

人参皂苷 Rg3 对环磷酰胺致免疫功能低下小鼠的免疫调节作用

郑厚胜^{1,2}, 郑斯文², 王英平^{1,2*}, 白玉洁¹

(1. 吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118; 2. 中国农业科学院特产研究所, 吉林 长春 130112)

摘要: 目的 探讨人参皂苷 Rg3 对环磷酰胺致免疫功能低下小鼠的免疫调节作用。方法 环磷酰胺建立免疫低下模型, 检测人参皂苷 Rg3 对小鼠各项指标的影响。结果 人参皂苷 Rg3 可提高小鼠脾脏指数, 增强脾淋巴细胞增殖活性、迟发型变态反应、碳廓清能力、对 NK 细胞杀伤力, 减轻免疫抑制的病理特征, 还可上调血清 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2 水平。结论 人参皂苷 Rg3 可明显改善环磷酰胺致免疫功能低下小鼠的免疫功能。

关键词: 人参皂苷 Rg3; 环磷酰胺; 免疫调节

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2021)11-3202-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.11.053

环磷酰胺 (cyclophosphamide, CTX) 适用于抗肿瘤和部分免疫性疾病^[1-2]。CTX 是一种细胞毒性药物, 它在体外没有活性, 在体内它可以破坏 DNA 的结构, 切断拷贝导致体内细胞死亡^[3]。研究表明, 长期使用 CTX 具有极大的副作用, 如免疫抑制, 骨髓抑制和白细胞减少^[4-6]。因此, CTX 经常用于构建免疫抑制的鼠模型。

药理学研究证明, 人参皂苷 Rg3 具有调节免疫^[7-9]、抗氧化^[10]和神经保护作用等^[11]。20 (R) -Rg3 可能通过减少脂质过氧化物、清除自由基和改善能量代谢来降低大鼠脑缺血性脑损伤^[12], 还可以通过激活 PI3K/Akt 通路抑制氧化反应和炎症反应, 减轻叔丁基过氧化氢引起的肝细胞坏死和凋亡^[13]。Rg3 可有效增强免疫功能低下小鼠的细胞免疫功能^[14], 20 (S) -Rg3 可以直接驱动 B 细胞产生 IgA^[15]。20 (R) -Rg3 和 20 (S) -Rg3 均能增强小鼠对 OVA 诱导的免疫反应, 使细胞因子 IL-12、IL-4、IL-10、IFN- γ 、IgG2a 和 IgG3 增加^[16]。此外, Rg3 还可以降低化学抗性诱导的 PD-L1 表达并恢复 T 细胞对癌细胞的细胞毒性。因此, Rg3 被认为是靶向 PD-L1 的新药^[8]。

1 材料

1.1 动物 雄性 SPF 级 BALB/c 小鼠, 体质量 (24 \pm 2) g, 购自长春亿斯实验动物技术有限责任公司, 实验动物生产许可证号 SCXK (吉) -2017-0005。小鼠自由饮食饮水, 在温度 24.0 $^{\circ}$ C、相对湿度 60% 下适应性饲养 2 周后进行实验。

1.2 细胞株 YAC-1 细胞, 购自中国科学院细胞库。

1.3 药物与试剂 人参皂苷 Rg3 (吉林大学, 纯度为 97%)。环磷酰胺 (江苏盛迪医药有限公司); 刀豆蛋白 (Concanavalin, ConA)、脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS)、红细胞裂解液、Hank's 液、曲拉通 TritonX-100、

Enhanced Cell Counting Kit-8 (CCK-8) (北京索莱宝生物科技有限公司); 无支原体胎牛血清 (美国 Gibco 公司); RPMI-1640 培养基 (美国 Hyclone 公司); IFN- γ 、TNF- α 、IL-2 试剂盒 (上海朗顿生物技术有限公司)。

1.4 仪器 Allegra X-30R centrifuge 离心机 (美国贝克曼库尔特公司); BB150 二氧化碳培养箱 (美国 Thermo Scientific 公司); MDF-782 超低温冰箱 (日本 Panasonic 公司); Allegra X-22 R 冷冻离心机 (美国 Beckman Coulter 公司); 酶联免疫检测仪 (美国 Bio Tek 公司)。

