

- 524; 13-30.
- [15] Ayala A, Muñoz M F, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014: 360438.
- [16] Brzović-Šarić V, Landeka I, Šarić B, et al. Levels of selected oxidative stress markers in the vitreous and serum of diabetic retinopathy patients[J]. *Mol Vis*, 2015, 21: 649-664.
- [17] Fan Y, Qiao Y, Huang J, et al. Protective effects of *Panax notoginseng* saponins against high glucose-induced oxidative injury in rat retinal capillary endothelial cells[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 2016: 5326382.
- [18] 马英琦, 黄延芹, 徐云生. 糖尿病视网膜病变瘀血病机及 VEGF 作用初探[J]. 亚太传统医药, 2019, 15(4): 210-212.
- [19] 陈小红, 王云鹏, 陈梅珠. VEGF 在糖尿病性视网膜病变发病机制中的作用及抗 VEGF 治疗新进展[J]. 眼科新进展, 2015, 35(7): 692-696.
- [20] Yuan X, Guo X, Deng Y, et al. Chronic intermittent hypoxia-induced neuronal apoptosis in the hippocampus is attenuated by telmisartan through suppression of iNOS/NO and inhibition of lipid peroxidation and inflammatory responses[J]. *Brain Res*, 2015, 1596: 48-57.
- [21] Albrecht E W, Stegeman C A, Heeringa P, et al. Protective role of endothelial nitric oxide synthase[J]. *J Pathol*, 2003, 199(1): 8-17.

## 白花蛇舌草多糖对肾癌荷瘤小鼠肿瘤生长及免疫调节作用的影响

张林超

(河南省中医院泌尿外科, 河南 郑州 450002)

**摘要:** **目的** 探讨白花蛇舌草多糖对肾癌荷瘤小鼠肿瘤生长及免疫调节作用的影响。**方法** 通过皮下接种 Renca 细胞建立肾癌荷瘤小鼠模型, 将小鼠随机分为荷瘤模型组、黄芪多糖 (100 mg/kg) 组及白花蛇舌草多糖高 (200 mg/kg)、低 (100 mg/kg) 剂量组, 每组 12 只; 另随机选取未造模小鼠 12 只作为正常组。灌胃给药, 1 次/d, 持续给药 14 d。实验结束后, 评价各组小鼠体质量、瘤质量、免疫器官指数、淋巴细胞转化及 CTL 杀伤活性、外周血 T 淋巴 CD4+ 和 CD8+ 细胞亚群、血清 IFN- $\gamma$  和 IL-2 水平等指标改变情况。**结果** 与荷瘤模型组比较, 白花蛇舌草多糖高剂量组小鼠体质量增加 ( $P < 0.05$ ), 高、低剂量组小鼠瘤质量下降 ( $P < 0.05$ ); 与荷瘤模型组比较, 白花蛇舌草多糖高、低剂量组小鼠脾脏指数、胸腺指数、淋巴细胞转化程度、CTL 杀伤活性、CD4+ 细胞百分比、CD4+/CD8+ 比值、血清 IFN- $\gamma$  和 IL-2 水平均增加 ( $P < 0.05$ ), 而 CD8+ 细胞百分比降低 ( $P < 0.05$ )。**结论** 白花蛇舌草多糖对肾癌荷瘤小鼠肿瘤生长具有抑制作用, 该作用与免疫调节作用有关。

**关键词:** HDP; 肾癌; 免疫; T 淋巴细胞亚群; 细胞因子

**中图分类号:** R285.5

**文献标志码:** B

**文章编号:** 1001-1528(2021)03-0765-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.03.039

白花蛇舌草 *Hedyotis diffusa* Willd 属茜草科耳草属植物, 别名尖刀草、白花十字草、二叶葎等, 始载于《广西中药志》, 具有利尿除湿、消痛散结及清热解毒之功效。现代药学研究<sup>[1]</sup>发现, 白花蛇舌草具有抗肿瘤、抗氧化、抗病毒、抗感染及免疫调节等作用, 其活性成分包括黄酮类、萜烯类、挥发油类、烷烃类、甾体类、萜类及多糖类。白花蛇舌草多糖为白花蛇舌草的活性成分之一, 具有抗肿瘤、免疫调节及抗氧化等多种生物活性<sup>[2]</sup>。白花蛇舌草多糖对肝癌、宫颈癌、非小细胞肺癌及胃癌等的增殖均有抑制作用, 对肾癌的研究报道较少<sup>[3-5]</sup>。同时, 鉴于白花蛇舌草多糖具有较好的增强免疫能力<sup>[6]</sup>, 而肾癌又被公认为免疫原

