

白术多糖通过 TLR4 信号通路对结肠癌 CT26 荷瘤小鼠肿瘤生长及免疫调节的影响

冯子芳， 杨瑞宾*
(兴义市人民医院医学检验科，贵州 兴义 562400)

摘要：目的 探讨白术多糖对结肠癌 CT26 荷瘤小鼠肿瘤生长及免疫调节的影响及与 Toll 样受体 4 (TLR4) 信号通路的作用关系。**方法** 采用 BALB/c 小鼠建立结肠癌 CT26 荷瘤小鼠模型，建模成功后随机分为模型组、阳性对照香菇多糖组和白术多糖低、中、高剂量组，另设置空白对照组，每组 6 只，连续灌胃给药 21 d。观察肿瘤体积并绘制生长曲线；检测抑瘤率、胸腺指数和脾脏指数；流式细胞术检测外周血 CD4⁺ T 细胞，CD8⁺ T 细胞及肿瘤组织髓来源的抑制性细胞 (MDSCs) 比例，并计算 CD4⁺/CD8⁺ 比值；ELISA 法检测血清 TNF- α 及 IL-2 水平；Western blot 检测脾脏组织中 TLR4 信号通路相关蛋白 TLR4、髓样分化因子 88 (MyD88)、TNF 受体相关因子 6 (TRAF6) 和核因子- κ B (NF- κ B p65) 表达。**结果** 与模型组比较，除低剂量组外，其他给药组 CT26 荷瘤小鼠肿瘤生长缓慢，胸腺和脾脏指数、血清 TNF- α 和 IL-2 水平、外周血 CD4⁺ T 细胞亚群比例以及 CD4⁺/CD8⁺ 比值均提高，而 CD8⁺ T 细胞亚群比例以及 MDSCs 细胞水平均降低。此外，中、高剂量组小鼠脾脏组织 TLR4、MyD88、TRAF6 以及 NF- κ B p65 等蛋白表达升高，而香菇多糖组无显著影响。**结论** 白术多糖具有明显的抑制结肠癌 CT26 荷瘤小鼠肿瘤生长以及增强 CT26 荷瘤小鼠免疫功能的作用，其机制可能与激活 TLR4 信号通路转导有关。

关键词：白术多糖；结肠癌 CT26 细胞；免疫调节；TLR4 信号通路

中图分类号：R285.5 **文献标志码：**B **文章编号：**1001-1528(2022)01-0231-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.01.045

结肠癌是一种全球范围内发病率较高，发展极为迅速的恶性肿瘤之一。根据 2000 至 2014 年全球癌症生存趋势监测计划 (CONCORD 计划) 第三阶段的调查数据^[1]显示，我国结肠癌发病率高居所有癌症第 3 位，其 5 年生存率仅有 57.6%，远低于韩国、日本等亚洲其他国家。机体免疫系统在调节肿瘤免疫应答，改变肿瘤微环境中发挥重要作用，但大多数肿瘤细胞因机体免疫功能低下而逃逸免疫监控，最终表现出“免疫逃逸”的现象，这也是导致放疗化疗后肿瘤复发的主要原因^[2]。因此，增强机体免疫功能将有助于提高机体的抗肿瘤效果。随着中医药临床价值逐渐被世界认可，传统中药因其显著的药理作用，在现代医学研究中备受关注。白术多糖是中药白术的主要药效成分之一，其具有抗氧化、保肝、抗炎、抗过敏、抗血栓、抗病毒、抗癌等多种药理作用^[3]。并且有研究显示^[4-5]，白术多糖具有显著的免疫调节作用，能提高机体免疫功能。然而，白术多糖是否通过调控机体免疫功能而发挥抗肿瘤作用，目前鲜有报道。本研究采用结肠癌 CT26 细胞荷瘤小鼠模型，探讨白术多糖干预对荷瘤小鼠肿瘤生长、免疫调节的影响及其可能机制，以期对白术多糖的临床应用提供更多

的药效研究基础。

1 材料与方法

1.1 细胞株与动物 小鼠结肠癌 CT26 细胞购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。无特定病原体 (Specific pathogen free, SPF) 级雌性 BALB/c 小鼠 30 只，6~8 周龄，体质量 18~22 g，购自长沙市天勤生物技术有限公司，动物生产许可证号 SCXK (湘) 2014-0011。在温度 22~24 ℃，相对湿度 40%~70%，通风良好，昼夜 12 h 光照条件下自由饲养。

