

大黄对十二烷基硫酸钠损伤的果蝇肠道干细胞活性的影响

巩媛, 金秋霞, 白建洋, 金丽华*

东北林业大学生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要:目的 探究大黄 *Rheum officinale* 提取物 (ROE) 对果蝇肠道干细胞 (ISC) 活性的影响。方法 对照组果蝇食用正常玉米粉-酵母培养基, 实验组果蝇食用含有 0.05 g/mL 或 0.1 g/mL ROE 的玉米粉-酵母培养基。对果蝇喂食有毒化合物诱导肠道损伤。分别检测分析果蝇的生存率、肠道前体细胞形态数目、ISC 的增殖与分化、活性氧自由基 (ROS) 水平、肠上皮死亡细胞数目以及果蝇的寿命。结果 0.05 g/mL 和 0.1 g/mL ROE 均可以提高肠道损伤后果蝇的生存率, 0.1 g/mL ROE 可以降低十二烷基硫酸钠 (SDS) 诱导后 ROS 的水平, 减少死亡细胞的数目, 抑制 ISC 的过度增殖与分化, 缓解前体细胞的过度积累, 维持肠道内稳态。此外 ROE 还可以延长果蝇寿命。结论 ROE 可以抑制 ISC 的过度增殖和分化, 增强果蝇肠道免疫功能, 延长果蝇寿命。

关键词: 大黄; 黑腹果蝇; 肠道干细胞; 十二烷基硫酸钠; 活性氧自由基

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)12-2466-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.12.016

Effect of *Rheum officinale* on activity of intestinal stem cells in *Drosophila melanogaster* induced by SDS toxicity

GONG Yuan, JIN Qiu-xia, BAI Jian-yang, JIN Li-hua

College of Life Science, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

Abstract: Objective To explore the effect of *Rheum officinale* extracts (ROE) on activity of intestinal stem cells of *Drosophila melanogaster*. **Methods** The control group was fed with normal cornmeal-yeast medium, and the experimental group was fed with cornmeal-yeast medium containing 0.05 or 0.1 g/mL ROE. In the experiment, the gut damage was induced by feeding *D. melanogaster* with toxic compounds. The effects of ROE on survival rate, number and morphology of progenitor cells, proliferation and differentiation of intestinal stem cells, expression of reactive oxygen species (ROS), number of intestinal epithelial dead cells and life span of *D. melanogaster* were detected and analyzed. **Results** ROE (0.05 and 0.1 g/mL) could increase the survival rate of *D. melanogaster* induced by toxic compounds. ROE (0.1 g/mL) could decrease SDS-induced ROS levels, reduce the number of intestinal epithelial dead cells, inhibit excessive proliferation and differentiation of intestinal stem cell, alleviate the excessive accumulation of progenitor cells, thereby maintain homeostasis in the gut. In addition, ROE could prolong the lifespan of *D. melanogaster*. **Conclusion** ROE can inhibit excessive proliferation and differentiation of intestinal stem cells, enhance gut immune function, and prolong the life span of *D. melanogaster*.

Key words: *Rheum officinale* Baill; *Drosophila melanogaster*; intestinal stem cells; sodium dodecyl sulfate; reactive oxygen species

肠上皮细胞经常暴露于各种病原微生物和有毒化合物的环境中, 是机体抵抗致病性微生物入侵和系统传播的强大屏障^[1]。黑腹果蝇是一个非常典型的用于发育和疾病的模型, 其具有相对简单的组织结构、遗传的可操作性和调控信号通路的保守性等优势^[2]。

果蝇肠道免疫十分复杂。免疫应答最初依赖于活性氧自由基 (reactive oxygen species, ROS) 和抗菌肽 (antimicrobial peptides, AMPs) 的产生与释放之间的动态平衡^[3]。ROS 的产生是通过双氧化酶 (DUOX) 的活性和诱导通路来完成的, 能帮助机体抵抗大部分外来微生物的侵袭^[4]。ROS 能破坏

收稿日期: 2016-12-17

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金 (2572016EJ4)

作者简介: 巩媛 (1990—), 女, 硕士研究生, 研究方向为果蝇天然免疫。Tel: 18545161417 E-mail: 18545161417@163.com

*通信作者 金丽华 Tel: 15046109867 E-mail: lhjin2000@hotmail.com

DNA、RNA 和蛋白质,促进脂类细胞膜的氧化降解,同时也能促进肠道干细胞的增殖^[5]。但是过量的 ROS 可以破坏肠道上皮细胞,打破肠道内稳态。除此之外,AMPs 的产生在诱导型的防御机制中起到重要的作用,特别是在对 ROS 具有抗性的微生物的免疫应答中^[4]。