2 方法

2.1 分组、造模及给药 60 只小鼠随机分成 6 组, 每组 10 只, 即空白对照组 (腹腔注射生理盐水)、模型组 (腹腔注射生理盐水)、阳性对照组 (灌胃给予盐酸左旋咪唑 100 mg/kg)、低剂量组 (腹腔注射人参皂苷 Rg3 1 mg/kg)、中剂量组 (腹腔注射人参皂苷 Rg3 2.5 mg/kg)、高剂量组 (腹腔注射人参皂苷 Rg3 5 mg/kg), 除空白对照组外, 其余各组于给药第 5 天时腹腔注射环磷酰胺 (80 mg/kg), 连续 3 d, 间隔 3 d 后, 再以相同剂量连续腹腔注射 2 d, 造模期间正常给药, 共 15 d。

2.2 小鼠脾脏指数测定 末次给药 24 h 后, 小鼠称定体质量, 摘眼球采血, 颈椎脱臼处死, 取脾脏, 剥除结缔组织, 预冷 PBS 冲洗残血后滤纸吸去残液, 称定脾脏质量, 计算脾脏指数, 公式为脾脏指数=脾脏质量/体质量。

2.3 小鼠脾淋巴细胞增殖反应实验 末次给药 24 h 后, 小鼠颈椎脱臼处死, 酒精消毒 3 min, 超净工作台取脾, 剥除结缔组织, 加入 3 mL Hank's 液, 10 mL 注射器芯研磨, 过 70 μ m 细胞筛, 离心加入红细胞裂解液 3 min, 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养液清洗 2 次, 制得均匀细胞悬液, 台盼蓝染色后计数 (活细胞在 95% 以上), 调细胞密

收稿日期: 2020-02-09

基金项目: 吉林省科技发展计划项目任务书 (20180311108YY)

作者简介: 郑厚胜 (1994—), 男, 硕士生。Tel: (0431) 81919806, E-mail: 1974905231@qq.com

* 通信作者: 王英平 (1967—), 男, 研究员, 博士生导师。Tel: (0431) 81919806, E-mail: yingpingw@126.com

度为 1×10^6 /mL, 设对照孔, 脾细胞悬液 100 μ L; 刺激孔, 脾细胞悬液 100 μ L+conA (终质量浓度为 5 μ g/mL)、脾细胞悬液 100 μ L+LPS (终质量浓度为 10 μ g/mL); 空白孔, RPMI-1640 完全培养液 100 μ L, 在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中分别孵育 24、48 h 后, 每孔加 CCK-8 显色剂 10 μ L 继续孵育 3 h, 在 450 nm 下测定吸光度。

2.4 迟发型变态反应 (DTH) 实验 于检测前 4 d, 小鼠以 2% 无菌脱脂 SRBC 腹腔注射致敏, 每只 0.2 mL, 4 d 后测量左侧足趾厚度, 平行 3 次, 取平均值, 并在测量处注射 20% SRBC 20 μ L, 24 h 后再次测量, 平行 3 次, 取平均值, 以注射前后足趾厚度差值来表示 DTH 程度。

2.5 小鼠碳廓清实验 末次给药 24 h 后, 小鼠尾静脉注射 4 倍稀释墨汁 (0.1 mL/10 g), 立即计时, 分别在 2、10 min 眼缘静脉采血, 取 20 μ L 加到 2 mL 0.1% Na₂CO₃ 中混匀, 在 600 nm 波长处测光密度 (OD), 颈椎脱臼处死, 取肝、脾称定质量, 以吞噬系数 α 表示小鼠碳廓清能力。

计算公式为 $\alpha = \frac{m_1}{m_2 + m_3} \times \sqrt[3]{K}$, $K = (\lg OD_{2 \text{ min}} - \lg OD_{10 \text{ min}}) / (t_{10 \text{ min}} - t_{2 \text{ min}})$, 其中 m_1 为小鼠体质量, m_2 为肝质量, m_3 为脾质量。

