

桑黄发酵产物多糖对高尿酸血症小鼠的治疗作用

李小欢¹, 步洪石¹, 王 佳¹, 隋欣彤¹, 董 欣¹, 王淑敏^{1*}, 王 欢^{2*}
(1. 长春中医药大学药学院, 吉林 长春 130117; 2. 长春中医药大学人參科学研究院, 吉林 长春 130117)

摘要: **目的** 探究桑黄发酵产物多糖对高尿酸血症小鼠的治疗作用。**方法** 雄性 ICR 小鼠分为空白组和造模组, 采用氧嗪酸钾 (300 mg/kg) 与次黄嘌呤 (250 mg/kg) 联合灌胃给药 7 d 建立高尿酸血症模型, 造模成功者随机分为模型组, 别嘌醇组 (别嘌醇片 12 mg/kg), 桑黄发酵产物多糖低、中、高剂量组 (100、200、300 mg/kg), 分别灌胃给予相应剂量药物, 每天 1 次, 连续 14 d。给药结束后检测小鼠血清 UA、CRE、IL-6、TNF- α 水平及肝脏中 XOD 水平, 观察肝脏、肾脏组织病理形态变化, Western blot 法检测肾组织中 HMGB1、RAGE、NF- κ B p65 蛋白表达。**结果** 与空白组比较, 模型组小鼠血清 UA、CRE、IL-6、TNF- α 水平及肝组织 XOD 水平升高 ($P<0.01$), 肝组织中可见炎性细胞浸润, 肾组织中可见嗜酸性物质并且 HMGB1、RAGE、NF- κ B p65 蛋白表达升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, 各药物组小鼠血清 UA、CRE、IL-6、TNF- α 水平及肝组织 XOD 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 肝组织中炎性细胞和肾组织中嗜酸性物质减少 ($P<0.05$), 肾组织中 HMGB1、RAGE、NF- κ B p65 蛋白表达降低 ($P<0.05$)。**结论** 桑黄发酵产物多糖可通过调节 HMGB1/RAGE/NF- κ B 信号通路发挥抗高尿酸血症的作用。
关键词: 桑黄发酵产物多糖; 高尿酸血症; 黄嘌呤氧化酶; HMGB1; RAGE; NF- κ B
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)07-2368-06
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.07.045

杨树桑黄 *Sanghuangporus vaninii* 为桑黄孔菌属的一类食药用型真菌^[1], 具有活血化瘀、收涩止痛等功效^[2-5]。研究发现, 桑黄水提取物可治疗痛风^[6], 但受多种条件限制, 桑黄子实体稀少, 无法满足人们需求, 故液体发酵培养可为桑黄进一步开发提供可能。液体发酵培养周期短, 不受外界限制, 发酵所得产物与子实体成分、药理作用基本一致^[7-10]。刘帅阳等^[11]发现, 桑黄发酵产物的多糖在体外具有降尿酸的作用, 但其在体内的作用机制尚未见报道, 故本研究选取杨树桑黄发酵产物多糖进行高尿酸血症作用机制研究, 探究发酵产物多糖在体内是否具有与子实体相同的功效。

近年来随着人们生活质量的提高, 高尿酸血症患者呈现年轻化的发展趋势^[12], 故研发具有预防或治疗高尿酸血症的药物具有重要意义。高迁移率族蛋白 B1 (HGMB1) 是一种常见的炎症介导因子, 高水平尿酸会导致其释放^[13-14]。晚期糖基化终末产物受体 (RAGE) 参与炎症、肾病等多种疾病的发生^[15], 是 HMGB1 的高亲和力受体,

HMGB1 与 RAGE 受体的结合可以介导核因子 κ B (NF- κ B) 信号通路的活化, 促进炎症因子的表达^[16-17]。基于此, 本研究采用氧嗪酸钾与次黄嘌呤联合诱导法建立高尿酸血症小鼠模型^[18], 基于 HMGB1/RAGE/NF- κ B 信号通路探讨桑黄发酵产物多糖对高尿酸血症小鼠的作用。

1 材料

1.1 仪器 RT-6000 型酶标仪 (深圳雷杜生命科学股份有限公司); 生物显微镜 (日本 Olympus 公司); FA25 型组织匀浆机 [福禄克测试仪器 (上海) 有限公司]; TGL16M 型台式高速冷冻离心机 (湖南凯达科学仪器有限公司); AU220 型电子分析天平 (万分之一, 日本岛津公司); 垂直电泳 (美国 Bio-Rad 公司); RE-52AA 型旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); 恒温培养振荡器 (上海世平实验设备有限公司); 多联玻璃发酵罐 (上海百仑生物科技有限公司)。

