理研菌科的相对丰度来发挥抗炎作用,以保护肠道屏障免受CTX破坏。

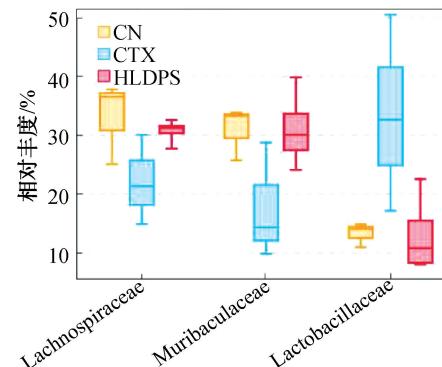
属水平上的物种相对丰度分布如图9所示。由图9可知,与CN组相比,CTX组中*Lachnospiraceae\_NK4A136\_group*的相对丰度下降了32.17% ( $P > 0.05$ ),而经高剂量LDPS干预后,该菌属的相对丰度显著提升了93.49% ( $P < 0.01$ )。有研究<sup>[34]</sup>表明,多糖可以通过提升*Lachnospiraceae\_NK4A136\_group*的相对丰度来促进肠道免疫,且该菌属与氨基酸和卟啉类代谢物浓度呈正相关。此外,经CTX诱导后,乳杆菌属(*Lactobacillus*)异常增多( $P < 0.05$ ),菌群出现紊乱,而经高剂量LDPS干预后,乳杆菌属的相对丰度趋于正常。适量的乳杆菌属有利于肠道健康,但过量可能会干扰其他营养物质的正常吸收,且可能导致腹胀、腹泻等不良反应。与其他组相比,经高剂量LDPS干预后,另枝菌属(*Alistipes*)的相对丰度显著增加( $P < 0.05$ )。另枝菌属是拟杆菌门中的一类革兰氏阴性细菌,属于益生菌,对肝纤维化、癌症免疫和心血管疾病具有治疗作用;此外,该属细菌生产的乙酸盐可通过抗炎和免疫抑制作用有效稳定肠道内环境<sup>[35]</sup>。经CTX诱导后,葡萄球菌属(*Staphylococcus*)的相对丰度显著升高( $P < 0.01$ ),而经高剂量LDPS干预后,葡萄球菌属的相对丰度明显下降( $P < 0.01$ )。大多数葡萄球菌为非致病菌,但少数可导致相关疾病,且一般为凝固酶阳性葡萄球菌,例如,金黄色葡萄球菌是最常见的化脓性球菌,也是医院交叉感染的重要来源;而人葡萄球菌(*Staphylococcus hominis*)是凝固酶阴性葡萄球菌中第三大常见病原体,可在新生儿和免疫抑制的成人血液中引起机会性感染<sup>[36]</sup>。近年来,由人葡萄球菌引起的菌血症、败血症、眼内炎和心内膜炎的报告病例数量显著增加<sup>[37]</sup>。因此,CTX可能会

促进葡萄球菌属中致病菌的增殖,而高剂量LDPS干预能有效抑制该致病菌的增殖。

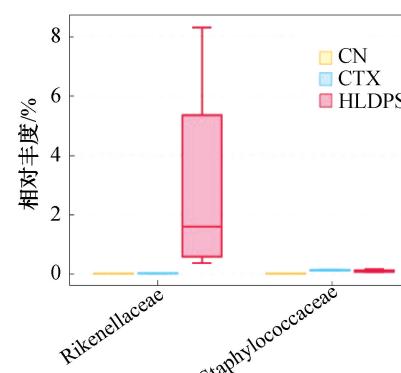
**2.6.3 肠道菌群与IL-2、TNF-α、SIgA及紧密连接蛋白之间的相关性分析** 利用相关系数Spearman等评估不同水平的肠道菌群与环境变量之间的相关性,可获得二者的相关性系数,而利用热图能直观地展现数值矩阵<sup>[38]</sup>。肠道菌群与IL-2、TNF-α、SIgA及紧密连接分子之间相关性的热图如图10所示。由图10可知,毛螺菌科、鼠杆菌科、*Lachnospiraceae*