性肿瘤, 对免疫治疗较敏感<sup>[7]</sup>。因此, 本研究通过皮下接种 Renca 细胞建立肾癌荷瘤小鼠模型, 主要探讨白花蛇舌草多糖对肾癌荷瘤小鼠肿瘤生长及免疫调节作用的影响, 为其进一步的临床应用奠定基础。

### 1 材料

1.1 动物与细胞株 昆明种小鼠, 雄性, SPF 级, 体质量 (20 $\pm$ 2) g, 购于斯贝福实验动物公司, 动物生产许可证号 SCXK (京) 2016-0002。小鼠肾癌 Renca 细胞, 购于中科院上海细胞库。

1.2 药物与试剂 白花蛇舌草多糖 (纯度 > 80%), 批号 20180216, 西安天瑞生物技术有限公司; 黄芪多糖 (纯度 >

收稿日期: 2019-09-18

基金项目: 河南省中医药科学研究专项课题 (2018ZY2099)

作者简介: 张林超 (1972—), 男, 硕士, 主任医师, 从事泌尿系肿瘤诊疗及基础研究。Tel: 18638275972, E-mail: zlcdoctor@163.com

85%)，批号 20181125，陕西昂盛生物科技有限公司；RP-MI1640 培养液及胎牛血清，美国 Hyclone 公司；刀豆蛋白 A (ConA) 及噻唑蓝 (MTT) 检测试剂盒，美国 Sigma 公司；CD4、CD8 抗体，上海瑞齐生物技术有限公司；干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 和白细胞介素-2 (IL-2) 酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测试剂盒，上海迪奥生物技术公司。

1.3 仪器 MCO-20AIC 型 CO<sub>2</sub> 培养箱，日本三洋公司；Fh1004N 电子天平，上海民桥精密仪器公司；TDZ6B-WS 离心机，上海卢湘仪器公司；RT-6000 酶标仪，深圳雷杜生物科学公司；FV1000 显微镜，日本 Olympus 公司；Facs-calibur 流式细胞仪，美国 BD 公司。

## 2 方法

2.1 肾癌荷瘤小鼠模型建立 小鼠肾癌 Renca 细胞用 RP-MI1640 (10% 胎牛血清+100 U/mL 青霉素+100 U/mL 链霉素) 培养液，于 5% CO<sub>2</sub>、37 °C 条件下在恒温培养箱中培养。待细胞生长至对数生长期时，收获细胞，加适量磷酸盐缓冲液 (PBS) 调整细胞浓度为 1×10<sup>7</sup>/mL。于小鼠右后肢外侧皮下处接种 250  $\mu$ L，每日观察小鼠肿瘤生长情况，7 d 后注射处见约 5 mm 的肿瘤结节视为肾癌荷瘤小鼠模型建立成功。

2.2 分组及给药 将荷瘤小鼠随机分为荷瘤模型组、黄芪多糖组及白花蛇舌草多糖高、低剂量组，每组 12 只；另随机选取未造模小鼠 12 只作为正常组。正常组及荷瘤模型组小鼠灌胃等体积的蒸馏水，黄芪多糖组及白花蛇舌草多糖高、低剂量组分别灌胃 100 mg/kg 黄芪多糖和 200、100 mg/kg 白花蛇舌草多糖，1 次/d，持续给药 14 d。

2.3 瘤质量、抑瘤率及免疫器官指数测定 末次给药结束后 24 h，颈椎脱臼法处死小鼠，剥离瘤体后，分别称瘤质量及体质量，经 75% 乙醇消毒后，取免疫器官 (脾脏及胸腺)，称重。抑瘤率 = [(荷瘤模型组平均瘤质量 - 药物处理组平均瘤质量) / 荷瘤模型组平均瘤质量] × 100%，免疫器官指数 = 免疫器官 (脾脏或胸腺) 质量 / 体质量。