1.2 动物 健康雄性 ICR 小鼠 60 只, SPF 级, 体质量 18~22 g, 购于辽宁长生生物技术股份有限公司, 实验动物生

收稿日期: 2021-09-28
基金项目: 吉林省教育厅科研课题项目 (JKKH20210993KJ)
作者简介: 李小欢 (1997—), 女, 硕士生, 从事微生物药用物质基础、药效学研究。Tel: 18804313554, E-mail: lixiaohuancu@163.com
* 通信作者: 王淑敏 (1965—), 女, 博士, 教授, 从事微生物药用物质基础、药效学研究。Tel: 13943028030, E-mail: wangsm@ccuem.edu.cn
王 欢 (1987—), 女, 博士, 助理研究员, 从事菌物药资源开发利用研究。Tel: 15543598010, E-mail: wanghuanmyco@163.com
网络出版日期: 2022-05-19
网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20220518.1819.002.html>

产许可证号 SCXK（辽）2020-0001，合格证编号 211002300061872。研究经长春中医药大学动物实验动物伦理委员会批准（编号 2020222），于长春中医药大学动物中心的 SPF 环境下饲养与实验，所有动物实验操作均按照长春中医药大学伦理审查委员会章程进行。

1.3 试剂与药物 杨树桑黄发酵产物由吉林省菌物药生物技术工程实验室自制，原真菌经长春中医药大学王淑敏教授鉴定为正品。别嘌醇片（合肥久联制药有限公司，国药准字 H34021248）。氧嗪酸钾（吉林省海的科技有限公司，批号 C11528491）；次黄嘌呤（上海源叶生物科技有限公司，批号 S18025）；IL-6、TNF- α （上海朗顿生物科技有限公司，批号 G20200905SR、G20200918GH）；尿酸、黄嘌呤氧化酶（XOD）、肌酐、总蛋白定量（BCA 法）试剂盒（南京建成生物工程研究所，批号 20200917、20201222、20200916、20200919）；鼠源微管蛋白（ β -tubulin）单克隆抗体、鼠源高迁移率族蛋白 B1（HGMB1）单克隆抗体、鼠源晚期糖基化终末产物受体（RAGE）单克隆抗体、鼠源核因子 κ B p65（NF- κ B p65）单克隆抗体（北京博奥森生物技术有限公司，批号 BJ10188255、AL06129325、AL08282882、AL04197977）；辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 二抗（武汉三鹰生物技术有限公司，批号 SA00001-2）；双色预染 marker（上海雅酶生物科技有限公司，批号 02471200）。水为娃哈哈纯净水。

2 方法

2.1 多糖制备 参考文献 [19] 报道，将杨树桑黄固体斜面菌种进行活化，接入 250 mL 三角瓶（装培养液 100 mL），置于旋转式摇床中培养 5 d，得种子液，按 8% 的接种量接入 5 L 发酵罐（装培养液 3 L）进行深层发酵 100~120 h，水提醇沉法提取多糖，首先将经液体发酵得的菌丝体加水进行提取，设定提取温度 70 $^{\circ}$ C，提取时间 1.5 h，料液比 1：6，提取次数 3 次，合并提取液后与液体发酵得的发酵液混合，减压浓缩至 500 mL，加入 3 倍量乙醇，置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中静置 24 h，离心弃上清，沉淀放到 60 $^{\circ}$ C 烘箱中干燥，即得，采用苯酚-硫酸法测得其纯度为 79.7%。

2.2 分组、造模与给药 60 只小鼠适应性饲养 7 d 后称定体质量，随机分为空白组 10 只、造模组 50 只。参考文献 [20-23] 报道，采用 0.3% 羧甲基纤维素钠溶液制成氧嗪酸钾、次黄嘌呤混悬液，造模组灌胃给予混悬液，而空白组灌胃给予等体积 0.3% 羧甲基纤维素钠，连续 7 d，于末次给药后禁食不禁水 12 h，于第 8 天颌静脉采血，采用 ELISA 法检测血尿酸水平。将造模成功（成模率为 70%）

的小鼠随机分为模型组，别嘌醇组（12 mg/kg），桑黄发酵产物多糖低、中、高剂量组（100、200、300 mg/kg），每组 7 只，空白组、模型组灌胃给予生理盐水 0.01 mL/g，别嘌醇组灌胃给予别嘌醇，桑黄发酵产物多糖低、中、高剂量组灌胃给予不同剂量的桑黄发酵产物多糖，连续 14 d。