1.2 试剂与药物 白术多糖 (纯度 $\geq$ 98%，批号 CY181005) 及香菇多糖 (纯度 $\geq$ 98%，批号 CY181203) 均购自陕西慈缘生物技术有限公司。小鼠肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α ；批号 190201) ELISA 试剂盒、小鼠白介素-2 (Interleukin-2, IL-2；批号 190111) ELISA 试剂盒均购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司；别藻蓝蛋白 (Allophycocyanin, APC) 标记的 CD3e 抗体 (批号 561042)、藻红蛋白 (Phycoerythrin, PE) 标记的 CD4 抗体 (批号 553653)、PE-CD8a 抗体 (批号 553032)、异硫氰酸荧光素 (Fluorescein isothiocyanate, FITC) 标记的

收稿日期：2020-02-16
基金项目：贵州省科技计划项目 ([2017] 1193)
作者简介：冯子芳 (1987—)，女，硕士，主管检验师，研究方向为肿瘤免疫学。Tel：(0859) 3297015，E-mail：fzfyh203@163.com
* 通信作者：杨瑞宾 (1981—)，男，副主任检验师，研究方向为肿瘤免疫学。Tel：(0859) 3297015，E-mail：ruibiny_xyh@sina.com
网络出版日期：2021-03-10
网络出版地址：https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20210310.1124.004.html

CD11b 抗体（批号 557396）和 PE 标记的淋巴细胞抗原 6 复合物 G 位点（Ly-6G/Gr-1）抗体（批号 561104）均购自美国 BD 公司；兔抗小鼠 Toll 样受体 4（Toll-like receptor, TLR4）单克隆抗体（批号 14358）、兔抗人髓样分化因子 88（Myeloid differentiation factor 88, MyD88）单克隆抗体（批号 4283）、兔抗人核因子- κ B（Nuclear factor kappa-B, NF- κ B p65）单克隆抗体（批号 8242）和兔抗人 GAPDH 单克隆抗体（批号 5174）购自美国 Cell Signaling Technology 公司；小鼠抗人 TNF 受体相关因子 6（TNF receptor associated factor 6, TRAF6）单克隆抗体（批号 sc-8409）购自美国 Santa Cruz Biotechnology 公司。

1.3 方法

1.3.1 建模及分组 取对数生长期的 小鼠结肠癌 CT26 细胞，调整细胞密度至 1×10^7 /mL，接种于小鼠右前肢背部皮下，每只小鼠接种 0.2 mL 细胞悬液。待接种 7 d 左右，接种处可见平均直径约 5 mm 肿瘤时视为造模成功^[6]。选择肿瘤体积无差异的荷瘤小鼠随机分为 5 组，每组 6 只，即模型组，给予等量生理盐水灌胃处理；阳性对照香菇多糖组，150 mg/kg 香菇多糖灌胃处理；白术多糖低剂量组，125 mg/kg 白术多糖灌胃处理；白术多糖中剂量组，250 mg/kg 白术多糖灌胃处理；白术多糖高剂量组，500 mg/kg 白术多糖灌胃处理；另选取 6 只正常的 BALB/c 小鼠作为空白对照组，给予等量生理盐水灌胃处理，每天 1 次，给药周期为 21 d。给药期间，每 4 d 用游标卡尺测量一次肿瘤长径（ a ）和短径（ b ），按照 $V=ab^2/2$ 计算肿瘤体积并绘制肿瘤生长曲线。

1.3.2 免疫器官指数及抑瘤率测定 末次给药 24 h 后，断颈处死小鼠，称定体质量，在无菌条件下剥离肿瘤、脾、胸腺等组织，称定质量，按照以下公式计算抑瘤率、胸腺指数和脾脏指数^[7]：抑瘤率= $[(\text{模型组平均瘤重}-\text{给药组平均瘤重})/\text{模型组平均瘤重}]\times 100\%$ 、胸腺（脾）指数=胸腺（脾）质量/小鼠体质量。