2.4 淋巴细胞转化及 CTL 杀伤活性测定 将无菌分离的小鼠脾脏置于 200 目尼龙网上，轻轻碾压挤碎，制备单个脾细胞悬液，加入 Tris-NH<sub>4</sub>Cl 溶液 (0.01%) 使红细胞溶解，PBS 漂洗后，调整细胞浓度为 5×10<sup>6</sup>/mL。取 100  $\mu$ L 脾细胞悬液置于 96 孔细胞培养板中，加入终浓度 5  $\mu$ g/mL 的 ConA，常规条件培养 72 h 后，采用 MTT 法测 570 nm 处光密度 (OD)。小鼠脾细胞悬液 (5×10<sup>6</sup>/mL) 为效应细胞，取对数生长期小鼠肾癌 Renca 细胞 (1×10<sup>5</sup>/mL) 为靶细胞，等比例混合后常规条件培养 24 h，采用 MTT 法测 490 nm 处 OD，计算 CTL 杀伤活性。CTL 杀伤活性 = [1 - (OD<sub>实验孔</sub> - OD<sub>效应细胞对照孔</sub>) / OD<sub>靶细胞对照孔</sub>] × 100%

2.5 外周血 T 淋巴 CD4+ 和 CD8+ 细胞亚群测定 小鼠在处死前摘眼球取血，取 100  $\mu$ L 放于 EP 管中，分别加入抗 CD4+ 及 CD8+ 抗体各 10  $\mu$ L，冰水浴上避光放置 30 min。加入 100  $\mu$ L 红细胞裂解液，完全混匀，继续避光放置 10 min 裂解红细胞，离心 (1 000 r/min) 5 min，弃掉上清

液，沉淀用 500  $\mu$ L PBS 溶液重悬后，于流式细胞仪中检测。

2.6 血清 IFN- $\gamma$  和 IL-2 水平测定 剩余小鼠眼球血加肝素钠抗凝后，离心 (3 000 r/min) 5 min，分装上层血清于 -20 °C 冰箱中备用。采用 ELISA 法，按照对应试剂盒说明书中的操作步骤测定血清 IFN- $\gamma$  和 IL-2 水平。

2.7 数据处理 采用 SPSS18.0 软件进行处理，符合正态分布的计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示，各组小鼠体质量、瘤质量、免疫器官指数、淋巴细胞转化及 CTL 杀伤活性、CD4+ 和 CD8+ 细胞亚群比例，血清 IFN- $\gamma$  和 IL-2 水平对比采用独立样本 *t* 检验。*P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

## 3 结果

3.1 白花蛇舌草多糖对肾癌荷瘤小鼠体质量及肿瘤生长的影响 与正常组比较，荷瘤模型组小鼠体质量下降 (*P* < 0.05)；与荷瘤模型组比较，黄芪多糖及白花蛇舌草多糖高、低剂量组小鼠体质量均有不同程度的增加，其中黄芪多糖及白花蛇舌草多糖高剂量组体质量增加 (*P* < 0.05)。此外，与荷瘤模型组比较，黄芪多糖及白花蛇舌草多糖高、低剂量组小鼠瘤质量均下降 (*P* < 0.05)，各组的抑瘤率分别为 35.61%、31.81%、21.97%。以上结果提示，白花蛇舌草多糖对肾癌荷瘤小鼠的肿瘤生长具有抑制作用。见表 1。

表 1 白花蛇舌草多糖对肾癌荷瘤小鼠体质量及肿瘤生长的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , *n* = 12)

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	体质量/g	瘤质量/g	抑瘤率/%
正常组	—	31.58±4.70	—	—
荷瘤模型组	—	24.76±5.42*	1.32±0.16	—
黄芪多糖组	100	29.55±4.15 <sup>#</sup>	0.85±0.12*	35.61
白花蛇舌草多糖高剂量组	200	28.51±3.83 <sup>#</sup>	0.90±0.13 <sup>#</sup>	31.81
白花蛇舌草多糖低剂量组	100	26.43±3.69	1.03±0.15 <sup>#</sup>	21.97

注：与正常组比较，\**P* < 0.05；与荷瘤模型组比较，<sup>#</sup>*P* < 0.05。

3.2 白花蛇舌草多糖对肾癌荷瘤小鼠免疫器官指数的影响 与正常组比较，荷瘤模型组小鼠脾脏指数及胸腺指数均降低 (*P* < 0.05)；与荷瘤模型组比较，黄芪多糖及白花蛇舌草多糖高、低剂量组小鼠脾脏指数及胸腺指数均增加 (*P* < 0.05)。以上结果提示，白花蛇舌草多糖可以改善荷瘤小鼠免疫能力。见表 2。