2.3 样本采集 末次给药后禁食不禁水 12 h，小鼠摘眼球取血，4 $^{\circ}$ C、4 000 r/min 离心 15 min 后取血清，置于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱中保存。颈部脱臼处死小鼠，取肝脏、肾脏，分离肝脏左中叶与右肾组织，置于 4% 多聚甲醛中固定，剩余组织于液氮速冻后保存于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱中。

2.4 血清、肝组织生化指标检测 取小鼠血清适量，按试剂盒说明书检测尿酸（UA）、肌酐（CRE）、白介素-6（IL-6）、肿瘤坏死因子（TNF- α ）水平。取小鼠肝脏尾状叶适量，按试剂盒说明书检测黄嘌呤氧化酶（XOD）活性。

2.5 肝、肾组织病理学观察 取固定后的小鼠肝肾组织适量，石蜡固定，HE 染色，在显微镜下观察病理变化，组织病变程度采用五级分法，即无病变或极少量病变计 0 分，有轻度病变或少量病变计 1 分，有中度病变或中等量病变计 2 分，有重度病变或多量病变计 3 分，有极重度病变或大量病变计 4 分。

2.6 Western blot 法检测肾组织中 HMGB1、RAGE、NF- κ B p65 蛋白表达 取小鼠肾脏组织适量，加入蛋白裂解液和蛋白酶抑制剂，组织匀浆，冰上静置 30 min，裂解完全后 4 $^{\circ}$ C、10 000 r/min 离心 10 min，取上清，BCA 试剂盒进行蛋白定量，稀释后加入 Loading buffer，沸水浴 10 min 使蛋白变性，冷却至室温，在 -20 $^{\circ}$ C 下保存，10% SDS-PAGE 电泳分离后转移至 PVDF 膜上，5% 脱脂奶粉封闭 2 h，一抗在 4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜，二抗室温孵育 2 h，ECL 发光法室温显影，测定各蛋白条带灰度值。以 β -tubulin 为内参，计算目的蛋白相对表达。

2.7 统计学分析 通过 SPSS 21.0 软件进行处理，数据以（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较方差齐时采用 LSD 法，不齐时采用秩和检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 桑黄发酵产物多糖对高尿酸小鼠血清尿酸水平的影响 如表 1 所示，与空白组比较，造模 7 d 后模型组小鼠血清尿酸水平升高（ $P<0.01$ ），表明造模成功；连续给药 14 d 后，与模型组比较，别嘌醇组和桑黄发酵产物多糖各剂量组小鼠血清尿酸水平降低（ $P<0.01$ ）。

表 1 桑黄发酵产物多糖对高尿酸小鼠血清尿酸水平的影响（ $\bar{x}\pm s$ ， $n=7$ ）

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	造模 7 d 后尿酸/(μ mol·L ⁻¹)	给药 14 d 后尿酸/(μ mol·L ⁻¹)
空白组	—	76.11 $\pm$ 1.59	64.30 $\pm$ 10.65
模型组	—	186.22 $\pm$ 11.50 ^{##}	156.06 $\pm$ 15.10 ^{##}
别嘌醇组	12	186.58 $\pm$ 11.18 ^{##}	65.37 $\pm$ 10.16 ^{**}
桑黄发酵产物多糖低剂量组	100	178.64 $\pm$ 5.04 ^{##}	68.62 $\pm$ 10.98 ^{**}
桑黄发酵产物多糖中剂量组	200	180.91 $\pm$ 10.14 ^{##}	70.80 $\pm$ 15.02 ^{**}
桑黄发酵产物多糖高剂量组	300	180.60 $\pm$ 4.83 ^{##}	73.32 $\pm$ 20.10 ^{**}

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

3.2 桑黄发酵产物多糖对高尿酸小鼠血清 CRE 水平和肝组织 XOD 活性的影响 如表 2 所示,与空白组比较,模型组小鼠血清 CRE 水平和肝组织 XOD 活性升高 ($P<0.01$);与模型组比较,别嘌醇组和桑黄发酵产物多糖各剂量组小

鼠血清 CRE 水平降低 ($P<0.05$),别嘌醇组和桑黄发酵产物多糖低剂量组小鼠肝组织 XOD 活性降低 ($P<0.05$, $P<0.01$),提示低剂量桑黄发酵产物多糖可改善小鼠肝脏损伤。