2.6 细胞因子测定 末次给药 24 h 后, 小鼠摘眼球取血, 分离血清, 按 ELISA 试剂盒说明书中操作方法检测 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2 水平, 用 Chem3D 软件绘制人参皂苷 Rg3 化学结构, 作为对接配体, 再从 PDB 数据库中下载 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2 三维结构。应用 Autodock 分子对接软件, 使用 Pymol 模块进行蛋白准备, 删掉水分子, 移除磷酸根, 加上极性氢原子, 赋予电荷, 添加磁场。提取已知配体, 保存文件。运用 AutodockTool-1.5.6 转换格式, 寻找活性口袋, 最后通过 vina 进行对接。

2.7 组织学观察 将小鼠脾脏固定在 10% 缓冲甲醛中, 脱水透明后包埋, 从石蜡块切下 4 μ m 切片, HE 染色切片, 在显微镜下观察。

2.8 统计学分析 通过 prism 统计软件进行数据统计, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, LSD 法进行显著性检验。P < 0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 人参皂苷 Rg3 对小鼠体质量、脾脏指数的影响 由表 1、图 1 可知, 与空白对照组比较, 模型组小鼠体质量、脾脏指数降低 (P < 0.01); 与模型组比较, 阳性对照组小鼠体质量升高 (P < 0.05), 而各给药组小鼠体质量无明显变化 (P > 0.05), 阳性对照组、各给药组小鼠脾脏指数升高 (P < 0.01)。

3.2 对小鼠脾淋巴细胞增殖的影响 由图 2 可知, 在 24、48 h 后与空白对照组比较, 模型组在自然、ConA 刺激条件下 OD 值均升高 (P < 0.05); 与模型组比较, 除阳性对照组外, 各给药组在自然、ConA 刺激条件下 OD 值提高 (P < 0.05, P < 0.01)。与空白对照组比较, 模型组在 LPS 刺激

表 1 人参皂苷 Rg3 对小鼠体质量、脾脏指数的影响 ($\bar{x} \pm s$, n = 10)

| 组别 | 剂量/(mg·kg ⁻¹) | 体质量/g | 脾脏指数/(mg·g ⁻¹) |
|-------|---------------------------|--------------------------|----------------------------|
| 空白对照组 | — | 29.51±1.69 | 5.36±0.72 |
| 模型组 | — | 23.81±2.66 ^{##} | 2.17±0.32 ^{##} |
| 阳性对照组 | 100 | 26.27±2.47* | 3.08±0.35** |
| 低剂量组 | 1 | 25.73±2.59 | 3.00±0.37** |
| 中剂量组 | 2.5 | 24.67±2.90 | 5.34±0.67** |
| 高剂量组 | 5 | 24.97±1.53 | 7.48±0.79** |