a)物种组成



b)差异物种Turkey HSD检验



c)差异物种KW(Kruskal-Wallis test)秩和检验

图8 科水平上的物种相对丰度分布

Fig. 8 Species relative abundance at the family level

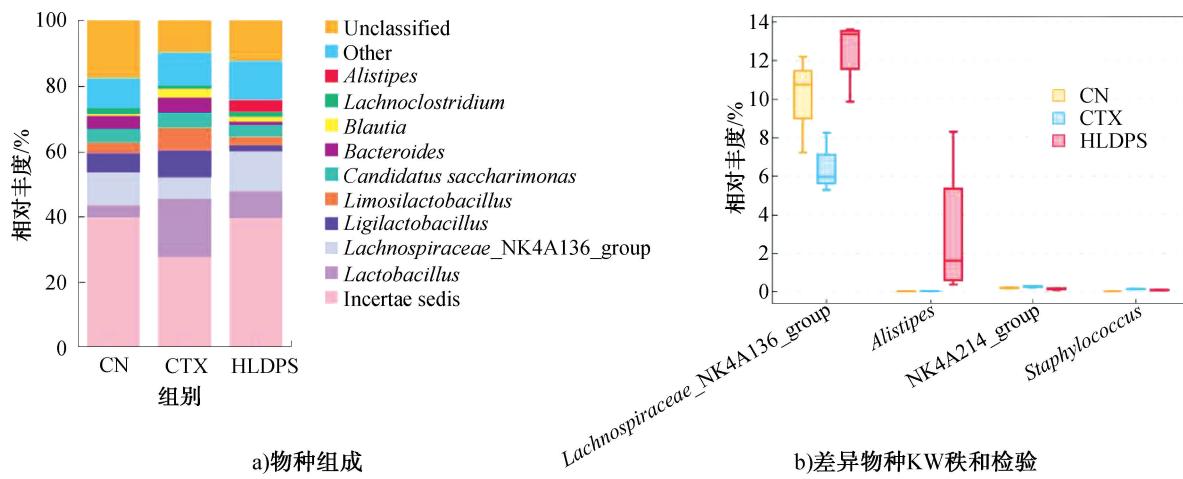
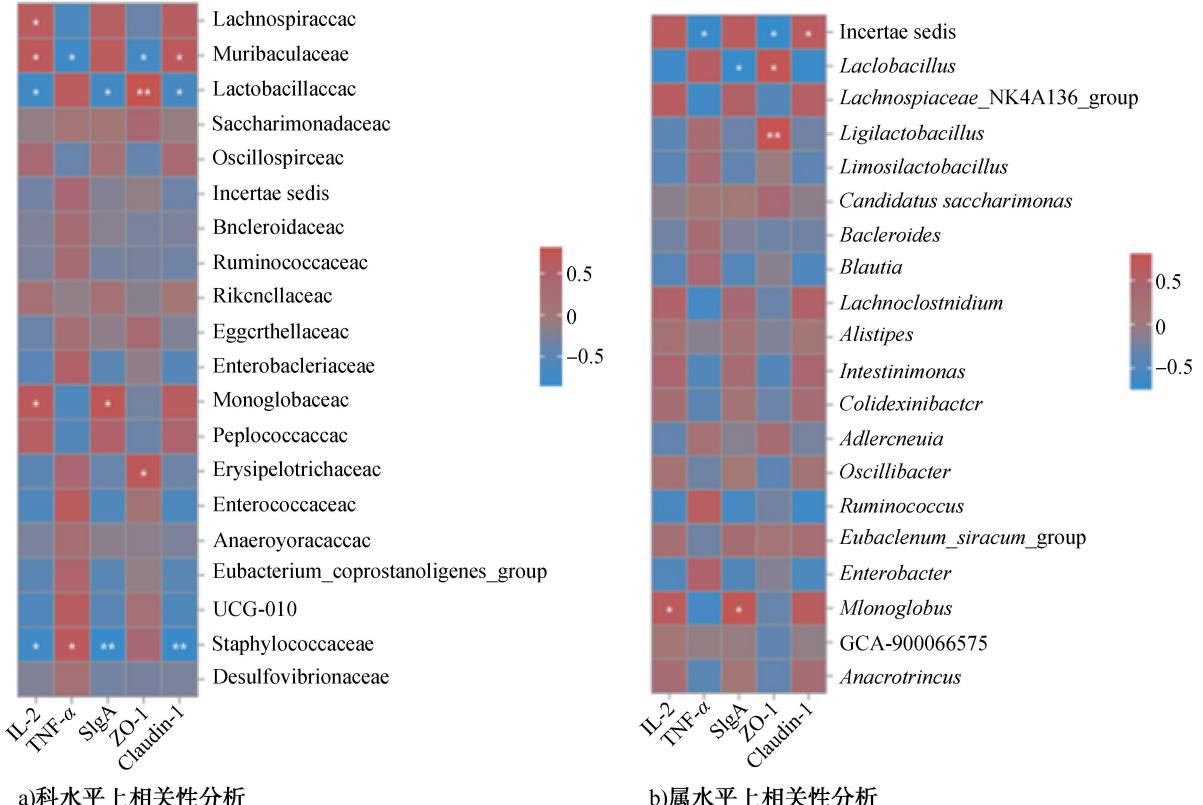