1.3.3 ELISA 法检测小鼠血清 TNF- α 及 IL-2 表达 采用摘眼球取血法收集各组小鼠外周血，3 000 r/min 离心 10 min，分离血清，按照试剂盒说明书操作，使用酶标仪测定 450 nm 处吸光度，并按照说明书提供的公式计算血清 TNF- α 及 IL-2 水平。

1.3.4 流式细胞仪检测小鼠外周血 T 淋巴细胞亚群 取各组小鼠外周血，加入红细胞裂解液，600 r/min 离心 5 min，弃上清。PBS 重悬细胞，加入 APC-CD3e、PE-CD4 和 PE-CD8a 抗体，室温避光孵育 15 min，PBS 洗涤 2 次后重悬细胞，流式细胞仪上机检测。以 CD3e⁺CD4⁺ 双阳性细胞亚群百分比表示 CD4⁺T 细胞所占比例，以 CD3e⁺CD8⁺ 双阳性细胞亚群表示 CD8⁺T 细胞所占比例，并计算 CD4⁺/CD8⁺ 比值。

1.3.5 流式细胞仪检测肿瘤组织髓来源的抑制性细胞（Myeloid derived suppressor cells, MDSCs）水平 取各组小鼠新鲜肿瘤组织，制备成单细胞悬液，加入 FITC-CD11b 和 PE-Gr-1 抗体，室温避光孵育 15 min，PBS 洗涤 2 次后重悬

细胞，流式细胞仪上机检测。以 Gr-1⁺CD11b⁺ 双阳性细胞亚群百分比代表 MDSC 细胞所占比例。

1.3.6 Western blot 检测脾脏组织中 TLR4 信号通路相关蛋白表达水平 取约 20 mg 各组小鼠脾脏组织，加入组织裂解液充分裂解，12 000 r/min、4 ℃ 离心 20 min，取上清，采用 BCA 法进行蛋白定量。取 20 μ g 蛋白进行 SDS-PAGE 凝胶电泳，分离蛋白并转移至 PVDF 膜上，5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h，PBS 洗涤 3 次，分别加入 TLR4 抗体（1：1 000）、MyD88 抗体（1：1 000）、NF- κ B p65 抗体（1：1 000）、TRAF6 抗体（1：500）和 GAPDH 抗体（1：1 000），4 ℃ 孵育过夜。第 2 天，PBS 洗涤 3 次，加入 HRP 标记的山羊抗兔或小鼠 IgG（1：10 000）室温孵育 30 min，PBS 洗涤 3 次，滴加 ECL 化学发光液，避光孵育 1 min，显影。相对蛋白表达量以目的蛋白光密度值/内参蛋白光密度值表示。

1.3.7 统计学分析 通过 SPSS 22.0 软件进行处理，实验数据以（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，多组间比较采用单因素方差分析（one-way ANOVA），组间比较采用 LSD- t 检验。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

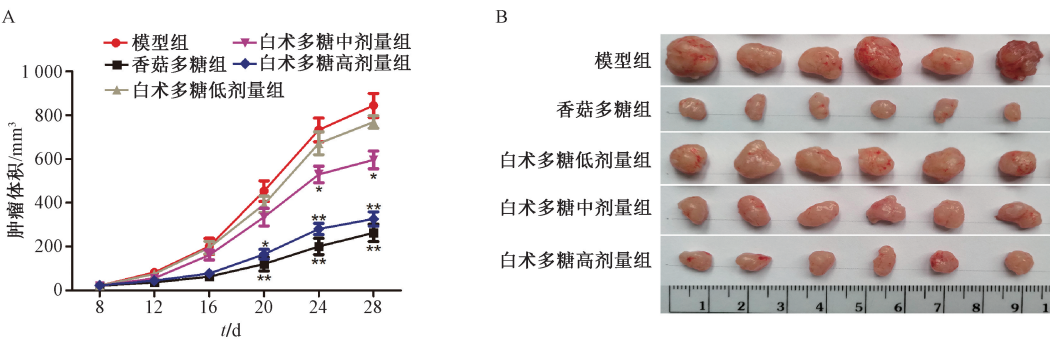
2.1 白术多糖对 CT26 荷瘤小鼠肿瘤生长的影响 各组小鼠肿瘤生长曲线如图 1A 所示，与模型组比较，白术多糖中、高剂量组以及香菇多糖组小鼠肿瘤生长速度相对缓慢；从接种第 20 天起，白术多糖高剂量组和香菇多糖组小鼠肿瘤体积均小于模型组（ $P<0.05$ ）；从接种第 24 天起，白术多糖中剂量组小鼠肿瘤体积均小于模型组（ $P<0.05$ ）。CT26 细胞接种 28 d 后，各组小鼠肿瘤如图 1B 所示，结果如表 1 所示，可知白术多糖中、高剂量组以及香菇多糖组小鼠瘤质量均小于模型组（ $P<0.05$ ）。

