

羧甲基茯苓多糖对氟尿嘧啶肝损伤小鼠减毒及肝脏保护作用

王灿红^{1,2}, 何晓山², 张丽静¹, 霍小位¹, 刘冬羽¹, 韩嘉媛¹, 李立勇¹, 曹丽¹

(1. 中国医学科学院药用植物研究所, 北京 100193) (2. 云南中医学院中药学院, 云南昆明 650500)

摘要: 建立 5-Fu 肝损伤小鼠模型, 给药后检测外周血白细胞(WBC)数、骨髓有核细胞(BMNC)数及脏器指数, 血清 ALT 和 AST 活性; 肝组织病理切片观察 CMP 对小鼠肝组织的影响; Western Blot 检测肝组织中 Keap1、Nrf2、GCL、NF- κ B、p38、pp38、Bax 和 Bcl-2 蛋白的表达, 免疫组化检测 NF- κ B 和 pp38 表达。结果表明, 与正常组相比, 5-Fu 导致小鼠肝、脾指数、ALT 和 AST 活性分别升高 13.75%、53.76%、39.48%和 62.81%; WBC 和 BMNC 数分别降低 7.15%和 50.81%; 肝组织中 NF- κ B、pp38、Bax 表达明显增加, Bcl-2 则下降, 表明肝损伤模型成功建立。CMP 使肝损伤小鼠的肝、脾指数、ALT 和 AST 活性分别下降了 12.40%、31.45%、20.83%和 20.14%; WBC 和 BMNC 数分别增加了 7.47%和 18.95%; 还明显增加 Bcl-2 水平,降低 NF- κ B、pp38 和 Bax 表达。CMP 对正常小鼠肝脏无明显作用, 但能明显减轻 5-Fu 毒性, 并对肝损伤有明显保护作用, 其机制与调控 NF- κ B、p38MAPK 及 Bcl-2 信号通路有关。

关键词: 羧甲基茯苓多糖; 氟尿嘧啶; 肝损伤; 毒副作用

文章编号: 1673-9078(2016)9-28-34

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.9.005

Toxicity Reduction by (and Hepatoprotective Effects of) Carboxymethyl Pachymaran on 5-Fluorouracil-induced Liver Injury in Mice

WANG Can-hong^{1,2}, HE Xiao-shan², ZHANG Li-jing¹, HUO Xiao-wei¹, LIU Dong-yu¹, HAN Jia-yuan¹, LI Li-yong¹, CAO Li¹

(1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China) (2. College of traditional Chinese medicine, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

Abstract: A mouse model of 5-Fu-induced liver injury was established, and peripheral-blood white blood cells (WBC), bone marrow nucleated cells (BMNC), visceral indexes, and alanine transaminase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) activities in serum were quantified after the drug was administered. The effects of CMP on mouse liver tissues were examined using histopathological sectioning of the liver tissues; protein expression levels of Keap1, Nrf2, GCL, NF- κ B, p38, pp38, Bax, and Bcl-2 in liver tissues were measured by western blotting; and protein expression levels of NF- κ B and pp38 were analyzed by immunohistochemistry. The results showed that compared with the normal group, 5-Fu increased the liver index, spleen index, ALT activity, and AST activity by 13.75%, 53.76%, 39.48%, and 62.81%, respectively. WBC and BMNC values were decreased by 7.15% and 50.81%, respectively; the expression levels of NF- κ B, pp38, and Bax in liver tissues were significantly increased, but the expression level of Bcl-2 was decreased, indicating that the liver injury model was successfully established. The CMP treatment of this model decreased the liver index, spleen index, ALT activity, and AST activity by 12.40%, 31.45%, 20.83%, and 20.14%, respectively. WBC and BMNC values were increased by 7.47% and 18.95%, respectively. The expression level of Bcl-2 was significantly increased, while the expression levels of NF- κ B, pp38, and Bax were reduced. CMP alone had no significant effect on the liver of normal mice, but effectively reduced the toxicity of 5-Fu and showed apparent hepatoprotective effects. The underlying mechanism is related to the regulation of NF- κ B, p38 MAPK, and Bcl-2 signaling pathways.

Key words: carboxymethyl pachymaran; fluorouracil; liver injury; toxic and side effects

收稿日期: 2015-10-20

基金项目: 国家科技部“重大新药创制”科技重大专项课题(2012ZX09501001-004); 国家科技部“重大新药创制”科技重大专项(2012ZX09301-002-001-026)