图 9 属水平上的物种相对丰度分布

Fig. 9 Species relative abundance at the genus level

图 10 肠道菌群与 IL-2、TNF- $\alpha$ 、SIgA 及紧密连接分子之间相关性的热图Fig. 10 Heatmap of correlations between gut microbiota and IL-2, TNF- $\alpha$ , SIgA, and tight junction proteins

NK4A136\_group 都与 IL-2、SIgA 和 Claudin-1 呈正相关,与 TNF- $\alpha$  和 ZO-1 呈负相关,且鼠杆菌科与 IL-2、Claudin-1、TNF- $\alpha$  和 ZO-1 的相关性更显著。X. W. Xiang 等<sup>[39]</sup>的研究也发现,鼠杆菌科与 Claudin-1 和 IL-2 呈正相关。H. Ma 等<sup>[21]</sup>研究发现, *Lachnospiraceae\_NK4A136\_group* 与 SIgA 呈正相关 ( $P<0.001$ )。此外,葡萄球菌科(Staphylococcaceae)

与 IL-2 ( $P<0.05$ )、Claudin-1 ( $P<0.01$ ) 和 SIgA ( $P<0.01$ ) 呈负相关。Z. Q. Li 等<sup>[40]</sup>研究发现,加入木糖葡萄球菌(*Staphylococcus\_xylosus*)和缓慢葡萄球菌(*Staphylococcus\_lentus*)培养物后,Claudin-1、Claudin-3 和相关蛋白表达下降,表明葡萄球菌科细菌的增殖会改变肠道通透性,进而破坏肠道屏障。在本研究中,CTX 组葡萄球菌属的相对丰度显著增加,而经

高剂量 LDPS 干预后,该致病菌属显著下降,表明高剂量 LDPS 可能通过降低肠道中葡萄球菌属致病菌的定殖来修复肠道屏障。

### 3 结论

本文建立了 CTX 诱导小鼠免疫抑制模型,探讨了 LDPS 改善免疫抑制小鼠的免疫及肠道菌群的作用机制,得到如下结论:与 CTX 组相比,LDPS 干预有助于恢复小鼠的体质量和采食量,提高小鼠的脾脏指数和胸腺指数,改善小鼠脾脏、胸腺损伤及肠道绒毛形态;提高小鼠血清 IL-2 含量、小肠组织 SIgA 含量及 Claudin-1 和 ZO-1 相对表达量,降低小鼠血清 TNF- $\alpha$  含量。16S rDNA 测序和 Spearman 相关性分析表明,LDPS 可以通过重塑特异性肠道菌群来修复肠道屏障和提高免疫。与 CTX 组相比,高剂量 LDPS 干预能提高拟杆菌门、毛螺菌科和鼠杆菌状菌科的相对丰度,并显著提高 *Lachnospiraceae\_NK4A136\_group*、理研菌科、另枝菌属等有益菌的相对丰度,降低潜在致病菌葡萄球菌的相对丰度。综上所述,LDPS 在一定程度上能提高免疫抑制小鼠的免疫水平,并通过间接促进小肠组织 SIgA 的分泌及增加连接蛋白分子水平来修复 CTX 诱导的肠道屏障损伤,同时恢复肠道菌群环境并使其趋于正常。本研究结果不仅可为 LDPS 作为免疫调节剂的应用提供科学依据,也能为阐释多糖通过调节肠道菌群来影响宿主健康机制提供参考。未来将结合网络药理学分析预测与免疫相关通路,并通过动物实验证 LDPS 与肠道菌群的相互作用机制,以期为开发新的免疫调节策略和治疗免疫相关疾病提供潜在靶点。