表 2 桑黄发酵产物多糖对高尿酸小鼠血清 CRE 水平和肝组织 XOD 活性的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=7$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	CRE/(μmol·L ⁻¹)	XOD/(U·g prot ⁻¹)
空白组	—	10.96±5.59	2.96±0.83
模型组	—	33.56±9.52 ^{##}	5.09±0.74 ^{##}
别嘌醇组	12	11.01±4.85 ^{**}	3.35±1.38 ^{**}
桑黄发酵产物多糖低剂量组	100	18.60±3.49 ^{**}	4.19±0.46 [*]
桑黄发酵产物多糖中剂量组	200	23.94±4.71 ^{**}	5.05±1.22
桑黄发酵产物多糖高剂量组	300	23.24±6.11 [*]	4.87±0.57

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

3.3 桑黄发酵产物多糖对高尿酸小鼠血清 IL-6、TNF-α 水平的影响 如表 3 所示,与空白组比较,模型组小鼠血清 IL-6、TNF-α 水平升高 ($P<0.01$),证明该造模方法诱导的

高尿酸血症引起了炎症反应;与模型组比较,别嘌醇组和桑黄发酵产物多糖各剂量组小鼠血清 IL-6、TNF-α 水平降低 ($P<0.01$),提示桑黄发酵产物多糖可减轻炎症反应。

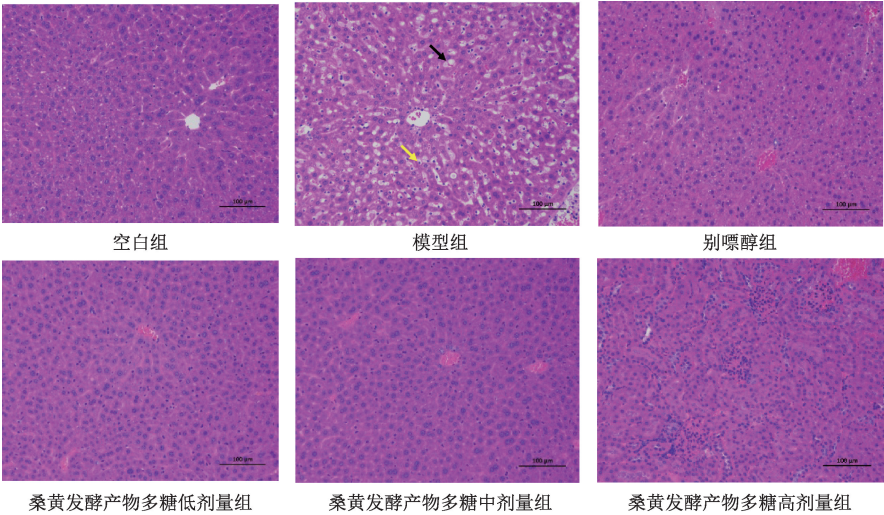
表 3 桑黄发酵产物多糖对高尿酸小鼠血清 IL-6、TNF-α 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=7$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	IL-6/(ng·L ⁻¹)	TNF-α/(ng·L ⁻¹)
空白组	—	79.86±4.10	52.93±10.10
模型组	—	190.00±27.23 ^{##}	114.75±18.56 ^{##}
别嘌醇组	12	84.28±4.56 ^{**}	50.46±15.13 ^{**}
桑黄发酵产物多糖低剂量组	100	79.70±5.15 ^{**}	57.97±13.50 ^{**}
桑黄发酵产物多糖中剂量组	200	83.08±5.16 ^{**}	62.42±12.66 ^{**}
桑黄发酵产物多糖高剂量组	300	85.22±6.46 ^{**}	61.37±16.16 ^{**}

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

3.4 桑黄发酵产物多糖对高尿酸小鼠肝、肾组织病理学变化的影响 空白组小鼠肝小叶完整,肝细胞索排列整齐,细胞核清晰,胞质丰富、形态结构正常;与空白组比较,模型组小鼠可见肝窦扩张,肝窦内伴随着白细胞数量增多

($P<0.01$);与模型组比较,别嘌醇组和桑黄发酵产物多糖各剂量组小鼠肝窦扩张缩小,肝窦内伴随着白细胞减少 ($P<0.01$),见图 1、表 4。



注:黑色箭头代表肝窦扩张,黄色箭头代表白细胞数量增多。

图 1 各组高尿酸小鼠肝组织病理变化 (HE, ×200)