注: 与空白对照组比较, ^{##}P < 0.01; 与模型组比较, * P < 0.05, ** P < 0.01。

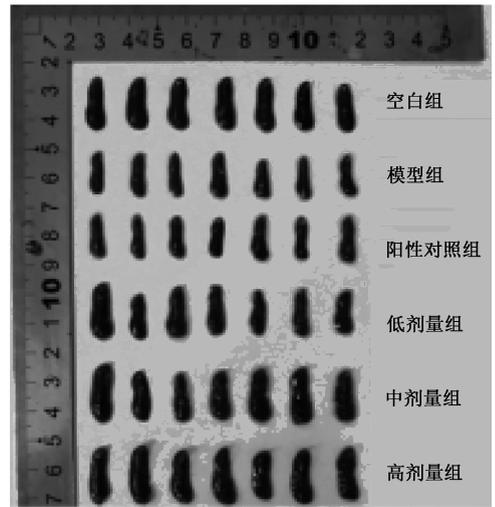


图 1 人参皂苷 Rg3 对小鼠脾脏指数的影响

条件下 OD 值升高 (P < 0.01); 与模型组比较, 各组在自然、LPS 刺激条件下 OD 值均升高 (P < 0.01)。

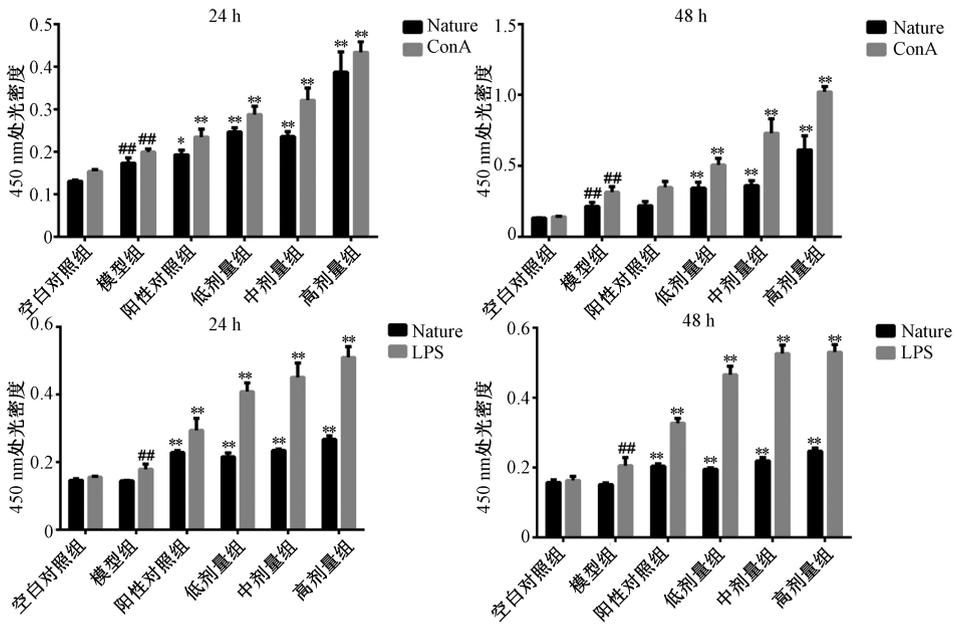
3.3 人参皂苷 Rg3 对小鼠吞噬指数、足趾厚度差值的影响 由表 2 可知, 与空白对照组比较, 模型组小鼠吞噬指数、足趾厚度差值降低 (P < 0.01); 与模型组比较, 各给药组小鼠吞噬指数 (除低剂量组外)、足趾厚度差值升高 (P < 0.05, P < 0.01)。

表 2 人参皂苷 Rg3 对小鼠碳廓清及 DTH 的影响 ($\bar{x} \pm s$, n = 10)

| 组别 | 吞噬指数 α | 足趾厚度差值/mm |
|-------|-------------------------|---------------------------|
| 空白对照组 | 5.41±0.27 | 0.860±0.096 |
| 模型组 | 4.68±0.22 ^{##} | 0.277±0.033 ^{##} |
| 阳性对照组 | 5.40±0.31** | 0.345±0.017* |
| 低剂量组 | 4.79±0.21 | 0.375±0.032** |
| 中剂量组 | 5.38±0.62** | 0.467±0.055** |
| 高剂量组 | 5.76±0.32** | 0.477±0.041** |

注: 与空白对照组比较, ^{##}P < 0.01; 与模型组比较, * P < 0.05, ** P < 0.01。

3.4 人参皂苷 Rg3 对小鼠血清 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2 水平的影响 由表 3 可知, 与空白对照组比较, 模型组小鼠 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2 水平均降低 (P < 0.05, P < 0.01); 与模型组比较, 阳性对照组、各给药组 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2 水平均升高 (P < 0.05, P < 0.01)。另外, 人参皂苷 Rg3 与靶点蛋白对接得分分别为 IFN (-7.6)、IL-2 (-7.3)、TNF (-9.3), 其数值越小, 构想越合理, 小于 -7 的值说明结合模式是良好的, 见图 3。