### 参考文献:

- [1] 王碧卿. 鹿茸菇的栽培现状与营养保健价值[J]. 食品安全导刊, 2023(6): 104-106.  
WANG B Q. The cultivation status and nutrition and health care value of *Lyophyllum decastes* [J]. China Food Safety Magazine, 2023(6): 104-106.
- [2] 李文皎, 温世勇, 张洪勇, 等. 鹿茸菇研究进展[J]. 中国食用菌, 2022, 41(3): 1-5.  
LI W J, WEN S Y, ZHANG H Y, et al. Research progress of *Lyophyllum decastes* [J]. Edible Fungi of China, 2022, 41(3): 1-5.

- [3] 贾宁. 荷叶离褶伞多糖对小鼠免疫功能影响和抗氧化作用研究[C]//中国畜牧兽医学会兽医病理学分会第十六次学术研讨会、中国病理生理学会动物病理生理专业委员会第十五次学术研讨会论文集. 泰安, 2009: 371.  
JIA N. Study on the effects of *Lyophyllum decastes* (Fr. : Fr.) Sing. polysaccharides on immune function and antioxidant activity in mice [C]//Proceedings of the 16 th Academic Symposium of the Veterinary Pathology Branch of the Chinese Association of Animal Science and Veterinary Medicine & the 15 th Academic Symposium of the Animal Pathophysiology Professional Committee of the Chinese Association of Pathophysiology. Tai' an, 2009: 371.
- [4] 刘影. 荷叶离褶伞菌多糖的结构鉴定及生物活性研究[D]. 南充: 西华师范大学, 2019.  
LIU Y. The studies on structure identification, biological activity of polysaccharide (LDS-1) from *Lyophyllum decastes* (Fr. : Fr.) Sing [D]. Nanchong: West Normal University, 2019.
- [5] MA Y S, WANG Q. Structural characterization of a polysaccharide from *Lyophyllum decastes* with MAPK-mediated immune regulation ability in mice [J]. Food Science and Technology, 2023, 43: e003523.
- [6] 任丽蓉, 樊莹润, 李泽林, 等. 金耳多糖对环磷酰胺诱导免疫低下小鼠的保护作用[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(9): 85-90.  
REN L R, FAN Y R, LI Z L, et al. Protective effect of *Tremella aurantialba* polysaccharide on cyclophosphamide-induced immunocompromised mice [J]. Food Research and Development, 2023, 44(9): 85-90.
- [7] 张家豪, 吕冰洁, 程翔. 肠道菌群通过调节免疫细胞参与肠外疾病的研究进展[J]. 中华内科杂志, 2024, 63(1): 100-106.  
ZHANG J H, LYU B J, CHENG X. Research progress of intestinal flora participating in extraintestinal diseases by regulating immune cells [J]. Chinese Journal of Internal Medicine, 2024, 63(1): 100-106.
- [8] LI Y N, ZHENG J P, WANG Y, et al. Immuno-stimulatory activity of *Astragalus* polysaccharides in cyclophosphamide-induced immunosuppressed mice by regulating gut microbiota [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 242: 124789.
- [9] HAN X, BAI B Y, ZHOU Q, et al. Dietary supplementation with polysaccharides from *Ziziphus Jujuba* cv. Pozao intervenes in immune response via regulating peripheral immunity and intestinal barrier function in cyclophosphamide-induced mice [J]. Food & Function, 2020, 11(7): 5992-6006.
- [10] 刘长江, 叶亚龙, 孙凤祥, 等. 环磷酰胺诱导小鼠免疫功能低下模型建立与评价[J]. 潍坊医学院学报, 2015, 37(1): 4-6.  
LIU C J, YE Y L, SUN F X, et al. Establishment and evaluation of immunocompromised mice model induced by