表 2 白花蛇舌草多糖对肾癌荷瘤小鼠免疫器官指数的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , *n* = 12)

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	脾脏指数/ (mg·g <sup>-1</sup> )	胸腺指数/ (mg·g <sup>-1</sup> )
正常组	—	6.49±0.85	4.38±0.62
荷瘤模型组	—	4.52±0.61*	3.02±0.43*
黄芪多糖组	100	5.93±0.77 <sup>#</sup>	3.83±0.54 <sup>#</sup>
白花蛇舌草多糖高剂量组	200	5.68±0.64 <sup>#</sup>	4.15±0.45 <sup>#</sup>
白花蛇舌草多糖低剂量组	100	5.17±0.92 <sup>#</sup>	3.69±0.62 <sup>#</sup>

注：与正常组比较，\**P* < 0.05；与荷瘤模型组比较，<sup>#</sup>*P* < 0.05。

3.3 白花蛇舌草多糖对肾癌荷瘤小鼠淋巴细胞转化及 CTL 杀伤活性的影响 与正常组比较, 荷瘤模型组小鼠淋巴细胞转化程度及 CTL 杀伤活性均降低 ( $P<0.05$ ); 与荷瘤模型组比较, 黄芪多糖及白花蛇舌草多糖高、低剂量组小鼠淋巴细胞转化程度及 CTL 杀伤活性均升高 ( $P<0.05$ )。以上结果提示, 白花蛇舌草多糖可以通过提高小鼠淋巴细胞转化程度及增强小鼠 CTL 杀伤活性来促进荷瘤小鼠免疫功能提高。见表 3。

表 3 白花蛇舌草多糖对肾癌荷瘤小鼠淋巴细胞转化及 CTL 杀伤活性的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=12$ )

组别	剂量/ ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	淋巴细胞转化 (OD)	CTL 杀伤 活性/%
正常组	—	0.41±0.06	25.13±4.04
荷瘤模型组	—	0.23±0.04*	11.65±1.53*
黄芪多糖组	100	0.38±0.05#	19.37±2.32#
白花蛇舌草多糖高剂量组	200	0.36±0.06#	20.82±3.67#
白花蛇舌草多糖低剂量组	100	0.29±0.03#	16.06±2.20#

注:与正常组比较,\* $P<0.05$ ;与荷瘤模型组比较,# $P<0.05$ 。

3.4 白花蛇舌草多糖对肾癌荷瘤小鼠外周血 T 淋巴 CD4+ 和 CD8+ 细胞亚群的影响 与正常组比较, 荷瘤模型组小鼠外周血 T 淋巴 CD4+ 细胞百分比及 CD4+/CD8+ 比值降低, 而 CD8+ 细胞百分比增加 ( $P<0.05$ ); 与荷瘤模型组比较, 黄芪多糖及白花蛇舌草多糖高、低剂量组小鼠外周血 T 淋巴 CD4+ 细胞百分比及 CD4+/CD8+ 比值增加, 而 CD8+ 细胞百分比降低 ( $P<0.05$ )。见表 4、图 1。

表 4 白花蛇舌草多糖对肾癌荷瘤小鼠外周血 T 淋巴 CD4+ 和 CD8+ 细胞亚群的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=12$ )

组别	剂量/ ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	CD4+/%	CD8+/%	CD4+/CD8+
正常组	—	26.78±3.24	14.96±2.19	1.79±0.27
荷瘤模型组	—	20.13±2.50*	19.45±3.21*	1.03±0.16*
黄芪多糖组	100	27.06±3.48#	15.17±1.81#	1.78±0.32#
白花蛇舌草多糖高剂量组	200	25.58±4.61#	15.34±2.34#	1.67±0.28#
白花蛇舌草多糖低剂量组	100	24.22±3.26#	16.81±3.53#	1.44±0.21#