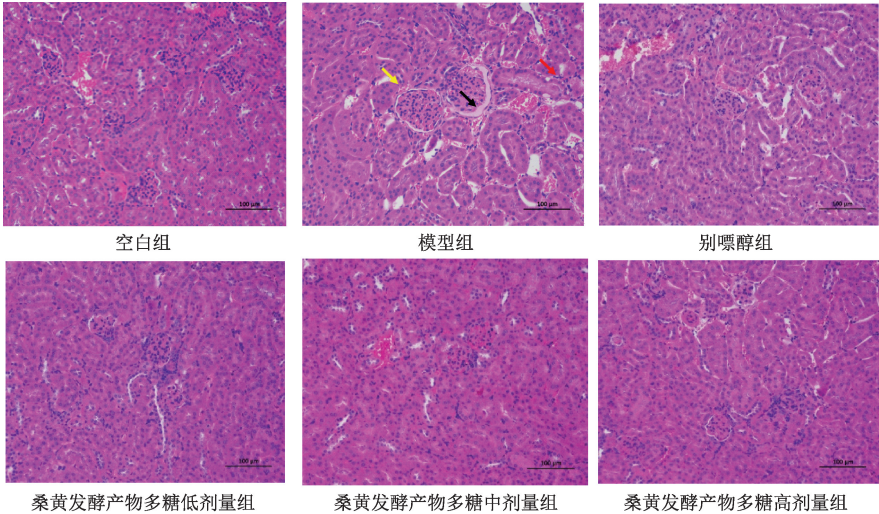
空白组小鼠肾小管结构完整,边缘清晰,细胞索排列整齐;与空白组比较,模型组小鼠肾小囊腔内可见嗜酸性物质,视野内可见淋巴细胞点状浸润,间质中可见出血

($P<0.01$);与模型组比较,别嘌醇组和桑黄发酵产物多糖各剂量组小鼠肾小囊腔内嗜酸性物质减少,间质中未见出血 ($P<0.01$),见图 2、表 5。

表 4 桑黄发酵产物多糖对高尿酸小鼠肝组织病理评分的影响 ($\bar{x}\pm s, n=7$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	肝窦扩张情况评分/分	肝窦内白细胞情况评分/分
空白组	—	0	0
模型组	—	2.88±0.83 ^{##}	3.00±0.76 ^{##}
别嘌醇组	12	1.13±0.64 ^{**}	1.25±0.46 ^{**}
桑黄发酵产物多糖低剂量组	100	1.38±0.74 ^{**}	1.38±0.51 ^{**}
桑黄发酵产物多糖中剂量组	200	1.50±0.53 ^{**}	1.88±0.64 ^{**}
桑黄发酵产物多糖高剂量组	300	1.63±0.52 ^{**}	1.75±0.46 ^{**}

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



注：黑色箭头代表肾小囊腔内可见嗜酸性物质，黄色箭头代表肾间质可见出血，红色箭头代表可见淋巴细胞点状浸润。

图 2 各组高尿酸小鼠肾组织病理变化 (HE, ×200)

表 5 桑黄发酵产物多糖对高尿酸小鼠肾组织病理评分的影响 ($\bar{x}\pm s, n=7$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	嗜酸性物质情况评分/分	间质出血情况评分/分	淋巴细胞浸润情况评分/分
空白组	—	0	0	0
模型组	—	3.25±0.71 ^{##}	2.75±0.71 ^{##}	3.13±0.83 ^{##}
别嘌醇组	12	1.50±0.53 ^{**}	1.38±0.74 ^{**}	1.25±0.71 ^{**}
桑黄发酵产物多糖低剂量组	100	1.75±0.71 ^{**}	1.63±0.52 ^{**}	1.63±0.74 ^{**}
桑黄发酵产物多糖中剂量组	200	1.88±0.83 ^{**}	2.00±0.53 ^{**}	1.88±0.64 ^{**}
桑黄发酵产物多糖高剂量组	300	2.00±0.76 ^{**}	1.75±0.71 ^{**}	2.25±0.71 ^{**}

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

3.5 桑黄发酵产物多糖对高尿酸小鼠肾组织 HMGB1、RAGE、NF- κ B p65 蛋白表达的影响 如图 3、表 6 所示，与空白组比较，模型组小鼠肾组织 HMGB1、RAGE、NF- κ B p65 蛋白表达升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，别嘌醇组和桑黄发酵产物多糖低剂量组小鼠肾组织 HMGB1 蛋白表达降低 ($P<0.05, P<0.01$)，桑黄发酵产物多糖中、高剂量组小鼠肾组织 HMGB1 蛋白表达无明显变化 ($P>0.05$)，别嘌醇组和桑黄发酵产物多糖各剂量组小鼠肾组织 RAGE、NF- κ B p65 蛋白表达降低 ($P<0.05, P<0.01$)，提示桑黄发酵产物多糖低剂量可降低高尿酸小鼠肾组织 HMGB1、RAGE、NF- κ B p65 蛋白表达，从而减少相关炎症因子的释放。