表 1 各组 CT26 荷瘤小鼠瘤重及抑瘤率比较（ $\bar{x}\pm s,n=6$ ）			
组别	剂量/（mg·kg ⁻¹ ）	瘤重/g	抑瘤率/%
模型组	—	2.35±0.93	—
香菇多糖组	150	0.63±0.27**	73.19
白术多糖低剂量组	125	1.91±0.87	18.72
白术多糖中剂量组	250	1.39±0.59*	40.85
白术多糖高剂量组	500	0.82±0.21**	65.11

注：与模型组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ 。

2.2 白术多糖对 CT26 荷瘤小鼠免疫器官指数的影响 与空白对照组比较，模型组小鼠脾脏指数和胸腺指数均降低（ $P<0.05$ ）；与模型组比较，白术多糖中、高剂量组以及香菇多糖组小鼠脾脏指数和胸腺指数均增加（ $P<0.05$ ），但白术多糖低剂量组无显著性差异（ $P>0.05$ ），如表 2 所示。

2.3 白术多糖对 CT26 荷瘤小鼠外周血 T 淋巴细胞亚群及肿瘤组织中 MDSCs 细胞水平的影响 与空白对照组比较，模型组小鼠外周血 CD4⁺T 细胞比例以及 CD4⁺T/CD8⁺T 比值降低（ $P<0.05$ ），而 CD8⁺T 细胞比例升高（ $P<0.05$ ）；与模型组比较，白术多糖中、高剂量组以及香菇多糖组小鼠外周血 CD4⁺T 细胞比例以及 CD4⁺T/CD8⁺T 比值升高



注：A 为各组 CT26 荷瘤小鼠肿瘤生长曲线，B 为接种 CT26 细胞 28 d 后各组荷瘤小鼠肿瘤实物图。相同时间点与模型组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ 。

图 1 白术多糖抑制 CT26 荷瘤小鼠肿瘤生长

($P<0.05$)，而 CD8⁺T 细胞比例以及肿瘤组织中 MDSCs 细胞比例降低 ($P<0.05$)。同时，白术多糖低剂量组与模型组比较以上指标均无显著性差异 ($P>0.05$)。如表 3 所示。

2.4 白术多糖对 CT26 荷瘤小鼠血清 TNF- α 、IL-2 水平的影响 与空白对照组比较，模型组小鼠血清 TNF- α 、IL-2 水平降低 ($P<0.05$)；与模型组比较，白术多糖中、高剂量组以及香菇多糖组小鼠血清中 TNF- α 、IL-2 水平增加 ($P<0.05$)，而白术多糖低剂量组两者水平无显著性差异 ($P>0.05$)。如表 4 所示。

表 2 各组 CT26 荷瘤小鼠脾脏和胸腺指数比较 ($\bar{x}\pm s$ ， $n=6$)

组别	剂量/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	脾脏指数/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	胸腺指数/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)
空白对照组	—	9.67 $\pm$ 1.09	0.85 $\pm$ 0.07
模型组	—	4.36 $\pm$ 0.59 ^{##}	0.37 $\pm$ 0.04 ^{##}
香菇多糖组	150	8.17 $\pm$ 1.12 ^{**}	0.76 $\pm$ 0.11 [*]
白术多糖低剂量组	125	4.04 $\pm$ 0.77	0.43 $\pm$ 0.09
白术多糖中剂量组	250	6.94 $\pm$ 0.84 [*]	0.59 $\pm$ 0.07 [*]
白术多糖高剂量组	500	7.35 $\pm$ 1.07 ^{**}	0.71 $\pm$ 0.08 [*]