注:与正常组比较,\* $P<0.05$ ;与荷瘤模型组比较,# $P<0.05$ 。

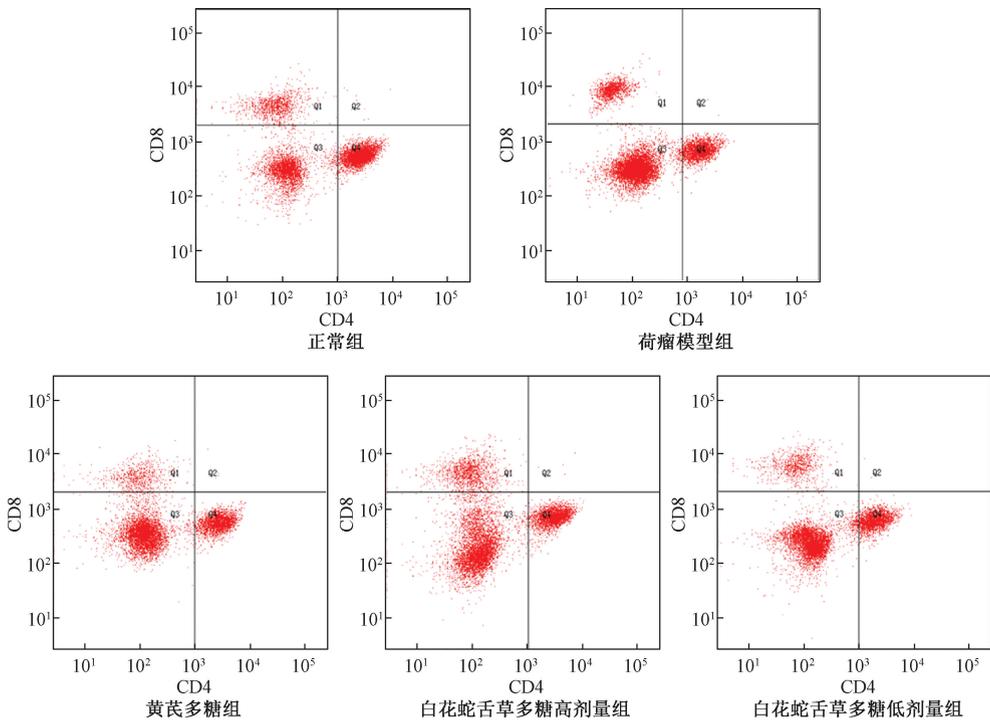


图 1 白花蛇舌草多糖对肾癌荷瘤小鼠外周血 T 淋巴 CD4+ 和 CD8+ 细胞亚群的影响

3.5 白花蛇舌草多糖对肾癌荷瘤小鼠血清 IFN- $\gamma$  和 IL-2 水平的影响 与正常组比较, 荷瘤模型组小鼠血清 IFN- $\gamma$  和 IL-2 水平均降低 ( $P<0.05$ ); 与荷瘤模型组比较, 黄芪多糖及白花蛇舌草多糖高、低剂量组小鼠血清 IFN- $\gamma$  和 IL-2 水平均增加 ( $P<0.05$ )。以上结果提示, 提高荷瘤小鼠血清 IFN- $\gamma$  和 IL-2 水平可能是白花蛇舌草多糖抑制肿瘤生长的潜在机制。见表 5。

#### 4 讨论

白花舌草多糖对多种肿瘤均有抑制作用。研究发现, 其可以抑制人肺腺癌 A549 细胞的转移<sup>[8]</sup>, 该作用与下调

表 5 白花蛇舌草多糖对肾癌荷瘤小鼠血清 IFN- $\gamma$  和 IL-2 水平的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=12$ )

组别	剂量/ ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	IFN- $\gamma$ / ( $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	IL-2/ ( $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
正常组	—	68.02±9.21	131.98±15.06
荷瘤模型组	—	37.85±5.79*	83.43±10.73*
黄芪多糖组	100	59.13±7.16#	120.12±16.28#
白花蛇舌草多糖高剂量组	200	53.26±8.19#	114.38±13.40#
白花蛇舌草多糖低剂量组	100	46.05±6.27#	105.64±12.53#

注:与正常组比较,\* $P<0.05$ ;与荷瘤模型组比较,# $P<0.05$ 。

组织金属蛋白酶表达及阻断 EGFR/Akt/ERK 信号通路有关。Wu 等<sup>[9]</sup>证实,白花蛇草多糖对人喉鳞癌 Hep2 细胞的增殖具有时间和剂量依赖性的抑制作用。体内抑瘤实验也发现,白花蛇舌草多糖对肝癌 H22 和骨肉瘤 S180 荷瘤小鼠的肿瘤生长均有抑制作用<sup>[10]</sup>。本研究通过皮下接种 Renca 细胞建立肾癌荷瘤小鼠模型,给予模型小鼠高、低剂量的白花蛇舌草多糖 14 d 后,发现不同剂量的白花蛇舌草多糖均可以降低模型小鼠的瘤质量,抑瘤率分别为 31.81% 和 21.97%,表明 HDP 对肾癌荷瘤小鼠的肿瘤生长同样具有抑制作用。