- cyclophosphamidein [ J ]. Acta Academiae Medicinae Weifang, 2015, 37(1) : 4-6.
- [11] 加拿大动物管理委员会编. 宋克静等译. 实验用动物管理与使用指南 [ M ]. 北京: 原子能出版社, 1993.
- Compiled by the Canadian Animal Management Commission. Translated by SONG K J et al. Laboratory animal management and use guidelines [ M ]. Beijing: Atomic Energy Publishing House, 1993.
- [12] 孙思燕. 荷叶离褶伞多糖结构、消化特性及结肠炎抑制作用研究 [ D ]. 南京: 南京农业大学, 2020.
- SUN S Y. Study on the structure, digestive characteristics and colitis inhibition effect of polysaccharides from *Lyophyllum decastes* [ D ]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2020.
- [13] 李晓冰, 陈俊平, 张月腾, 等. 天麻多糖对环磷酰胺所致免疫功能低下小鼠体液免疫功能的影响 [ J ]. 中国老年学杂志, 2016, 36(5) : 1027-1028.
- LI X B, ZHAN J P, ZHANG Y T, et al. Effect of polysaccharide from *Gastrodia Elata B1* on humoral immune function in immunosuppressed mice induced by cyclophosphamide [ J ]. Chinese Journal of Gerontology, 2016, 36(5) : 1027-1028.
- [14] LI Q, CHEN G Y, CHEN H, et al. Se-enriched *G. frondosa* polysaccharide protects against immunosuppression in cyclophosphamide-induced mice via MAPKs signal transduction pathway [ J ]. Carbohydrate Polymers, 2018, 196: 445-456.
- [15] GUPTA U, HIRA S K, SINGH R, et al. Essential role of TNF- $\alpha$  in gamma c cytokine aided crosstalk between dendritic cells and natural killer cells in experimental murine lymphoma [ J ]. International Immunopharmacology, 2020, 78: 106031.
- [16] 李钦, 范强, 胡继宏, 等. 富硒黄芪提取物对免疫抑制大鼠细胞因子 IL-2、IL-4、IFN- $\gamma$  及 TNF- $\alpha$  的影响 [ J ]. 西部中医药, 2018, 31(3) : 22-25.
- LI Q, FAN Q, HU J H, et al. The effects of extract of selenium-enriched *Astragalus membranaceus* on cytokines IL-2, IL-4, IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  of immunosuppressive rats [ J ]. Western Journal of Traditional Chinese Medicine, 2018, 31(3) : 22-25.
- [17] HUANG J, HUANG J L, LI Y, et al. Sodium alginate modulates immunity, intestinal mucosal barrier function, and gut microbiota in cyclophosphamide-induced immunosuppressed BALB/c mice [ J ]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69 ( 25 ) : 7064-7073.
- [18] PIETRZAK B, TOMELA K, OLEJNIK-SCHMIDT A, et al. Secretory IgA in intestinal mucosal secretions as an adaptive barrier against microbial cells [ J ]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(23) : 9254.
- [19] TANG C, DING R X, SUN J, et al. The impacts of natural polysaccharides on intestinal microbiota and immune responses: A review [ J ]. Food & Function, 2019, 10 ( 5 ) : 2290-2312.
- [20] 汤震, 顾丽霞, 相兴伟, 等. 硒化低聚氨基多糖对免疫抑制小鼠免疫器官及肠紧密连接蛋白表达的影响 [ J ]. 食品科学, 2019, 40(21) : 171-176.
- TANG Z, GU L X, XIANG X W, et al. Effect of low-molecular-mass seleno-aminopolysaccharide on histomorphology and expression of tight junction proteins in immunocompromised mice [ J ]. Food Science, 2019, 40(21) : 171-176.
- [21] MA H, MUEED A, MA Y X, et al. Fecal microbiota transplantation activity of *Floccularia Luteovirens* polysaccharides and their protective effect on cyclophosphamide-induced immunosuppression and intestinal injury in mice [ J ]. Foods, 2024, 13(23) : 3881.
- [22] KIM H J, LEE J S, KIM S C, et al. Immunostimulating activity of *Lycium chinense* Miller root extract through enhancing cytokine and chemokine production and phagocytic capacity of macrophages [ J ]. Journal of Food Biochemistry, 2020, 44(6) : e13215.
- [23] 杨克铃, 彭梅, 杨小生, 等. 冬荪多糖对免疫抑制小鼠免疫功能的影响 [ J ]. 食品研究与开发, 2024, 45(11) : 30-38.
- YANG K L, PENG M, YANG X S, et al. Effects of polysaccharides from *Phallus inopadicu* on the immune function of immunosuppressed mice [ J ]. Food Research and Development, 2024, 45(11) : 30-38.
- [24] 胡哲, 王树东, 董宝强, 等. 基于 16S rDNA 探针电针对膝骨关节炎兔模型肠道菌群的影响 [ J ]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(11) : 89-95.
- HU Z, WANG S D, DONG B Q, et al. Effect of electroacupuncture on intestinal flora of rabbit model of knee osteoarthritis based on 16S rDNA [ J ]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2024, 26(11) : 89-95.
- [25] HOGENOVÁ H T, ZÁKOSTELSKÁ Z J, PETANOVÁ J, et al. Microbiota, immunity and immunologically-mediated diseases [ J ]. Vnitřní Lekárství, 2019, 65(2) : 98-107.
- [26] WU J M, WANG S, ZHENG B, et al. Modulation of gut microbiota to enhance effect of checkpoint inhibitor immunotherapy [ J ]. Frontiers in Immunology, 2021, 12: 669150.
- [27] MAGNE F, GOTTELAND M, GAUTHIER L, et al. The firmicutes/bacteroidetes ratio: A relevant marker of gut dysbiosis in obese patients? [ J ]. Nutrients, 2020, 12(5) : 1474.
- [28] LI Z, XING J Y, MA X H, et al. An orally administered bacterial membrane protein nanodrug ameliorates doxorubicin cardiotoxicity through alleviating impaired intestinal barrier [ J ]. Bioactive Materials, 2024, 37: 517-532.
- [29] TEJADA J N, WALTERS W A, WANG Y L, et al. Prevention and cure of murine *C. difficile* infection by a Lachnospiraceae strain [ J ]. Gut Microbes, 2024, 16 ( 1 ) : 2392872.