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

表 3 各组 CT26 荷瘤小鼠外周血 CD4⁺T、CD8⁺T 细胞及肿瘤组织中 MDSCs 水平比较 ($\bar{x}\pm s$ ， $n=6$)

组别	剂量/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	CD4 ⁺ T/%	CD8 ⁺ T/%	CD4 ⁺ T/CD8 ⁺ T	MDSCs/%
空白对照组	—	41.32 $\pm$ 3.64	21.33 $\pm$ 2.57	1.73 $\pm$ 0.20	—
模型组	—	24.36 $\pm$ 3.27 [#]	33.21 $\pm$ 4.36 [#]	0.75 $\pm$ 0.14 ^{##}	43.25 $\pm$ 4.39
香菇多糖组	150	37.35 $\pm$ 6.21 [*]	22.57 $\pm$ 3.37 [*]	1.65 $\pm$ 0.34 ^{**}	22.13 $\pm$ 2.22 [*]
白术多糖低剂量组	125	26.11 $\pm$ 3.01	31.29 $\pm$ 4.09	0.86 $\pm$ 0.17	39.24 $\pm$ 4.07
白术多糖中剂量组	250	29.36 $\pm$ 4.11 [*]	26.67 $\pm$ 3.87 [*]	1.10 $\pm$ 0.22 [*]	32.77 $\pm$ 3.68 [*]
白术多糖高剂量组	500	35.74 $\pm$ 5.27 [*]	23.11 $\pm$ 2.98 [*]	1.53 $\pm$ 0.27 ^{**}	26.65 $\pm$ 2.81 [*]

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

表 4 各组 CT26 荷瘤小鼠血清 TNF- α 及 IL-2 水平比较 ($\bar{x}\pm s$ ， $n=6$)

组别	剂量/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	TNF- α / ($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	IL-2/ ($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)
空白对照组	—	34.91 $\pm$ 4.68	119.35 $\pm$ 14.22
模型组	—	23.15 $\pm$ 3.28 [#]	85.24 $\pm$ 8.28 [#]
香菇多糖组	150	41.68 $\pm$ 5.08 [*]	157.01 $\pm$ 19.74 [*]
白术多糖低剂量组	125	26.24 $\pm$ 3.94	90.43 $\pm$ 13.25
白术多糖中剂量组	250	34.37 $\pm$ 4.21 [*]	121.11 $\pm$ 16.87 [*]
白术多糖高剂量组	500	39.06 $\pm$ 4.98 [*]	143.57 $\pm$ 18.65 [*]

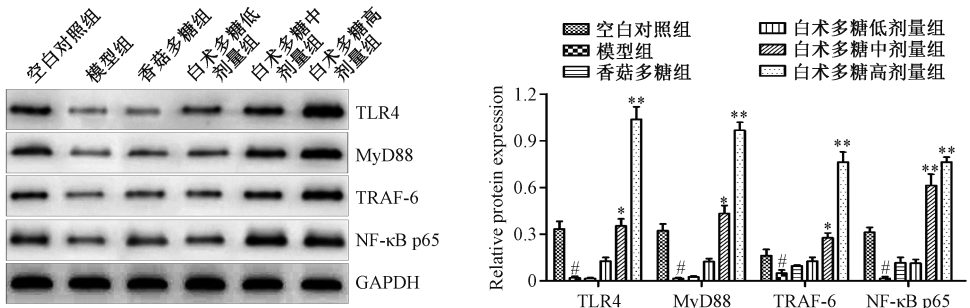
注：与空白对照组比较，[#] $P<0.05$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ 。

2.5 白术多糖对 CT26 荷瘤小鼠脾脏中 TLR4 信号通路相关蛋白表达的影响 如图 2 所示，与空白对照组比较，模型组小鼠脾脏组织中 TLR4、MyD88、TRAF-6 以及 NF- κ B p65 等蛋白表达均降低 ($P<0.05$)；与模型组比较，白术多糖中、高剂量组荷瘤小鼠脾脏组织中 TLR4、MyD88、TRAF-6 以及 NF- κ B p65 等蛋白表达均升高 ($P<0.05$)，而