免疫器官是机体内发生免疫应答的重要场所,免疫器官指数可以客观的反映免疫器官的免疫水平和发育功能<sup>[11]</sup>。本研究结果发现,与荷瘤模型组比较,白花蛇舌草多糖高、低剂量组小鼠脾脏指数及胸腺指数均明显增加。淋巴细胞体外转化是评价淋巴细胞功能强弱的重要指标,检测小鼠淋巴细胞体外转化可以有效反映小鼠细胞免疫能力的高低<sup>[12]</sup>。细胞介导免疫反应的主要效应细胞为 CTL 细胞,测定 CTL 杀伤活性是评价机体细胞免疫功能的重要手段,同时也是评价药物对免疫系统影响的重要方法<sup>[13]</sup>。瞿俊勇等人研究发现<sup>[14]</sup>,白花蛇舌草多糖可以调节免疫抑制小鼠的免疫功能。本研究结果同样发现,与荷瘤模型组比较,白花蛇舌草多糖高、低剂量组小鼠淋巴细胞转化程度及 CTL 杀伤活性均显著升高。以上结果表明,白花蛇舌草多糖可以通过增加免疫器官重量、提高小鼠淋巴细胞转化程度及增强小鼠 CTL 杀伤活性来促进荷瘤小鼠免疫功能的提高。

在机体抗肿瘤免疫反应过程中,T 细胞亚群发挥重要调节作用<sup>[15]</sup>。在生理条件下,机体内各 T 淋巴细胞亚群之间相互作用,保持动态的平衡以维持机体正常免疫功能;当动态平衡被打破,不同淋巴细胞亚群功能和数量发生异常时,可引起免疫功能下降并导致病理性改变<sup>[16]</sup>。在成熟 T 淋巴细胞表面,CD4、CD8 不能同时表达,因而成熟的 T 淋巴细胞分为 CD4+T 淋巴细胞亚群和 CD8+T 淋巴细胞亚群。T 淋巴细胞亚群的检测对恶性肿瘤的诊断、治疗及预后均有重要意义,其中 CD4+T 淋巴细胞数目增加会提升免疫能力,CD8+T 淋巴细胞数目减少会抑制肿瘤生长,CD4+/CD8+ 比值降低被认为是肿瘤细胞免疫功能处于抑制状态的表现<sup>[17]</sup>。本研究结果发现,与荷瘤模型组比较,HDP 高、低剂量组小鼠外周血 T 淋巴 CD4+ 细胞百分比及 CD4+/CD8+ 比值增加,而 CD8+ 细胞百分比降低,表明白花蛇舌草多糖可以通过调节 T 细胞亚群比例发挥抑制肾癌荷瘤小鼠肿瘤生长的作用。

IFN- $\gamma$  和 IL-2 等细胞因子与肿瘤的发生、发展、转移及预后存在着紧密联系,在肿瘤免疫治疗中发挥重要作用<sup>[18]</sup>。IFN- $\gamma$  也称调节免疫型干扰素,可通过免疫调节作用、抑制肿瘤细胞增殖、影响肿瘤细胞周期、抗血管生成等发挥抗肿瘤作用<sup>[19]</sup>。研究发现,在恶性肿瘤患者体内 IL-2 表达明显降低,其含量高与肿瘤的发生及进展密切

相关;IL-2 含量的提高,可以促进 T 细胞对肿瘤抗原的敏感性,增强机体抗肿瘤免疫作用<sup>[20]</sup>。陈培丰等<sup>[21]</sup>发现,龙葵提取物可以抑制 Lewis 肺癌移植瘤的生长,该作用与升高荷瘤小鼠血清 IFN- $\gamma$ 、IL-2 水平有关。本研究同样发现,与荷瘤模型组比较,白花蛇舌草多糖高、低剂量组小鼠血清 IFN- $\gamma$  和 IL-2 水平均显著增加,表明提高荷瘤小鼠血清细胞因子水平可能是白花蛇舌草多糖抑制肾癌荷瘤小鼠肿瘤生长的潜在机制。