注：与空白对照组比较，## $P < 0.01$ ；与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

图2 人参皂苷 Rg3 对小鼠脾淋巴细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

表3 人参皂苷 Rg3 对小鼠血清 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

| 组别 | IFN- γ /($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$) | TNF- α /($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$) | IL-2/($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$) |
|-------|---|--|--|
| 空白对照组 | 327.75 \pm 32.26 | 286.75 \pm 19.77 | 30.20 \pm 1.424 |
| 模型组 | 250.12 \pm 29.99## | 239.52 \pm 17.63# | 24.12 \pm 1.555# |
| 阳性对照组 | 292.48 \pm 15.00** | 376.16 \pm 12.41** | 29.65 \pm 2.280 |
| 低剂量组 | 288.47 \pm 27.89* | 354.88 \pm 27.74** | 27.04 \pm 1.673 |
| 中剂量组 | 284.12 \pm 37.97* | 352.24 \pm 32.48** | 27.80 \pm 2.913 |
| 高剂量组 | 262.69 \pm 24.27 | 360.20 \pm 17.52** | 36.18 \pm 2.051** |

注：与空白对照组比较，## $P < 0.01$ ；与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

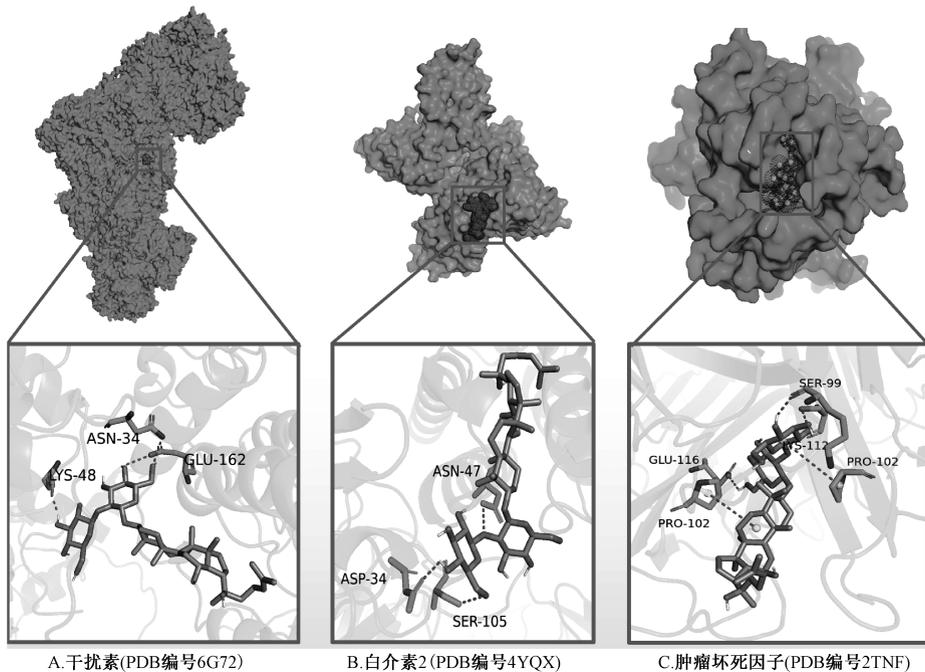
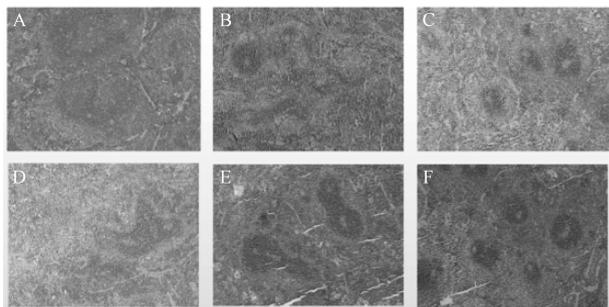