香菇多糖组、白术多糖低剂量组上述蛋白表达无明显变化 ($P>0.05$)。

3 讨论

白术多糖是从白术根茎中提取的多糖类物质，其主要包含甘露聚糖、果聚糖等成分，其最为显著的药理作用是促免疫作用。例如，Ji 等^[8]研究发现，白术多糖可以通过激活 NF- κ B 信号通路，促进炎症因子 TNF- α 、IFN- γ 以及 NO 的释放，进而活化 RAW264.7 巨噬细胞。Kim 等^[5]研究显示，白术多糖作为一种佐剂，可以显著增加 IgG 滴度，促进抗原特异性淋巴细胞增殖，从而增强胸膜肺炎放线杆菌感染小鼠机体的细胞免疫和体液免疫反应。随着人们对白术多糖药理研究的进一步深入，发现白术多糖还具有抗肿瘤的作用，例如，Feng 等^[9]研究报道称，白术多糖通过引起细胞周期 S 期阻滞，诱导肝癌 H22 细胞凋亡，并抑制 H22 细胞移植瘤的生长。然而，白术多糖是否通过调节机体免疫功能发挥抗肿瘤作用目前还鲜有报道。本研究结果



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

图 2 各组 CT26 荷瘤小鼠脾脏中 TLR4 信号通路相关蛋白表达

显示，白术多糖可以抑制 CT26 荷瘤小鼠肿瘤的生长，其在 250、500 mg/kg 剂量下的抑瘤率分别达到 40.85% 和 65.11%。同时，白术多糖可以通过活化 TLR4 信号通路，促进炎症因子 TNF-α 及 IL-2 释放，提高 CD4⁺/CD8⁺ 比值，降低肿瘤组织中 MDSCs 水平。因此，白术多糖有可能通过调节机体免疫功能发挥抗肿瘤作用。

众所周知，恶性肿瘤的发生、发展过程中常伴随着机体免疫功能的降低，甚至逃逸机体免疫系统的监控。胸腺和脾脏是机体重要的免疫器官，然而肿瘤的发生可引起机体免疫器官的萎缩^[10]，胸腺指数和脾脏指数的高低在一定程度上可以反应机体免疫功能的强弱。本研究结果表明，中、高剂量白术多糖干预可以提高 CT26 荷瘤小鼠脾脏指数和胸腺指数，说明白术多糖可以增强荷瘤小鼠的免疫功能。在机体免疫系统调节中，T 淋巴细胞发挥重要作用，其中辅助/诱导 T 淋巴细胞（CD3⁺CD4⁺）主要分泌 TNF-α、IL-2 等细胞因子，刺激或增强细胞、体液免疫应答；而抑制细胞毒 T 淋巴细胞（CD3⁺CD8⁺）主要通过分泌抑制因子抑制细胞毒性 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞活化，起负调控作用。临床研究数据显示^[11]，肿瘤患者常出现 CD3⁺CD4⁺ 细胞亚群明显减少，CD3⁺CD8⁺ 细胞亚群明显升高，以及 CD4⁺/CD8⁺ 比值明显降低的现象。本研究结果显示，中、高剂量白术多糖干预可提高荷瘤小鼠血液中 CD3⁺CD4⁺ 细胞亚群比例，降低 CD3⁺CD8⁺ 细胞亚群比例，从而提高 CD4⁺/CD8⁺ 比值。与此同时，中、高剂量白术多糖干预还可促进荷瘤小鼠血清 TNF-α、IL-2 等细胞因子的分泌，进一步激活机体免疫功能。此外，MDSC 是一种重要的免疫抑制细胞，肿瘤组织中存在大量的 MDSCs，其可以通过多种途径抑制 T 细胞的活化，并对肿瘤细胞适应性生长起到促进作用^[12]。本研究结果显示，中、高剂量白术多糖干预可以降低荷瘤小鼠肿瘤组织中 MDSC 细胞水平。说明，白术多糖可能通过降低 MDSCs 水平，减少其对 T 细胞的影响，并通过分泌 TNF-α、IL-2 等细胞因子刺激 T 细胞的活化，以达到提高机体免疫力的功效，从而发挥抗肿瘤的作用。