在健康的成虫果蝇中,果蝇肠道细胞数量是通过肠道干细胞(intestinal stem cells, ISC)的增殖和分化进行调控^[6]。在果蝇中肠中,细胞更新的机制与哺乳动物的小肠上皮细胞相似。ISC 可以进行不对称分裂产生 1 个成肠细胞(enteroblast, EB)和 1 个新的 ISC,或是进行对称分裂产生 2 个新的 ISC 或 2 个 EB^[7]。1 个 EB 细胞可以进一步分化产生 1 个吸收型的肠细胞(absorptive enterocytes, EC),1 个分泌型肠细胞(secretory enteroendocrine cells, EE)。分化产生的这 2 种细胞都不能再进行分化,最终细胞死亡,被新的细胞所代替^[7-10]。不同于生理条件下经历快速更新的哺乳动物肠道细胞,在正常稳态下,果蝇肠道细胞周期更新缓慢。然而,为了应对由遗传细胞消融、化学喂养或细菌感染引起的组织损伤,中肠可以启动再生机制以加速 ISC 分裂和谱系分化,从而有效补充受损细胞^[6,11-14]。

大黄来源于蓼科植物药用大黄 *Rheum officinale* Baill.、掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. 和唐古特大黄 *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf. 的干燥根和茎^[15]。其主要分布在我国青海、四川西部、陕西、甘肃东南部以及云南和西藏东部。大黄作为一种传统的常用中药材被收入《中国药典》中,其药用历史悠久,药效明显,使用广泛。大黄中含有多种药效活性成分,其中研究较多的包括蒽醌类、二蒽酮类、多糖类、芪类和鞣质等。现代药理研究表明大黄具有止血、导泻、保肝、利胆、抗炎、抗菌、抗病毒、抗肿瘤、调血脂等多种生理活性^[16-17]。

本实验以果蝇为模型生物,通过喂食有毒化合物诱导果蝇肠道损伤,分别从生存率、果蝇肠道前体细胞形态和数目、ISC 的增殖分化、死亡细胞数目、ROS 的水平以及果蝇寿命等方面进行分析比较。主要探讨大黄提取物(ROE)对十二烷基磺酸钠(SDS)诱导的 ISC 活性的影响,从而为探讨大黄在肠道免疫中的疗效提供基础和依据。

1 材料

1.1 动物

野生型黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*

Meigen w¹¹¹⁸ 购自于美国 Bloomington 果蝇储存中心。转基因型黑腹果蝇 *esg-Gal4 UAS-GFP* 由北京生命科学研究所以裘荣文教授馈赠、*Delta-Gal4 UAS-GFP* 由 Bruno Lemaitre 教授馈赠。果蝇生长在温度为(25.0±0.5)℃、相对湿度 60%~70%的 12 h 昼夜循环的环境中。实验中,使用雌果蝇的中后肠进行分析。

1.2 药材与试剂

大黄购自于黑龙江省哈尔滨市人民同泰药店,经东北林业大学生命科学学院王秀华教授鉴定为药用大黄 *Rheum officinale* Baill. 的根。

百草枯(paraquat)和 SDS 均购于 Sigma 公司;葡聚糖硫酸钠(DSS),Mpbio 公司;4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI),Sigma 公司;二氢乙啶(DHE)和放线菌素(7-AAD),Invitrogen 公司;磷酸化组蛋白 H3 抗体(PH3),Millipore 公司,绿色荧光蛋白(GFP)抗体,Life Technologies 公司。

1.3 仪器

Vortex-Genie 2 型涡旋振荡器,美国 Scientific Industries 公司;Elix5 去离子水系统,美国 Millipore 公司;ALC-210.4 型电子分析天平,北京赛多利斯公司;SZ51 型显微镜,日本 Olympus 公司;Axioskop 2 plus 型荧光显微镜,德国 Zeiss 公司。

2 方法

2.1 ROE 的制备

提取大黄的方法主要参考 Li 等^[3]使用的水萃取法。将 20 g 大黄的根处理成小块,放在 200 mL 去离子水中浸泡过夜。第 2 天进行熬煮,中火煮沸 3 h 后,收集滤液。滤渣中再加入 200 mL 去离子水,煮沸同样的时间,收集滤液。将 2 次滤液合并,加热浓缩到 100 mL。最终得到质量浓度为 0.2 g/mL 的大黄水提液。

2.2 果蝇培养基的配制

果蝇食用的玉米粉-酵母培养基的配制方法主要参考李文佳等^[18]使用的方法。大黄培养基:用 ROE 按需要的比例去替换正常玉米粉-酵母培养基中的去离子水,分别得到含 0.05 g/mL 和 0.1 g/mL 的大黄培养基。

2.3 果蝇生存率的测定

收集羽化后 3~5 d 的 w¹¹¹⁸ 果蝇进行分组,每组 30 只(雌雄各 15 只)。将果蝇在空管中进行饥饿处理 2 h,然后转移到装有滤纸的果蝇培养管中。每个管中的滤纸都按照实验需要用不同的滤液充分浸

湿。模型组中浸湿滤纸的滤液分别为 5%蔗糖与 6 mmol/L 百草枯、6 mg/mL SDS 或 4% DSS 的混合溶液。实验组的混合溶液为相应模型组溶液中加入 0.05 g/mL 或 0.1 g/mL ROE。每 24 小时记录果蝇死亡数目并更换新的滤纸, 进行 3 次重复实验。