- [30] ZHANG X S, YU D, WU D, et al. Tissue-resident Lachnospiraceae family bacteria protect against colorectal carcinogenesis by promoting tumor immune surveillance [J]. *Cell Host & Microbe*, 2023, 31(3): 418–432.e8.
- [31] ZHU Y Q, CHEN B R, ZHANG X Y, et al. Exploration of the Muribaculaceae family in the gut microbiota: Diversity, metabolism, and function [J]. *Nutrients*, 2024, 16(16): 2660.
- [32] HUANG J M, LIU D, WANG Y W, et al. Ginseng polysaccharides alter the gut microbiota and kynurenine/tryptophan ratio, potentiating the antitumour effect of antiprogrammed cell death 1/programmed cell death ligand 1 (anti-PD-1/PD-L1) immunotherapy [J]. *Gut*, 2022, 71(4): 734–745.
- [33] JI Z H, XIE W Y, ZHAO P S, et al. Kombucha polysaccharide alleviates DSS-induced colitis in mice by modulating the gut microbiota and remodeling metabolism pathways [J]. *Frontiers in Microbiomes*, 2024, 3: 1341824.
- [34] WU X C, HUANG X J, MA W N, et al. Bioactive polysaccharides promote gut immunity via different ways [J]. *Food & Function*, 2023, 14(3): 1387–1400.
- [35] PARKER B J, WEARSCH P A, VELOO A C M, et al. The genus *Alistipes*: Gut bacteria with emerging implications to inflammation, cancer, and mental health [J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 906.
- [36] CAI K, CAO X Y, CHEN F, et al. Xianlian Jiedu Decoction alleviates colorectal cancer by regulating metabolic profiles, intestinal microbiota and metabolites [J]. *Phytomedicine*, 2024, 128: 155385.
- [37] TAKEUCHI T, NAKANISHI Y, OHNO H. Microbial metabolites and gut immunology [J]. *Annual Review of Immunology*, 2024, 42(1): 153–178.
- [38] 张方方. 鹿茸菇  $\beta$ -葡聚糖对肠道菌调节作用的研究 [D]. 上海: 上海应用技术大学, 2023.
- ZHANG F F. Effect of  $\beta$ -glucan from *Lyophyllum decastes* (Fr.) Singer on gut microbiota [D]. Shanghai: Shanghai Institute of Technology, 2023.
- [39] XIANG X W, ZHENG H Z, WANG R, et al. Ameliorative effects of peptides derived from oyster (*Crassostrea gigas*) on immunomodulatory function and gut microbiota structure in cyclophosphamide-treated mice [J]. *Marine Drugs*, 2021, 19(8): 456.
- [40] LI Z Q, DONG J X, WANG M, et al. Resveratrol ameliorates liver fibrosis induced by nonpathogenic *Staphylococcus* in BALB/c mice through inhibiting its growth [J]. *Molecular Medicine*, 2022, 28(1): 52.