Toll 样受体（Toll-like receptors, TLRs）是一类天然免疫模式识别受体，常表达于免疫细胞表面，能够激活机体天然免疫和适应性免疫应答^[13]。TLRs 信号通路主要由

MyD88 依赖途径和 MyD88 非依赖途径组成，而 TRAF-6 是这两条途径的交叉点，继而激活 NF-κB 途径，诱导促炎因子的释放，最终促进淋巴细胞的增殖及活化。本研究结果显示，中、高剂量白术多糖可上调荷瘤小鼠脾脏组织中 TLR4、MyD88、TRAF-6 以及 NF-κB p65 等蛋白表达，表明白术多糖能够激活 TLR4 信号通路。提示，白术多糖发挥促免疫作用有可能是通过激活 TLR4 信号通路实现的。钱隆等^[14]研究结果也显示，白术多糖能够激活 TLR4 信号通路，发挥增强免疫的作用。此外，作为阳性对照香菇多糖对 TLR4 信号通路相关蛋白表达无显著影响，可能是由于香菇多糖发挥免疫调节抗肿瘤作用的机制不是通过该信号通路实现的。

综上所述，本研究证实白术多糖具有调节结肠癌 CT26 荷瘤小鼠免疫功能及抑制荷瘤小鼠肿瘤生长的作用，其作用机制可能与 TLR4 信号通路激活有关。然而，由于白术多糖具有多种药理作用，在本研究中其是否还通过其他途径发挥抗肿瘤作用？还需进一步深入研究。

参考文献：

[1] Allemani C, Matsuda T, Carlo D V, *et al.* Global surveillance of trends in cancer survival 2000-14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37, 513, 025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries[J]. *Lancet*, 2018, 391(10125): 1023-1075.

[2] 杜娜雯, 白日兰, 崔久嵬. 肿瘤免疫逃逸机制及治疗策略[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(4): 454-462.

[3] 张晓娟, 左冬冬. 白术化学成分及药理作用研究新进展[J]. *中医药信息*, 2018, 35(6): 101-106.

[4] 杨锦涛, 程 希, 陈红伟, 等. 白术多糖免疫调节作用机制的研究进展[J]. *中国兽药杂志*, 2018, 52(6): 80-85.

[5] Kim K A, Son Y O, Kim S S, *et al.* Glycoproteins isolated from *Atractylodes macrocephala* Koidz improve protective immune response induction in a mouse model[J]. *Food Sci Biotechnol*, 2018, 27(6): 1823-1831.

[6] 张瑞奎, 汪 超. 苦参碱对大鼠乳腺癌细胞荷瘤生长及其炎症因子与免疫功能的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 2018, 34(4): 375-378.

[7] 吕品田, 孙颖光, 刘 斌. 败酱草多糖的免疫调节作用及对 S₁₈₀ 荷瘤小鼠的影响研究[J]. *中药材*, 2017, 40(1):

212-215.

[8] Ji G Q, Chen R Q, Zheng J X. Macrophage activation by polysaccharides from *Atractylodes macrocephala* Koidz through the nuclear factor- κ B pathway[J]. *Pharm Biol*, 2015, 53(4): 512-517.

[9] Feng Y Y, Ji H Y, Dong X D, *et al.* Polysaccharide extracted from *Atractylodes macrocephala* Koidz (PAMK) induce apoptosis in transplanted H22 cells in mice [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 137: 604-611.

[10] Carrio R, Torroella-Kouri M, Iragavarapu-Charyulu V, *et al.* Tumor-induced thymic atrophy: alteration in interferons and Jak/Stats signaling pathways[J]. *Int J Oncol*, 2011, 38(2): 547-553.

[11] 迟艳新. 肿瘤患者细胞免疫特征分析[J]. 中国卫生标准管理, 2017, 8(11): 110-112.

[12] Hawila E, Razon H, Wildbaum G, *et al.* CCR5 directs the mobilization of CD11b⁺Gr1⁺Ly6C^{low} polymorphonuclear myeloid cells from the bone marrow to the blood to support tumor development[J]. *Cell Rep*, 2017, 21(8): 2212-2222.