2.4 免疫染色

收集正常培养基与 0.1 g/mL 的大黄培养基中羽化 3~5 d 的成虫雌果蝇, 饥饿处理 2 h。用含有 6 mg/mL SDS 与 5%蔗糖的混合溶液喂食果蝇 16 h 后, 在 4 °C 的 PBS 里提取 15~20 根完整的肠道。室温下用 4%的多聚甲醛固定 30 min。PBST (1× PBS 中含有 0.1% Triton X-100) 洗 4 次, 每次 10 min。再将含有 5%羊血清的 PBST 加入样品, 封闭 30 min。加入一抗 (兔抗-GFP 1:200 稀释、兔抗-PH3 1:200 稀释) 于样品中, 4 °C 孵育过夜。将样品从 4 °C 取出放入室温。将一抗用 PBST 洗干净, 结合二抗 2 h。最后用 0.1 μg/mL DAPI 染色 10 min, PBST 洗 3 次, 每次 5 min, 用 70%甘油封片。用荧光显微镜进行观察分析。实验重复 2 次。

2.5 果蝇肠道上皮细胞死亡数目和 ROS 水平检测

果蝇肠道上皮细胞死亡数目和 ROS 水平的检测主要参考文献方法^[19]。收集羽化 3~5 d 的 *w¹¹¹⁸* 果蝇。6 mg/mL SDS 诱导 96 h 或 48 h 后, 在凉的 PBS 中提取 15~20 根完整的肠道。直接室温结合 7-AAD 或 DHE 30 min。PBS 洗 3 次, 每次 5 min。4%的多聚甲醛固定 30 min 后, 再用 PBS 洗 3 次。室温结合 0.1 μg/mL DAPI 10 min。PBS 洗 3 次后用 70%的甘油封片。荧光显微镜下进行观察拍照。实验重复 2 次。

2.6 果蝇寿命的测定

随机收集正常培养基和 0.05 g/mL 或 0.1 g/mL 大黄培养基中羽化 3~5 d 的果蝇, 每组雌雄各 15

只。培养基 2 d 更换 1 次。每 24 小时统计 1 次果蝇死亡的数目, 直至果蝇全部死亡。实验重复 4 次。

2.7 统计学处理

采用 Prism 软件进行统计学分析, 组间差异采用单因素方差 (one-way ANOVA) 分析。

3 结果

3.1 ROE 对肠道感染后果蝇生存率的影响

为了检测大黄对肠道感染后果蝇生存率的影响, 分别随机收集正常培养基和大黄培养基 (0.05、0.1 g/mL 2 个质量浓度) 中羽化 3~5 d 的果蝇。喂食的有毒化合物包括百草枯、SDS、DSS。百草枯处理 4 d 后, 模型组的果蝇生存率仅为 10%, 而 0.05、0.1 g/mL ROE 组的果蝇生存率分别为 36.7% 和 94.4%, 与模型组相比有显著差异 ($P < 0.001$, 图 1-A)。喂食 SDS 5 d 后, 模型组的果蝇生存率为 10%。0.05、0.1 g/mL ROE 组的果蝇生存率分别为 33.3% 和 82.2%。与模型组相比, 分别提高了 23.3% ($P < 0.05$) 和 72.2% ($P < 0.001$) (图 1-B); DSS 处理 7 d 后, 模型组的果蝇生存率为 22.2%。0.05、0.1 g/mL ROE 组果蝇生存率分别为 58.9% 和 87.8%, 与模型组比较, 分别提高了 36.7% ($P < 0.001$) 和 65.6% ($P < 0.001$, 图 1-C)。上述结果表明, ROE 可缓解有毒化合物引起的肠道损伤, 从而显著提高果蝇的生存率。此外, 与 0.05 g/mL ROE 比较, 0.1 g/mL ROE 对果蝇生存率的影响更为显著。因此后续实验均采用含 0.1 g/mL ROE 的培养基对果蝇进行喂食。

3.2 ROE 对果蝇肠道前体细胞增殖的影响

肠道内环境的平衡是整个机体健康的核心。ISC 通过死亡细胞的移除与新细胞的产生之间的动态平衡来维持肠道内稳态。研究表明, 当果蝇遭受有毒化合物侵害时, 果蝇 ISC 可以提高分裂速率来

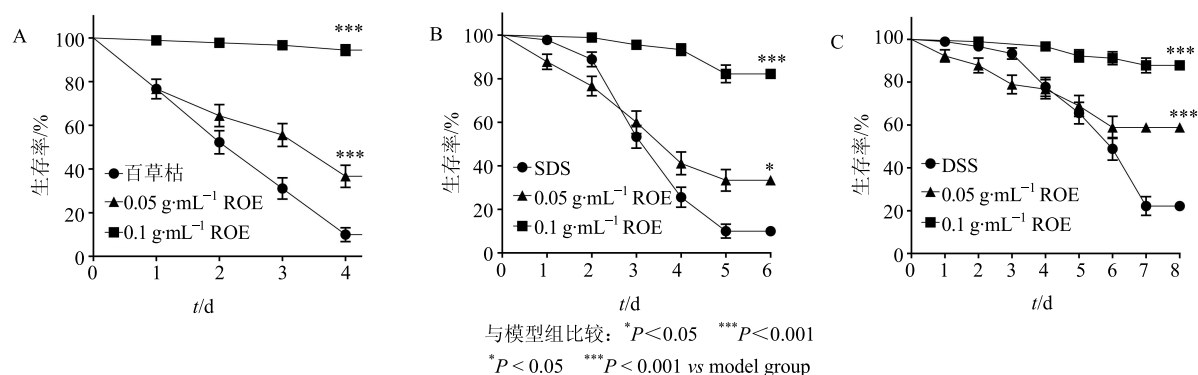


图1 ROE 对百草枯 (A)、SDS (B)、DSS (C) 诱导后果蝇生存率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 1 Effects of ROE on survival rate of *D. melanogaster* induced by paraquat (A), SDS (B), and DSS (C) ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