综上所述,白花蛇舌草多糖对肾癌荷瘤小鼠肿瘤生长具有抑制作用,该作用与免疫调节作用有关。

#### 参考文献:

- [1] 王 骁,范焕芳,李德辉,等. 白花蛇舌草的抗癌作用研究进展[J]. 中国药房,2019,30(10):1428-1431.
- [2] 余学英,金 尧,杨 娥,等. 白花蛇舌草多糖研究进展[J]. 中兽医医药杂志,2017,36(3):78-79.
- [3] 杨培民,代 龙,李钦青,等. 白花蛇舌草多糖对人宫颈癌 Hela 细胞和人肝癌 Bel-7402 细胞生长的影响[J]. 现代中药研究与实践,2010,24(3):32-34.
- [4] Lin L, Cheng K, Xie Z, et al. Purification and characterization a polysaccharide from *Hedyotis diffusa* and its apoptosis inducing activity toward human lung cancer cell line A549[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 122(2): 64-71.
- [5] 苏延旭,夏爱军,苏志恒,等. 白花蛇舌草多糖诱导人胃癌细胞凋亡作用的研究[J]. 解放军药学报,2014,30(6):493-496.
- [6] 瞿俊勇,田 梦,贺建华,等. 白花蛇舌草多糖体外免疫活性研究[J]. 中国兽医医药杂志,2015,34(3):17-20.
- [7] Peng B, Zheng J H, Li H. Effect of retroperitoneal laparoscopic radical nephrectomy of renal carcinoma (nephroma) on perioperative cell immunity[J]. *J Endourol*, 2008, 22(9): 2161-2164.
- [8] Lin L, Cheng K, He Z, et al. A polysaccharide from *Hedyotis diffusa* interrupts metastatic potential of lung adenocarcinoma A549 cells by inhibiting EMT via EGFR/Akt/ERK signaling pathways[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 129(5): 706-714.
- [9] Wu C, Luo H, Ma W, et al. Polysaccharides isolated from *Hedyotis diffusa* inhibits the aggressive phenotypes of laryngeal squamous carcinoma cells via inhibition of Bel-2, MMP-2, and UPA[J]. *Gene*, 2017, 637(12): 124-129.
- [10] 杨培民,代 龙,刘 英,等. 白花蛇舌草多糖对 S180 和 H22 荷瘤小鼠的抗肿瘤作用研究[J]. 西北药学杂志,2010,25(1):33-34.
- [11] 蔡创威,黄晓月,聂芳红,等. *Cordyceps sinensis* CAMT 63341 液态发酵多糖对小鼠若干行为学指标及免疫器官指数的影响[J]. 食品科学,2018,39(1):232-237.
- [12] 宋 宇,黄可欣,李冬梅,等. 硝酸镧对小鼠特异性抗体的形成、淋巴细胞转化和腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响[J]. 吉林大学学报(医学版),2012,38(6):1048-1051.
- [13] 李满妹,徐 炎,程 燕,等. 穿心莲二萜类化合物对 B16 细胞致敏小鼠 CTL 杀伤活性的影响[J]. 中国药理学通报,2007,23(5):688-692.

- [14] 瞿俊勇, 田 梦, 贺建华, 等. 白花蛇舌草多糖对免疫抑制小鼠的免疫调节作用研究[J]. 中药材, 2015, 38(9): 1942-1945.
- [15] Chraa D, Naim A, Olive D, et al. T lymphocyte subsets in cancer immunity: Friends or foes[J]. *J Leukoc Biol*, 2019, 105(2): 243-255.
- [16] Zhang L N, Xin T, Chen M, et al. Chemoresistance in mesenchymal lung cancer cells is correlated to high regulatory T cell presence in the tumor microenvironment[J]. *IUBMB Life*, 2019, 71(7): 986-991.
- [17] Wang X B, Wu D J, Chen W P, et al. Impact of radiotherapy on immunological parameters, levels of inflammatory factors, and clinical prognosis in patients with esophageal cancer[J]. *J Radiat Res*, 2019, 60(3): 353-363.
- [18] Jafarina M, Mehdipour F, Hosseini S V, et al. Determination of a CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>FoxP3<sup>+</sup> T cells subset in tumor-draining lymph nodes of colorectal cancer secreting IL-2 and IFN- $\gamma$ [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(11): 14659-14666.
- [19] Green D S, Husain S R, Johnson C L, et al. Combination immunotherapy with IL-4 pseudomonas exotoxin and IFN- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  mediate antitumor effects *in vitro* and in a mouse model of human ovarian cancer [J]. *Immunotherapy*, 2019, 11(6): 483-496.
- [20] Goyal N, Kashyap B, Singh N P, et al. Comparative diagnostic utility of neopterin and IFN- $\gamma$ /IL-2 in extrapulmonary tuberculosis [J]. *Indian J Clin Biochem*, 2017, 32(4): 453-458.
- [21] 陈培丰, 高聚伟, 潘 磊. 龙葵氯仿及正丁醇提取物对 Lewis 肺癌移植瘤增殖及其血清 IFN- $\gamma$ 、IL-2 和 IL-4 含量的影响[J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(8): 1799-1802.