4 讨论

近年来，高脂高糖饮食导致高尿酸血症的发病率逐年提升。氧嗪酸钾可以竞争抑制尿酸酶对尿酸的分解，次黄嘌呤是尿酸的直接前体，因此，次黄嘌呤与氧嗪酸钾联用可以诱导更高效稳定的高尿酸血症模型，本实验结果证实，

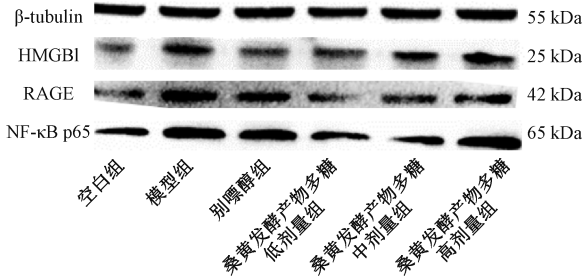


图 3 各组小鼠肾组织 HMGB1、RAGE、NF- κ B p65 蛋白表达

此造模方式可以引起体内尿酸的急剧升高。高尿酸血症临床上最常见的表现就是肾脏的损伤，肌酐是判断肾功能和评价肾小球滤过率的主要指标，结果表明，模型组小鼠肌酐水平高于空白组；与模型组比较，桑黄发酵产物多糖可降低血液中肌酐水平，缓解高尿酸所带来的肾脏负担。XOD 是尿酸合成与代谢途径中的限速酶，

表 6 桑黄发酵产物多糖对高尿酸小鼠肾组织 HMGB1、RAGE、NF-κB p65 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=4$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	HMGB1	RAGE	NF-κB p65
空白组	—	0.68±0.18	0.49±0.16	0.50±0.01
模型组	—	1.62±0.02 ^{##}	1.86±0.20 ^{##}	1.13±0.05 ^{##}
别嘌醇组	12	0.87±0.13 ^{**}	0.50±0.14 ^{**}	0.63±0.06 ^{**}
桑黄发酵产物多糖低剂量组	100	1.17±0.21 [*]	0.88±0.05 ^{**}	0.70±0.03 ^{**}
桑黄发酵产物多糖中剂量组	200	1.27±0.08	0.92±0.20 ^{**}	0.74±0.11 ^{**}
桑黄发酵产物多糖高剂量组	300	1.41±0.07	1.22±0.21 ^{**}	0.96±0.06 [*]

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

血尿酸的升高可导致肝脏损伤及肝脏中 XOD 分泌增加^[24]。桑黄发酵产物多糖低剂量组小鼠肝脏组织中 XOD 活性降低，进而减少尿酸的产生，对肝脏起保护作用。桑黄发酵产物多糖中、高剂量组小鼠 XOD 活性无明显变化，提示桑黄发酵产物多糖中、高剂量降低体内尿酸水平可能不通过调节 XOD 活性。

体内尿酸水平过高会导致尿酸盐的累积，刺激肾小管上皮细胞引起促炎因子 IL-6、TNF-α 分泌增多，实验结果表明，模型组小鼠促炎因子 IL-6、TNF-α 水平升高，造成肾脏的功能紊乱^[25-26]。桑黄发酵产物多糖可降低体内促炎因子，修复由高尿酸血症引起的肾脏损伤。有研究证实，尿酸可刺激内皮细胞释放 HMGB1，HMGB1 作为炎性介质激活单核细胞、巨噬细胞、小胶质细胞表达和释放炎性因子^[27]，反之细胞促炎因子可以刺激 HMGB1 的释放^[28]，HMGB1 可与之相互作用形成炎症循环，维持免疫炎症反应^[29]。HMGB1 与受体 RAGE 结合引起 NF-κB 释放促炎因子并维持炎症反应，导致血管内皮功能损伤，影响肾脏的正常代谢，加大了痛风等疾病的患病风险。降低通路中相关炎症因子的表达或者阻止 HMGB1 与 RAGE 的相互结合可以减轻高尿酸导致的肝肾脏功能损伤。实验结果表明，模型组小鼠 HMGB1 蛋白表达升高，证明高尿酸血症引起了机体内 HMGB1 的分泌，低剂量桑黄发酵产物多糖可以有效降低 HMGB1 蛋白表达，减少炎症细胞的刺激或降低内皮细胞的损伤。同时，桑黄发酵产物多糖可以降低体内 RAGE 受体蛋白表达，减少 HMGB1 与 RAGE 的相互结合，抑制 NF-κB 蛋白活化，降低体内促炎因子 IL-6、TNF-α 水平，减轻肾脏功能的损伤。