抵抗组织损伤。除此之外,组织损伤导致肠上皮细胞的丢失,新产生的 EB 加速分化产生新的 EC 来代替损伤的细胞,维持肠道的完整性^[12]。但是 ISC 的过度增殖引起大量前体细胞在肠道中积累,对肠道内环境的稳态造成破坏^[6]。

本实验使用 *esg-Gal4 UAS-GFP* 品系的果蝇,该品系的果蝇携带的绿色荧光蛋白 (GFP) 特异性地标记果蝇肠道前体细胞 (ISC 和 EB)。结果发现,对照组的果蝇与 ROE 组果蝇的 GFP⁺ 细胞的形态数目无显著差异 (图 2)。而 SDS 诱导 16 h 后,与对照组比较,SDS 诱导后的果蝇肠道中 GFP⁺ 细胞的数目明显增加。同时 GFP⁺ 细胞的面积也明显增大,

这可能是 EB 向 EC 过度分化而产生的前体肠上皮细胞。喂食 0.1 g/mL ROE 后,肠道中 GFP⁺ 细胞数目与 SDS 组相比显著减少 ($P < 0.001$),恢复到 SDS 诱导前的数量。GFP⁺ 细胞的面积与 SDS 诱导后相比也显著减小 ($P < 0.001$),但细胞面积与 SDS 诱导前相比存在差异,未完全恢复到正常状态。说明 ROE 可以缓解由 SDS 而导致的前体细胞过度增殖,但是并不能完全消除 SDS 的影响。

3.3 ROE 对果蝇 ISC 增殖的影响

为了进一步探究大黄对果蝇 ISC 的作用机制,使用 *Delta-Gal4 UAS-GFP* 品系果蝇, GFP 特异性地标记 ISC。结果表明,与对照组相比,SDS 诱导后,

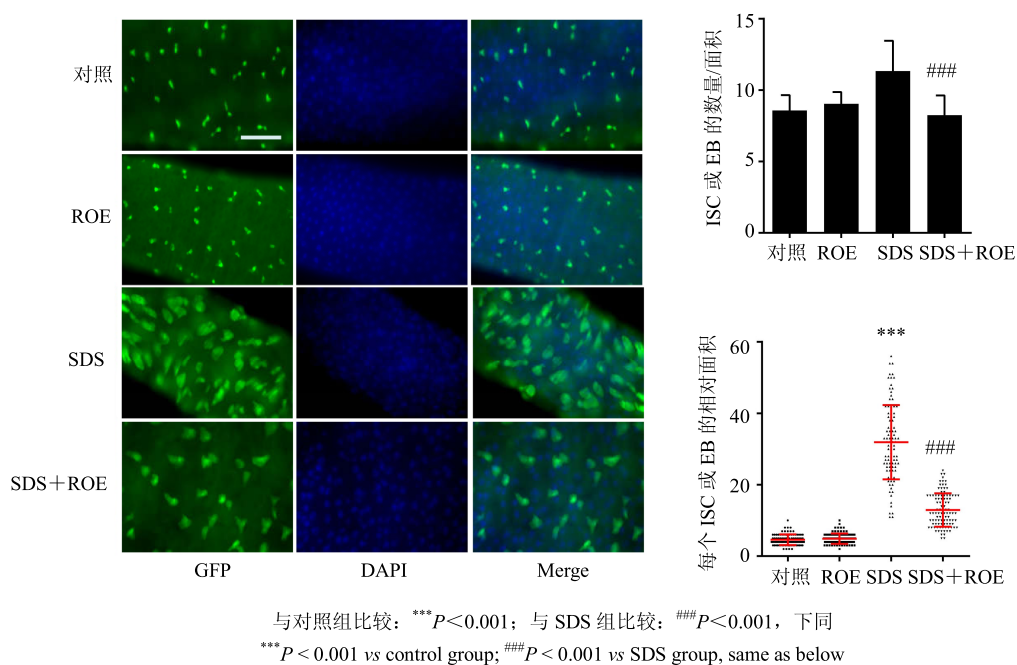


图 2 ROE 对 SDS 诱导后果蝇肠道前体细胞过度增殖的影响

Fig. 2 Effect of ROE on excessive proliferation of progenitor cells in adult midgut of *D. melanogaster* induced by SDS