[13] 张延梅, 林泽杭, 周琛斐, 等. TLR 识别在肿瘤化疗后免疫应答作用研究 [J]. 中国免疫学杂志, 2018, 34(6): 949-952.

[14] 钱 隆, 刘 洋, 李冰心, 等. 白术多糖可能通过 Toll 样受体 4 信号通路缓解环磷酸腺苷诱导的雏鹅肝脏损伤[J]. 动物营养学报, 2019, 31(2): 764-774.

白术多糖对 Ang- II 诱导的血管平滑肌细胞增殖及氧化应激的作用

巩克民¹, 季宏建²
(1. 江苏医药职业学院药学院, 江苏 盐城 224005; 2. 盐城市第三人民医院药学部, 江苏 盐城 224005)

摘要: **目的** 探讨白术多糖对血管紧张素 II (Ang- II) 诱导的血管平滑肌细胞 (VSMCs) 增殖及氧化应激的影响及其对 p38MAPK 信号通路的作用。**方法** 培养 VSMCs 细胞, 采用不同质量浓度 (0、20、40、80、160 μ g/mL) 白术多糖处理 VSMCs 细胞 24、48、72 h, MTT 检测细胞增殖活力。随后将细胞分为对照组、Ang- II 组、Ang- II +白术多糖组、Ang- II +SB203580 组、Ang- II +SB203580+白术多糖组, 采用 BrdU 法检测各组细胞增殖能力, 流式细胞仪检测各组细胞内 ROS 水平, 比色法检测各组细胞内 SOD 活性和 MDA 水平, Western blot 检测各组细胞中 p-p38 和 c-Myc 蛋白表达水平。**结果** 80 μ g/mL 白术多糖处理 48 h 即可抑制 Ang- II 诱导的 VSMCs 细胞增殖 ($P<0.05$)。与对照组比较, Ang- II 组 VSMCs 细胞增殖水平增加 ($P<0.05$), ROS、MDA 水平增加 ($P<0.05$), SOD 活性降低 ($P<0.05$), p-p38 和 c-Myc 蛋白表达水平增加 ($P<0.05$); 与 Ang- II 组比较, Ang- II +白术多糖组和 Ang- II +SB203580 组 VSMCs 细胞增殖水平降低 ($P<0.05$), ROS、MDA 水平降低 ($P<0.05$), SOD 活性增加 ($P<0.05$), p-p38 和 c-Myc 蛋白表达水平降低 ($P<0.05$); 与 Ang- II +白术多糖组比较, Ang- II +SB203580 组和 Ang- II +SB203580+白术多糖组 VSMCs 细胞增殖水平降低 ($P<0.05$), ROS、MDA 水平降低 ($P<0.05$), SOD 活性增加 ($P<0.05$), p-p38 和 c-Myc 蛋白表达水平降低 ($P<0.05$); 与 Ang- II +SB203580 组比较, Ang- II +SB203580+白术多糖组 VSMCs 细胞增殖水平, ROS、MDA 水平以及 SOD 活性均无显著性差异 ($P>0.05$)。**结论** 白术多糖可能通过抑制 p38MAPK 信号通路的激活, 减少 ROS 的产生, 从而抑制 Ang- II 诱导的 VSMCs 细胞增殖。

关键词: 白术多糖; 血管平滑肌细胞; Ang II ; 增殖; 氧化应激; p38MAPK

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2022)01-0235-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.01.046

动脉粥样硬化是心肌梗死和脑卒中的发病基础, 其基本的病理表现为血管壁弹性下降、血管内膜损伤、修复、增厚及其导致的管腔狭窄, 继而引发靶器官的缺血缺氧损伤, 最终引发一系列严重疾病^[1]。内皮细胞、巨噬细胞和血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMCs) 参与了动脉粥样硬化的形成和发展^[2], VSMCs 在新生内膜的大量积聚是血管中膜平滑肌细胞迁移至内膜并大量增殖造成, 有效抑制 VSMCs 的活化及增殖可能是防治动脉粥样硬化的重要环节^[3]。而氧化应激是动脉粥样硬化发生发展过程中的重要促进因素之一, 主要通过氧化修饰作用, 诱导血管基因表达、促进局部炎症反应和 VSMCs 增殖, 从多方面参与动脉粥样硬化的发生发展^[4]。