本研究通过氧嗪酸钾联合次黄嘌呤建立高尿酸血症小鼠模型，发现低剂量桑黄发酵产物多糖降尿酸机制可能与降低肝脏体内次黄嘌呤氧化酶活性与调节 HMGB1/RAGE/NF-κB 通路有关。中、高剂量桑黄发酵产物多糖可通过其他途径控制尿酸的升高，降低 IL-6、TNF-α 水平及炎症相关的蛋白表达，发挥抗高尿酸血症的作用。后续课题组将继续探讨桑黄发酵产物的最佳治疗剂量，为桑黄发酵产物的开发与利用提供新的方向。

参考文献：

[1] 吴声华, 戴玉成. 药用真菌桑黄的种类解析[J]. 菌物学报, 2020, 39(5): 781-794.

[2] 曹红妹, 胡桂萍, 石旭平, 等. 药用真菌桑黄的研究进展

[J]. 蚕业科学, 2019, 45(2): 285-292.

[3] Yan J K, Wang Y Y, Wang Z B, *et al.* Structure and antioxidative property of a polysaccharide from an ammonium oxalate extract of *Phellinus linteus* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 91: 92-99.

[4] 张维博, 王家国, 李正阔, 等. 药用真菌桑黄的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(15): 2838-2845.

[5] 崔诗遥, 朗明紫, 但彩云, 等. 桑黄活性成分及其药理作用研究进展[J]. 蚕桑通报, 2021, 52(1): 10-13; 30.

[6] 吴昊霖, 蔡来燕, 樊好飞, 等. 杜仲、大血藤、鸡血藤和桑黄四种中药提取物的抗痛风作用研究[J]. 海南医学院学报, 2021, 27(19): 1451-1457.

[7] 国家卫生部和国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 (第一卷) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.

[8] 张俊峰, 张忠, 汪雯翰, 等. 桑黄菌丝体和子实体中次级代谢产物及其活性的比较[J]. 菌物学报, 2020, 39(2): 398-408.

[9] 应瑞峰, 黄梅桂, 王耀松, 等. 桑黄子实体与桑黄菌丝多糖抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(21): 1-5.

[10] 孟庆龙. 药用真菌桑黄发酵产物药理作用的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2011.

[11] 刘帅阳, 廖宣宇, 余戎镇, 等. 桑黄提取液抗尿酸活性的研究[J]. 人参研究, 2019, 31(4): 17-20.

[12] Chen Y Z, Tang Z Z, Huang Z Y, *et al.* The prevalence of gout in mainland China from 2000 to 2016: a systematic review and meta-analysis [J]. *J Public Health*, 2017, 25(5): 521-529.

[13] 朱虹, 朱健. 高迁移率族蛋白 B1 与脓毒症[J]. 中国临床保健杂志, 2008, 11(2): 206-207.

[14] 赵立新, 王琳, 于四方, 等. 脓毒症患者血清 HMGB1 水平与免疫指标、心肌损伤的相关性分析[J]. 重庆医学, 2021, 50(19): 3289-3293.

[15] 吕翠, 刘洪娟, 刘晓丽, 等. 晚期糖基化终末产物受体及其抑制剂的研究进展[J]. 中国药理学通报, 2013, 29(4): 452-456.

[16] 段细妹. 高尿酸通过 HMGB1/RAGE 信号通路诱导内皮功能损伤的实验研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2016.

[17] 张晓晓, 李树华, 杨华, 等. 右美托咪定预处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤时 HMGB1/TLR4/NF-κB 信号通路的影响[J]. 医学综述, 2021, 27(14): 2899-2903.

[18] 孟晶, 田婧卓, 王连崧, 等. 适宜中药筛选的高尿酸血

症动物模型初探[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(17): 46-56.

[19] 郭 霞. 桑黄发酵过程优化及其多糖代谢调控研究[D]. 重庆: 西南大学, 2010.

[20] 何曦萌, 徐黎青, 朱春霖, 等. 次黄嘌呤联合氧嗪酸钾构建高尿酸血症小鼠模型探讨[J]. 医学理论与实践, 2021, 34(4): 541-543.

[21] 王 恺, 丁志超, 裴娟娟, 等. 碱提桑黄菌丝体多糖的抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2020, 41(1): 289-294.

[22] 钟 臣. 桑黄发酵液多糖的抗运动疲劳作用[J]. 中国食用菌, 2020, 39(6): 46-48.