图3 人参皂苷 Rg3 与 IL-2、IFN- γ 、TNF- α 的结合

3.5 人参皂苷 Rg3 对免疫低下小鼠脾脏组织病理变化的影响
模型组小鼠脾脏红髓和白髓混合，小梁被拆散或消失，

脾窦扩张，脾脏淋巴细胞减少；各给药组小鼠红髓和白髓混合现象明显减轻，小梁清晰可见，脾脏淋巴细胞明显增

多, 见图4。



注: A 为空白对照组, B 为模型组, C 为阳性对照组, D 为低剂量组, E 为中剂量组, F 为高剂量组。

图4 人参皂苷 Rg3 对小鼠脾脏病理形态的影响 (×10)

4 讨论

研究表明, Rg3 具有多种药理活性, 包括调节免疫系统。通过刺激树突状细胞 (DC), 促进 Th1 细胞分泌细胞因子, 还可以诱导 CD4⁺ T 细胞 (Th) 向 Th1 型分化^[9]。其与化疗药物联用, 可以发挥抗肿瘤作用^[17-18]。人参皂苷 Rg3 有两种类型, 20 (R) -Rg3 和 20 (S) -Rg3, 可以立体特异性的促进免疫反应, 20 (R) -Rg3 在临床上用于癌症治疗或其它免疫介导的疾病时效果更佳^[16]。

脾脏是成熟 T 细胞、B 细胞定居的场所, 具有合成生物活性因子、过滤和净化血液的作用。抗原或有丝分裂原可引起 T 和 B 淋巴细胞的分裂, ConA 诱导的细胞分裂常用于检测 T 淋巴细胞免疫活性, LPS 诱导的细胞分裂常用于检测 B 淋巴细胞免疫活性^[19]。IL-2 是 Th1 细胞产生的重要免疫因子, 与 IL-2 受体结合后可诱发免疫细胞的增殖, 抑制肿瘤细胞分裂^[20], 并增强 NK 细胞的活性^[21], 从而增加 IFN- γ 的产生^[22]。IL-2 还促进 B 细胞的分化和分泌, IL-2 与 IL-21 共同刺激幼稚 B 细胞, 其产生浆细胞的频率和分泌的 IgM、IgG 和 IgA 的量增加了 2 至 5 倍^[23]。肝、脾等处的巨噬细胞会清除血液中的碳粒, 活性越强, 清除能力越强, 而 TNF- α 是活化的单核细胞和淋巴细胞的产物。在本实验中, 通过腹腔注射人参皂苷 Rg3, 可以提高免疫低下小鼠的脾脏指数、脾淋巴细胞增殖活性、NK 细胞的活性及碳廓清能力。这表明 Rg3 可能通过调节免疫低下小鼠血清 IL-2、TNF- α 的水平, 对抗 CTX 对小鼠免疫细胞活性的抑制, 从而达到调节免疫的作用。由分子对接可知人参皂苷 Rg3 与 IL-2、IFN- γ 、TNF- α 主要通过氢键和 π - π 堆积等相互作用进行结合。人参皂苷 Rg3 与 IL-2、IFN- γ 主要通过 3 条氢键相连、与 TNF- α 主要通过 3 条氢键、2 条 π - π 堆积相连, 拥有较好的结合模式。

腹腔注射不同剂量的 Rg3 对 CTX 致免疫低下小鼠的脾脏指数、脾淋巴细胞增殖能力、NK 细胞杀伤能力及碳廓清能力的提高都呈现良好的剂量依赖性。但对于小鼠体质量的增加、胸腺损伤的修复及外周血白细胞数并没有明显提高, 建议增加药物配伍使用, 增强对胸腺组织损伤的修复, 以进一步增强化疗患者的免疫功能。

参考文献:

- [1] Manente F A, Quinello C, Ferreira L S, et al. Experimental sporotrichosis in a cyclophosphamide-induced immunosuppressed mice model[J]. *Med Mycol*, 2018, 56(6): 711-722.
- [2] Zhou Y, Chen X, Yi R, et al. Immunomodulatory effect of tremella polysaccharides against cyclophosphamide-induced immunosuppression in mice[J]. *Molecules*, 2018, 23(2): 239.
- [3] Deng J, Zhong Y F, Wu Y P, et al. Carnosine attenuates cyclophosphamide-induced bone marrow suppression by reducing oxidative DNA damage[J]. *Redox Biology*, 2018, 14(1): 1-6.
- [4] Sun C H, Yang J, Pan L H, et al. Improvement of icaritin on hematopoietic function in cyclophosphamide-induced myelosuppression mice [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2018, 40(1): 25-34.
- [5] Feng L, Huang Q, Huang Z, et al. Optimized animal model of cyclophosphamide-induced bone marrow suppression [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2016, 119(5): 428-435.
- [6] Kiselevskii M V, Anisimova N Y, Sitdikova S M, et al. A combination of muramylpeptides from gram-negative bacteria corrects hematological and immunological disorders induced by cyclophosphamide[J]. *Bull Exp Biol Med*, 2019, 167(3): 371-374.
- [7] Liu X, Zhang Z, Liu J, et al. Ginsenoside Rg3 improves cyclophosphamide-induced immunocompetence in Balb/c mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 72(1): 98-111.
- [8] Jiang Z, Yang Y, Yang Y, et al. Ginsenoside Rg3 attenuates cisplatin resistance in lung cancer by downregulating PD-L1 and resuming immune[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96(1): 378-383.
- [9] Cho M, Choi G, Shim I, et al. Enhanced Rg3 negatively regulates Th1 cell responses[J]. *J Ginseng Res*, 2019, 43(1): 49-57.
- [10] Zhou Y D, Hou J G, Liu W, et al. 20 (R) -ginsenoside Rg3, a rare saponin from red ginseng, ameliorates acetaminophen-induced hepatotoxicity by suppressing PI3K/AKT pathway-mediated inflammation and apoptosis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 59(1): 21-30.
- [11] Mohanan P, Subramaniyam S, Mathiyalagan R, et al. Molecular signaling of ginsenosides Rb1, Rg1, and Rg3 and their mode of actions [J]. *J Ginseng Res*, 2018, 42(2): 123-132.
- [12] He B, Chen P, Yang J, et al. Neuroprotective effect of 20 (R) -ginsenoside Rg3 against transient focal cerebral ischemia in rats[J]. *Neurosci Lett*, 2012, 526(2): 106-111.
- [13] Lee H U, Bae E A, Han M J, et al. Hepatoprotective effect of 20 (S) -ginsenosides Rg3 and its metabolite 20 (S) -ginsenoside Rh2 on tert-butyl hydroperoxide-induced liver injury [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(10): 1992-1994.
- [14] Wu R, Ru Q, Chen L, et al. Stereospecificity of ginsenoside Rg3 in the promotion of cellular immunity in hepatoma H22-bearing mice[J]. *J Food Sci*, 2014, 79(7): 1430-1435.
- [15] Park H Y, Lee S H, Lee K S, et al. Ginsenoside Rg1 and 20

- (S) -Rg3 induce IgA production by mouse B cells[J]. *Immune netw*, 2015, 15(6): 331-336.
- [16] Wei X, Chen J, Su F, et al. Stereospecificity of ginsenoside Rg3 in promotion of the immune response to ovalbumin in mice [J]. *Int Immunol*, 2012, 24(7): 465-471.
- [17] Li R, Dominik R, Li R, et al. Analysis of the immunological microenvironment at the tumor site in patients with non-small cell lung cancer [J]. *Langenbeck's Arch Surg*, 2003, 388(6): 406-412.
- [18] Shan K, Wang Y, Hua H, et al. Ginsenoside Rg3 combined with oxaliplatin inhibits the proliferation and promotes apoptosis of hepatocellular carcinoma cells via downregulating PCNA and cyclin D1[J]. *Biol Pharm Bull*, 2019, 42(6): 900-905.
- [19] 李晓亮, 魏娜, 王鹏程, 等. 商陆均一多糖对小鼠脾细胞增殖及细胞因子分泌的影响[J]. *中医学报*, 2019, 47(3): 10-13.
- [20] Wang X, Rickert M, Garcia K C. Structure of the quaternary complex of interleukin-2 with its α , β , and γ_c Receptors[J]. *Science*, 2005, 310(5751): 1159-1163.
- [21] Ferlazzo G, Thomas D, Lin S L, et al. The abundant NK cells in human secondary lymphoid tissues require activation to express killer cell Ig-like receptors and become cytolytic [J]. *J Immunol*, 2004, 172(3): 1455-1462.
- [22] Szabo S J, Sullivan B M, Stemmann C, et al. Distinct effects of T-bet in TH1 lineage commitment and IFN- γ production in CD4 and CD8 T cells[J]. *Science*, 2002, 295(5553): 338-342.
- [23] Berglund L J, Avery D T, Ma C S, et al. IL-21 signalling via STAT3 primes human naive B cells to respond to IL-2 to enhance their differentiation into plasmablasts [J]. *Blood*, 2013, 122(24): 3940-3950.