果蝇肠道中的 GFP⁺ 细胞的数量明显增加,同时 GFP⁺ 细胞面积也明显增大 (图 3)。而喂食 0.1 g/mL ROE 后,果蝇肠道中 GFP⁺ 细胞的数量与 SDS 组相比显著减少 ($P < 0.001$),与正常状态下的细胞数量无明显差异。GFP⁺ 细胞的面积与 SDS 组相比也有明显减小 ($P < 0.001$),恢复到正常状态。为进一步证明 ROE 对 ISC 的作用机制,利用 PH3 抗体标记处于分裂期的 ISC。结果表明正常状态下果蝇肠道中 PH3⁺ 细胞的数目很少 (图 3)。SDS 诱导 16 h 后,果蝇肠道中 PH3⁺ 细胞数目急剧增加。说明 SDS 刺激了 ISC 的分裂。而喂食 0.1 g/mL ROE 后,果蝇肠道中 PH3⁺ 细胞明显减少 ($P < 0.001$),恢复到正常

水平。说明 ROE 抑制了由 SDS 诱导的 ISC 过度增殖分化的现象。

3.4 ROE 对 SDS 诱导的肠上皮细胞数量和 ROS 的影响

研究表明,对果蝇喂食有毒化合物如 SDS 和 DSS 后,会引起果蝇肠道上皮细胞的死亡^[5,12]。为进一步验证果蝇生存率的降低是否与喂食 SDS 引起的细胞死亡有关,本实验采用 7-AAD 染色,检测肠道上皮细胞的死亡情况。结果如图 4 所示,对照组中死亡的细胞数量很少。但是用 SDS 诱导 96 h 后,死亡细胞大量增加。而喂食 0.1 g/mL ROE 后,肠道中死亡的细胞数与 SDS 组相比明显减少 ($P <$