## 五味子及其不同炮制品对 D-半乳糖诱导衰老小鼠的影响

赵芷含<sup>1,2</sup>, 庞 博<sup>1</sup>, 高 慧<sup>1\*</sup>

(1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600; 2. 辽宁农业职业技术学院, 辽宁 营口 115009)

**摘要:** 目的 探究五味子及其不同炮制品对 D-半乳糖诱导衰老小鼠的影响。方法 腹腔注射 D-半乳糖 (0.5 g/kg) 构建大鼠衰老模型。大鼠随机分成空白对照组、模型组、阳性对照组、生五味子组、酒五味子组、醋五味子组 (0.9、1.8、3.6 g/kg)。从第 11 天开始, 阳性对照组灌胃 200 mg/kg 维生素 E, 生、酒、醋五味子组分别灌胃低、中、高剂量的五味子水煎液, 连续给药 32 d。末次给药后, 检测各组小鼠抓力、体质量及脾脏、肝脏系数, 检测小鼠血清中 CAT、SOD、GSH、T-AOC 水平, 测定脑匀浆中 LDH、AchE、SOD、MDA、D-LA 水平; 光镜下观察各组小鼠脑组织形态变化。结果 各给药组小鼠体质量、抓力大小及脏器系数高于模型组 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); 各给药组均能提高血清中 CAT、SOD、GSH、T-AOC 水平 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 提高脑组织匀浆中 SOD、D-LA 水平 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 降低 AchE、MDA、LDH 水平 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。其中酒五味子作用最佳, 中剂量效果较好。结论 五味子及不同炮制品均有抗衰老作用, 酒五味子抗衰老作用最好。

**关键词:** 五味子; 醋五味子; 酒五味子; 抗衰老; D-半乳糖

**中图分类号:** R285.5

**文献标志码:** B

**文章编号:** 1001-1528(2021)03-0769-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.03.040

五味子为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实, 归肺、心、肾经。具有收敛固涩、益气生津、补肾宁心的功效<sup>[1]</sup>。传统理论有五味子“入嗽药生用, 入补药熟用”<sup>[2]</sup>的说法。酒五味子和醋五味子是其常见的炮制品种, 课题组前期已经通过补肾阳、补肾阴等系列药效学实验证明了酒五味子的补益作用<sup>[3-4]</sup>。五味子及其不同炮制品抗衰老作用进行比较研究, 从延缓衰老方面进一步证明酒五味子“入补药熟用”的传统理论, 为五味子临床上的“生熟异用”提供现代药理学

依据。

随着年龄的不断增长, 机体内各抗氧化防御系统机能均有一定程度的减退, 从而引起各组织和器官的氧化损伤, 进一步导致组织及器官甚至机体的衰老<sup>[5]</sup>。因此, 本实验采用 D-半乳糖建立实验动物衰老模型, 对衰老引起的机体内各抗氧化防御系统及五味子抗衰老作用进行研究。

### 1 材料

1.1 仪器 数控超声波清洗机 (KQ-250DB 型, 昆山市超声仪器有限公司); 移液器 (美国 Thermo 公司); DW-

收稿日期: 2019-07-02

基金项目: 省级中药炮制技术传承基地项目 (CCJDXM2018-03)

作者简介: 赵芷含 (1994—), 女, 硕士, 助教, 从事中药炮制方向。Tel: 18641866799, E-mail: 18641866799@163.com

\* 通信作者: 高 慧 (1974—), 女, 博士, 教授, 从事中药炮制原理研究。Tel: (0411) 85890151, E-mail: gaohuitem@163.com