基于网络药理学研究白头翁汤治疗结直肠癌的作用机制

伍谨林¹, 杨柱^{1,2}, 龙奉玺^{1,2}, 吴文字^{2,3}, 姚琦^{2,3}, 杨兵^{2,3}, 刘薰¹, 唐东昕^{1,2*}
(1. 贵州中医药大学, 贵州 贵阳 550002; 2. 贵州省中医肿瘤传承与科技创新人才基地, 贵州 贵阳 550002; 3. 贵州中医药大学附属第一医院, 贵州 贵阳 550002)

摘要: 目的 基于网络药理学研究白头翁汤治疗结直肠癌的作用机制。方法 利用 Cytoscape 软件、Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform、GeneCards、Online Mendelian Inheritance in Man 数据库构建“疾病-药物化学成分-靶点”网络推测白头翁汤治疗结直肠癌有效化学成分, 进行 GO 功能富集和 KEGG 通路富集分析, 构建“信号通路-靶点”网络, 推测核心靶点。用白头翁汤治疗人源性结直肠癌 SW480 细胞建立的右侧腋下转移瘤模型裸鼠。测量各组裸鼠右侧腋下转移瘤体积, HE 染色观察转移瘤病理变化, Western blot 法检测相关因子的蛋白表达。结果 白头翁汤有 4 种主要有效化学成分和 26 个核心靶点。GO 分析提示, 白头翁汤可能通过影响肿瘤途径、炎症因素、细胞增殖及凋亡、血管生成、能量代谢、蛋白质及脂肪代谢等多个生物学过程治疗结直肠癌。KEGG 分析发现, 有 10 条信号通路与结直肠癌关系紧密, 主要与肿瘤代谢途径、血管生成途径、细胞凋亡途径及炎症途径相关, 而蛋白激酶 B1 (Akt1)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、细胞凋亡促进基因 (Bax) 及血管内皮生长因子 A (VEGFA) A 与上述 4 条途径相关性大, 推测为核心靶点中的关键靶点。实验证明, 白头翁汤能减小裸鼠右侧腋下转移瘤体积, 并改善小鼠结直肠癌病理, 下调 Akt1、IL-1 β 、VEGFA 蛋白表达, 但对 Bax 蛋白表达影响不明显。结论 白头翁汤可通过多途径、多靶点治疗结直肠癌。

关键词: 白头翁汤; 结直肠癌; 网络药理学

中图分类号: R966

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2021)11-3206-10

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.11.054

收稿日期: 2020-04-11

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目 (81660833, 81673862, 81760814); 贵州省教育厅项目 (黔教研合 GZS 字 [2016] 08); 贵州省科技厅项目 [黔科合人才 (2016) 4032]; 贵州省组织部项目 (黔人领发 [2018] 3); 贵州省研究生工作站计划 (教育厅) (黔教研合 JYSZ 字 [2014] 018)

作者简介: 伍谨林 (1984—), 男, 硕士生, 从事中医药防治肿瘤研究。Tel: 13696106057, E-mail: 734372510@qq.com

* **通信作者:** 唐东昕 (1977—), 男, 教授, 从事中医药 (民族医药) 防治肿瘤的基础与临床研究。Tel: 18608511204, E-mail: tangdongxin@sina.com