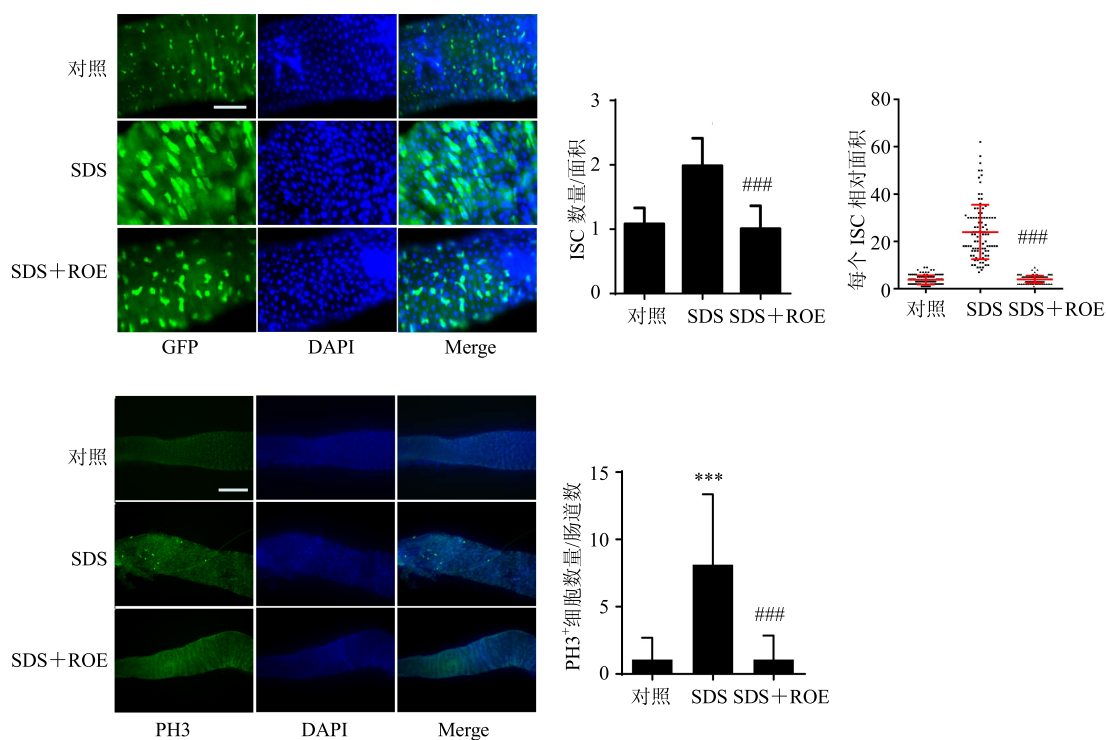


图 3 ROE 对 SDS 诱导后果蝇 ISC 增殖的影响

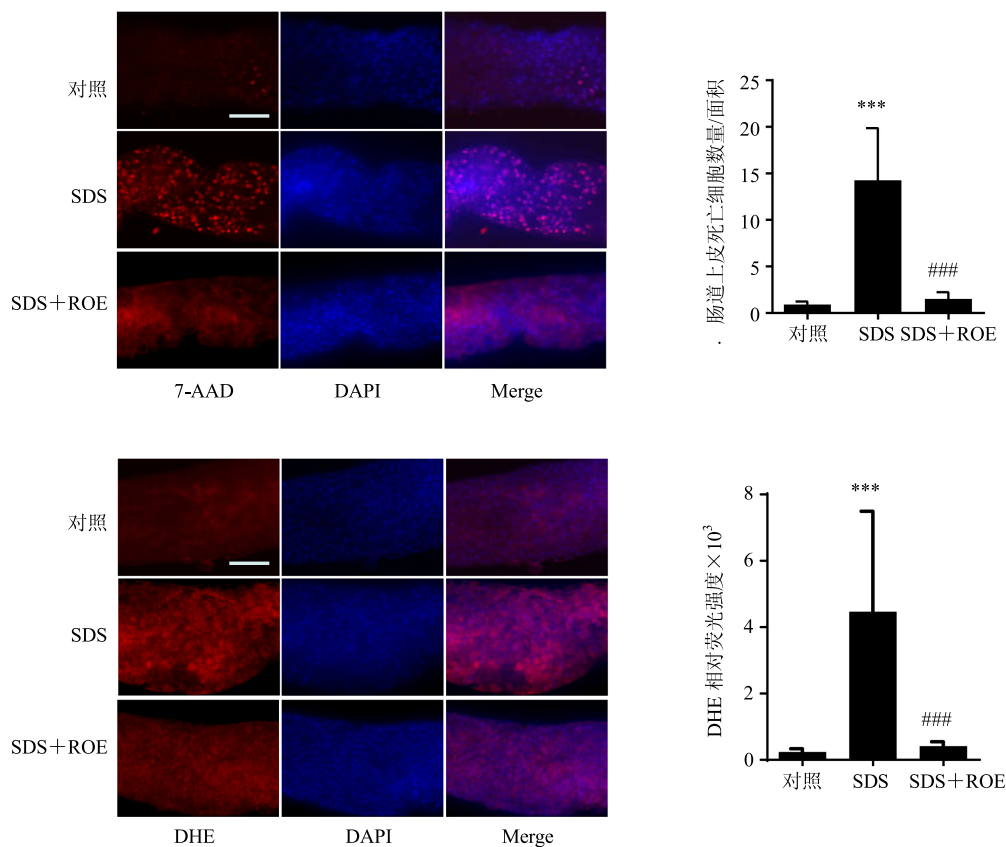
Fig. 3 Effects of ROE on ISC in adult midgut of *D. melanogaster* induced by SDS

图 4 ROE 对 SDS 诱导的果蝇肠上皮细胞数量和 ROS 的影响

Fig. 4 Effect of ROE on epithelial cell death and ROS level in adult midgut of *D. melanogaster* induced by SDS

0.001)。研究表明 SDS 可以诱导 ROS 的产生^[20], 破坏肠上皮细胞^[21]。采用 DHE 标记肠道中 ROS 的水平, 染色结果表明, SDS 诱导 48 h 后, 肠道细胞中 ROS 水平明显提高 (图 4)。喂食 0.1 g/mL ROE 后, 肠道内 ROS 水平与 SDS 组相比显著降低 ($P < 0.001$)。表明 ROE 可以缓解肠上皮细胞由 SDS 引起的氧化应激损伤, 从而维持宿主氧化还原的稳态。

3.5 ROE 对果蝇寿命的影响

氧化压力和环境压力是导致组织稳态下降的主要原因, 导致果蝇功能性退化^[22-24], 最终加速其老化。通过考察 ROE 对果蝇寿命的影响, 进一步探究 ROE 对机体氧化应激损伤的缓解作用。对照组雌果

蝇喂养 63 d 时, 生存率仅为 0.8%。而 0.05、0.1 g/mL ROE 组雌果蝇的生存率分别为 53.3%和 62.5%, 比对照组提高 52.5% ($P < 0.001$) 和 61.7% ($P < 0.001$, 图 5)。分析 ROE 组与对照组中每只雌果蝇的寿命后, 发现 0.05 g/mL 和 0.1 g/mL ROE 组中雌果蝇的整体寿命都明显长于对照组 ($P < 0.001$)。在雄果蝇的实验中, 在 63 d 时, 对照组的生存率为 22.5% (图 5)。0.05、0.1 g/mL ROE 组中雄果蝇生存率分别为 54.2% 和 41.7%, 高出对照组 31.7% ($P < 0.001$) 和 19.2% ($P < 0.001$)。雄果蝇的寿命统计后, 0.05、0.1 g/mL ROE 组与对照组均都有明显的差异 ($P < 0.001$)。结果显示雄果蝇寿命比雌果蝇长, 0.1 g/mL ROE 对