[23] 黄 倩, 林佩璜, 王梅爱, 等. 桑黄多糖通过 P311/TGF- β 1/Snail1 通路抗糖尿病小鼠肾间质纤维化的研究[J]. 中药药理与临床, 2019, 35(1): 28-33.

[24] Mandal A K, Mount D B. The molecular physiology of uric acid homeostasis[J]. *Annu Rev Physiol*, 2015, 77(1): 323-345.

[25] 丁红霞, 李 进, 崔晓磊, 等. 苯溴马隆联合非布司他治疗高尿酸血症伴痛风的效果及对患者炎症因子水平、血管功能的影响[J]. 临床医学研究与实践, 2021, 6(17): 55-57.

[26] 朱超超, 张格艳. 血清尿酸、CRP、IL-6、TNF- α 联合检测诊断急性痛风的价值[J]. 临床医学研究与实践, 2021, 6(14): 92-94.

[27] Zhang Q B, Zhu D, Wen Z, *et al.* High levels of serum uric acid, cystain C and lipids concentration and their clinical significance in primary gouty arthritis patients [J]. *Curr Rheumatol Rev*, 2019, 15(2): 141-145.

[28] He Z W, Qin Y H, Wang Z W, *et al.* HMGB1 acts in synergy with lipopolysaccharide in activating rheumatoid synovial fibroblasts *via* p38 MAPK and NF- κ B signaling pathways[J]. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013: 596716.

[29] Sorci G, Riuzzi F, Giambanco I, *et al.* RAGE in tissue homeostasis, repair and regeneration [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1833(1): 101-109.

从表型差异探讨大戟大枣汤含药血清抗乳腺癌的作用

马立威^{1,2}, 陈 哲³, 王文豹⁴, 张金玲⁵, 张洪涛⁶, 葛鹏玲², 刘吉成^{1*}

(1. 齐齐哈尔医学院医药科学研究所博士后工作站, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 2. 黑龙江中医药大学博士后流动站, 黑龙江 哈尔滨 150040; 3. 齐齐哈尔医学院公共卫生学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 4. 齐齐哈尔医学院药学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 5. 齐齐哈尔医学院医药科学研究院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 6. 齐齐哈尔医学院附属第三医院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

摘要: **目的** 探讨大戟大枣汤含药血清抗雌激素受体 (ER) 阴性 (-) 和 ER 阳性 (+) 乳腺癌作用的差异性。**方法** 制备大戟大枣汤含药血清, 作用于体外培养乳腺癌 (ER-) MDA-MB-453 和 (ER+) MCF-7 细胞 48 h。乳酸脱氢酶 (LDH) 试剂盒检测细胞毒性, 流式细胞仪检测细胞线粒体膜电位及细胞凋亡率变化, ELISA 法检测 caspase3、caspase9 酶活性, RT-qPCR 法检测 *caspase3*、*caspase9*、*Bax*、*Bcl-2* mRNA 表达, Western blot 法检测 c-caspase-3、c-caspase-9、Bax、Bcl-2 蛋白表达。**结果** 与阴性对照组比较, 大戟大枣汤含药血清均能使 2 种不同表型的乳腺癌细胞中 LDH 释放量增加 ($P<0.05$, $P<0.01$), 细胞线粒体膜电位降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 细胞凋亡率升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), caspase3 和 caspase9 的酶活性、mRNA 及蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), Bax mRNA 及蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), Bcl-2 mRNA 及蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。大戟大枣汤含药血清对乳腺癌 (ER-) MDA-MB-453 细胞的作用效果优于乳腺癌 (ER+) MCF-7 细胞。**结论** 大戟大枣汤含药血清体外有抗乳腺癌的作用, 且作用效果因乳腺癌表型差异而不同, 细胞内线粒体通路可能参与调控。

关键词: 大戟大枣汤; 含药血清; (ER-) MDA-MB-453 细胞; (ER+) MCF-7 细胞; 线粒体通路

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)07-2373-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2023.07.046

收稿日期: 2022-10-27

基金项目: 黑龙江省中医药管理局科技计划项目 (ZHY2020-179); 齐齐哈尔市科技局联合引导项目 (LHYD-202028)

作者简介: 马立威 (1987—), 男, 博士, 副研究员, 从事天然药物抗肿瘤研究。Tel: 15845674204, E-mail: maliwei@qmu.edu.cn

* 通信作者: 刘吉成 (1958—), 男, 教授, 博士生导师, 从事天然药物抗肿瘤研究。Tel: 15845674204, E-mail: jcliu@qmu.edu.cn