## Effects of *Lyophyllum decastes* polysaccharides on immune activity and gut microbiota homeostasis in immunosuppressive mice

GAN Xiaokun<sup>1</sup>, CHEN Kunzhui<sup>1</sup>, SHEN Yingbin<sup>1</sup>, ZHANG Lei<sup>2</sup>, LI Zhan<sup>3</sup>

1. College of Life Sciences, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China;

2. College of Forestry and Landscape Architecture, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China;

3. Chengdu Jinjiang Wutongfeng Traditional Chinese Medicine Clinic Co., Ltd., Chengdu 610066, China

**Abstract:** 【Objective】 To investigate the immunomodulatory effects of *Lyophyllum decastes* polysaccharides (LDPS) on immune activity and gut microbiota dynamics in immunosuppressive mice. 【Methods】 An immunosuppressive mouse model was established via cyclophosphamide (CTX) administration. Following 20-day gavage of LDPS at varying doses, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), hematoxylin-eosin (H&E) staining, Western blotting (WB), and 16S rDNA sequencing were employed to assess thymus/spleen indices, serum cytokines (IL-2/TNF- $\alpha$ ), intestinal secretory immunoglobulin A (SIgA) levels, histopathological changes, tight junction protein (Claudin-1/ZO-1) expression, and gut microbiota composition. 【Results】 LDPS administration restored body mass/food intake and ameliorated splenic, thymic, and small intestinal tissue damage. Compared to the CTX model group, medium-dose (MLDPS) and high-dose (HLDPS) LDPS groups showed significantly elevated serum IL-2 levels ( $P < 0.05$ ) and small intestinal SIgA secretion, reduced TNF- $\alpha$  concentrations, and upregulated Claudin-1 (45.36%/62.89% increase) and ZO-1 (30.31%/31.35% increase) expression. High-dose LDPS significantly increased the relative abundance of beneficial taxa including *Lachnospiraceae\_NK4A136\_group* (93.49%), *Rikenellaceae*, and *Alistipes* ( $P < 0.05$ ), while decreasing potential pathogens like *Staphylococcus* ( $P < 0.05$ ), thereby reversing CTX-induced gut microbiota dysbiosis. 【Conclusion】 LDPS exhibits immunomodulatory effects in immunosuppressive mice, with mechanisms involving enhanced intestinal barrier function and restored gut microbiota homeostasis.

**Key words:** *Lyophyllum decastes* polysaccharide; immunity; gut microbiota; gut barrier