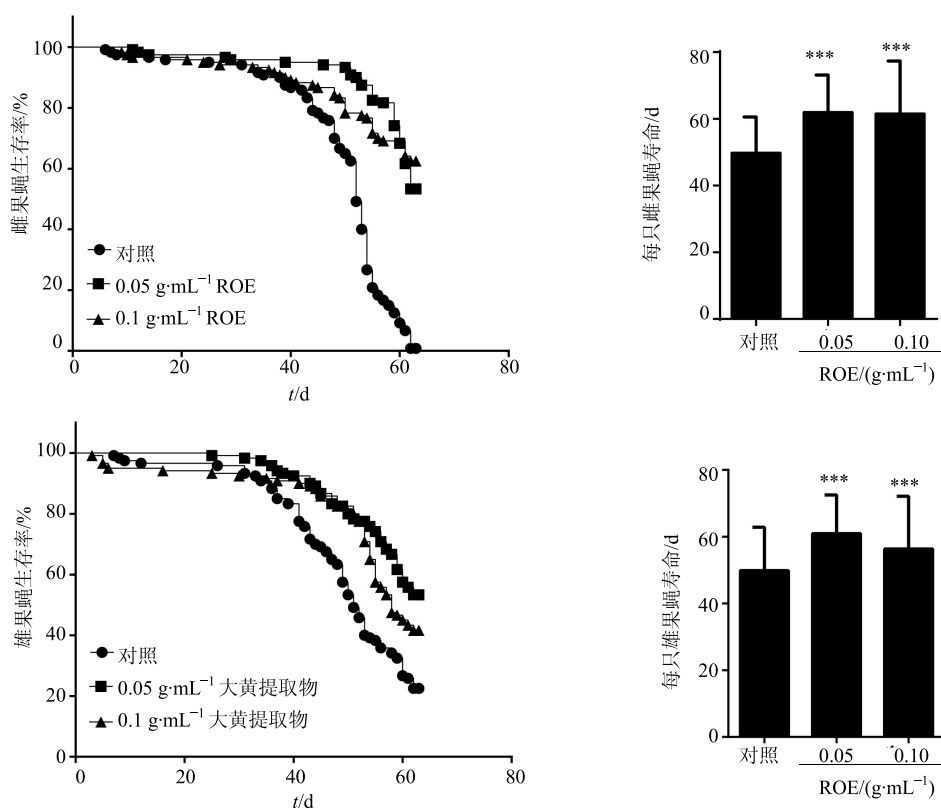


图 5 ROE 对雌果蝇和雄果蝇寿命的影响

Fig. 5 Effect of ROE on lifespan of *D. melanogaster*

于延长雌果蝇寿命有较好效果, 而 0.05 g/mL ROE 对于延长雄果蝇的寿命有较好效果。

4 讨论

肠道是机体抵御摄入的病原微生物和有毒化合物的第一道防线^[25]。在应答组织损伤时, 成虫肠道干细胞通过快速增殖来维持肠道稳态^[12,26]。位于肠道中的肠上皮细胞在抵抗有毒物质和氧化压力时, 会刺激 ROS 和 AMP 的产生, 是保护肠道免受外来物质侵害的有效屏障^[5,27-28]。ROS 可以刺激 ISC 的

增殖^[5], 但过量的 ROS 可以破坏肠上皮细胞, 因此 ROS 的产生与清除之间的动态平衡对于机体的健康至关重要^[29]。

大黄具有泻下攻积、清热泻火、凉血解毒、逐瘀通经、利湿退黄之功^[15]。大黄中含有多类药效活性成分, 研究表明其在抗病原微生物、抗肿瘤、抗炎、抗衰老、调节胃肠功能、保护心脑血管及保肝等方面也有显著疗效^[30-32]。尽管大黄的药理作用和药用价值已经被广泛的研究, 但是 ROE 在肠道免疫

中的作用机制,特别是对ISC活性影响的研究相对较少。

本实验研究表明,当对果蝇喂食有毒化合物百草枯、SDS或DSS时,ROE可以显著提高果蝇的生存率。果蝇喂食SDS后,刺激ISC的过度增殖与分化,导致肠道内大量的前体细胞的积累,破坏果蝇肠道稳态。而这一过程很可能是突发性氧化作用而导致的^[5,28]。喂食ROE抑制了SDS诱导的ISC过度增殖。研究还发现,ROE同样缓解了SDS诱导的过量的前体细胞数量。这也是ROE能够提高果蝇生存率的原因之一。本研究同时发现ROE可以降低SDS诱导的过量ROS水平和过度死亡细胞数量。ROE的这一功能也是提高果蝇生存率的重要因素。此外,ROE还可能通过降低氧化应激对机体的损伤来延长果蝇的寿命。不同质量浓度的ROE对雌雄果蝇寿命的延长效果不同。这可能是雌雄个体生理结构上的差异造成的。

综上所述,大黄作为一种常见的中药,在肠道免疫应答的过程中,通过对ISC活性的调节增强了果蝇肠道免疫的功能,但是大黄影响ISC分化的机制仍需要进一步的研究。

参考文献

- [1] Daneman R, Rescigno M. The gut immune barrier and the blood-brain barrier: are they so different? [J]. *Immunity*, 2009, 31(5): 722-735.
- [2] Apidianakis Y, Rahme L G. *Drosophila melanogaster* as a model for human intestinal infection and pathology [J]. *Dis Models Mech*, 2011, 4(1): 21-30.
- [3] Li W, Luo Q, Jin L H. *acanthopanax senticosus* extracts have a protective effect on *Drosophila* gut immunity [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 146(1): 257-263.
- [4] Ryu J H, Ha E M, Oh C T, *et al.* An essential complementary role of NF-kappaB pathway to microbicidal oxidants in *Drosophila* gut immunity [J]. *EMBO J*, 2006, 25(15): 3693-3701.
- [5] Buchon N, Broderick N A, Chakrabarti S, *et al.* Invasive and indigenous microbiota impact intestinal stem cell activity through multiple pathways in *Drosophila* [J]. *Genes Dev*, 2009, 23(19): 2333-2344.
- [6] Biteau B, Hochmuth C E, Jasper H. JNK activity in somatic stem cells causes loss of tissue homeostasis in the aging *Drosophila* gut [J]. *Cell Stem Cell*, 2008, 3(4): 442-455.
- [7] de Navascue's J, Perdigoto C N, Bian Y, *et al.* *Drosophila* midgut homeostasis Involves neutral between symmetrically dividing intestinal stem cells [J]. *EMBO J*, 2012, 31(11): 2473-2485.
- [8] Micchelli C A, Perrimon N. Evidence that stem cells reside in the adult *Drosophila* midgut epithelium [J]. *Nature*, 2006, 439(7075): 475-479.
- [9] O'Brien L E, Soliman S S, Li X, *et al.* Altered modes of stem cell division drive adaptive intestinal growth [J]. *Cell*, 2011, 147(3): 603-614.
- [10] Ohlstein B, Spradling A. The adult *Drosophila* posterior midgut is maintained by pluripotent stem cells [J]. *Nature*, 2006, 439(7075): 470-474.
- [11] Jiang H, Patel P H, Kohlmaier A, *et al.* Cytokine/Jak/Stat signaling mediates regeneration and homeostasis in the *Drosophila* midgut [J]. *Cell*, 2009, 137(7): 1343-1355.
- [12] Amcheslavsky A, Jiang J, Ip Y T. Tissue damage-induced intestinal stem cell division in *Drosophila* [J]. *Cell Stem Cell*, 2009, 4(1): 49-61.
- [13] Buchon N, Broderick N A, Poidevin M, *et al.* *Drosophila* intestinal response to bacterial infection: Activation of host defense and stem cell proliferation [J]. *Cell Host Microbe*, 2009, 5(2): 200-211.
- [14] Apidianakis Y, Pitsouli C, Perrimon N, *et al.* Synergy between bacterial infection and genetic predisposition in intestinal dysplasia [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(49): 20883-20888.
- [15] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [16] 刘畅, 罗英花, 蒋雪园, 等. 大黄素对人肝癌 Huh7 细胞的凋亡作用及机制研究 [J]. *药物评价研究*, 2016, 39(3): 367-371.
- [17] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 (精选本) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998.
- [18] 李文佳, 刘 强, 金丽华. 刺五加提取物对果蝇免疫功能的影响 [J]. *中草药*, 2012, 43(10): 1997-2001.
- [19] 陈羽臣, 柳宗琳, 张 宏, 等. 工布乌头提取物提高果蝇肠道免疫功能的实验研究 [J]. *中草药*, 2016, 47(6): 949-954.
- [20] Bindu P C, Babu P. Surfactant-induced lipid peroxidation in a tropical euryhaline teleost *Oreochromis mossambicus* (Tilapia) adapted to fresh water [J]. *Indian J Exp Biol*, 2001, 39(11): 1118-1122.
- [21] Farhadi A, Banan A, Fields J, *et al.* Intestinal barrier: an interface between health and disease [J]. *J Gastroenterol Hepato*, 2003, 18(5): 479-497.
- [22] Beckman K B, Ames B N. The free radical theory of aging matures [J]. *Physiol Rev*, 1998, 78(2): 547-581.
- [23] Finkel T, Holbrook N J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing [J]. *Nature*, 2000, 408(6809): 239-247.

- [24] Stadtman E R. Protein oxidation in aging and age-related diseases [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2001, 928(1): 22-38.
- [25] Sansonetti P J. War and peace at mucosal surfaces [J]. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4(12): 953-964.
- [26] Cronin S J, Nehme N T, Limmer S, *et al.* Genomewide RNAi screen identifies genes involved in intestinal pathogenic bacterial infection [J]. *Science*, 2009, 325(5938): 340-343.
- [27] Lemaitre B, Hoffmann J. The host defense of *Drosophila melanogaster* [J]. *Annu Rev Immunol*, 2007, 25: 697-743.
- [28] Buchon N, Broderick N A, Chakrabarti S, *et al.* Invasive and indigenous microbiota impact intestinal stem cell activity through multiple pathways in *Drosophila* [J]. *Genes Dev*, 2009, 23(19): 2333-2344.
- [29] Ha E M, Oh C T, Ryu J H, *et al.* An antioxidant system required for host protection against gut infection in *Drosophila* [J]. *Dev Cell*, 2005, 8(1): 125-132.
- [30] 南海江, 许旭东, 陈士林, 等. 大黄属植物研究进展 [J]. *天然产物研究与开发*, 2009, 21(4): 690-701.
- [31] 谢 燕, 李国文, 马越鸣. 大黄多糖研究进展 [J]. *中国新药杂志*, 2010, 19(9): 755-758.
- [32] 郭志伟, 刘琳娜. 大黄及其有效成分的药理研究概况 [J]. *中国药房*, 2006, 17(22): 1741-1743.