作者简介: 王灿红, 女, 在读研究生, 研究方向: 中药药理与应用; 通讯作者: 曹丽, 女, 博士, 研究员, 研究方向: 天然药物抗肿瘤药理学

茯苓始载于《神农本草经》，列为上品，在中药方剂中常作为君药，有“十药九茯苓”、“四君八珍”之称。茯苓为多孔菌科真菌 *poria cocos* (schw)wolf 的干燥菌核，其在我国分布广泛，主产于云南、安徽、湖北等地。根据记载茯苓味甘、淡，性平；归心、肺、脾、肾经；具有利水渗湿、健脾和胃、宁心安神之功效；临床主要用于治疗水肿尿少，痰饮眩悸，脾虚食少，便溏泄泻，心神不安，惊悸失眠，其也常用于食用，如保健食品龟苓膏、茯苓山药粥等，是我国一种重要的药食两用的中药材^[1]。茯苓多糖 (pachyman) 是茯苓的主要成分，其含量占茯苓干重的 80% 以上，但天然茯苓多糖几乎无抗肿瘤活性^[2]。天然茯苓多糖经乙醇碱化、氯乙酸初醚化，再加碱二次醚化合成羧甲基茯苓多糖 (Carboxymethyl Pachyman, CMP)，修饰后茯苓多糖分子量变小，黏度降低，取代度增加，水溶性升高，抗肿瘤及免疫活性也增强^[3]。此外，CMP 在抗氧化^[4]、抗炎^[5]及保肝^[6]等方面也显示了良好的药理活性。如在保肝方面，CMP 能够降低四氯化碳所致小鼠血清 ALT 和 AST 含量升高，提高大鼠肝切除再生能力^[6]；升高抗氧化酶 SOD、CAT 及 GSH-PX 等的活性，降低过氧化物 ROS 和 MDA 等的含量^[7]。

氟尿嘧啶(5-Fu)是临床上治疗消化道肿瘤和乳腺癌的基本药物,然而,5-Fu 在杀伤肿瘤细胞的同时对正常组织和细胞也具有较强的毒副作用,如胃肠道反应、骨髓抑制、肝、肾毒性及心脏毒性,造成机体免疫功能及造血功能低下等^[8]。目前,CMP 的免疫调节及抗肿瘤作用使其广泛应用于临床癌症的辅助治疗,但其如何发挥对化疗药物的减毒增效作用值得深入探讨。因此,为观察 CMP 是否对肝损伤小鼠具有减毒和肝脏保护作用,我们采用腹腔注射 5-Fu 方法建立小鼠肝损伤模型,通过检测 CMP 对小鼠免疫器官、血液指标及肝功能相关指标的影响,来研究 CMP 对氟尿嘧啶毒副反应的改善作用,为 CMP 的临床应用及茯苓药用价值的深入开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

羧甲基茯苓多糖(湖南补天药业股份有限公司提供); 氟尿嘧啶注射液(上海旭东海普药业有限公司); 谷丙转氨酶(ALT)测定试剂盒(丙氨酸底物法)和谷草转氨酶(AST)测定试剂盒(天门冬氨酸底物法)购自北京利德曼生化股份有限公司; 山羊抗鼠抗体 NF- κ B、pp38、GCL、Bax 及 Bcl-2 购于 Santa Cruz 公司; 山羊抗兔抗体 Keap1、Nrf2、及 p38 购于 Santa Cruz 公司;

山羊抗鼠二抗及山羊抗兔二抗均购于北京康为世纪生物科技有限公司; 冰醋酸、甲醛及其他试剂,均为国产分析纯。

1.2 实验仪器

生物洁净工作台(北京东联哈尔仪器制造有限公司,型号:BCN-1360); 二氧化碳培养箱(美国 Napco 公司,型号:5410); 酶标仪(美国 Bio-Tek 公司,型号:MQX 200); 荧光倒置显微镜(日本 Olympus, 型号:CKX 41); 离心机(德国 Heraeus 公司,型号:Labofuge 400R); 凝胶成像仪(美国 Bio-Rad 公司,型号:Chemidaxes-721BR03382)。

1.3 实验动物

雄性 ICR 小鼠,SPF 级,体重 16~18 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号 SCXK(京)2012-0001。按啮齿类动物饲养方法和条件饲养于 SPF 级动物房。

1.4 实验方法

1.4.1 实验动物分组与给药

健康雄性 ICR 小鼠 32 只,实验前适应性喂养 3 天;保持在 12 小时明/暗周期,控制湿度(50%~70%)和温度(20~24 °C),由动物自由摄取食物和水。动物随机分为 4 组:正常对照组、5-Fu (25 mg/kg)组、CMP (200 mg/kg)组和 CMP(200 mg/kg)+5-Fu(25 mg/kg)组,每组 8 只。正常组灌胃给予蒸馏水,20 mL/kg,1 次/d,CMP 组灌胃给予 CMP,20 mL/kg,1 次/d,5-Fu 组腹腔注射给药,10 mL/kg,1 次/2 d,CMP+5-Fu 组灌胃给予 CMP,20 mL/kg,1 次/d,同时腹腔注射给予 5-Fu,10 mL/kg,1 次/2 d,各组均连续给药 14 d。

1.4.2 CMP 对 5-Fu 模型小鼠的内脏器官及常见毒副作用的影响

1.4.2.1 CMP 对 5-Fu 模型小鼠脏器指数的影响

末次给药 2 h 后,称体重,摘眼球取血并颈椎脱臼处死小鼠,剥离脾脏,肝脏、肾脏用电子天平精密称重,计算脏器指数。

脏器指数=内脏器官质量(mg)/体重(g)。

1.4.2.2 CMP 对 5-Fu 模型小鼠外周血 WBC 数的影响

末次给药 1 h 后,小鼠尾尖取血 10 μ L,加入到 190 μ L 的 3%稀醋酸中,轻弹 EP 管使红细胞充分裂解,在显微镜下计数。

1.4.2.3 CMP 对 5-Fu 模型小鼠 BMNC 数的影响

剥离右侧股骨,用 1 mL 注射器吸取 0.5 mL Hank's 液通过针头反复冲洗骨髓,用 3%稀醋酸稀释 10 倍后

于血细胞计数板上计数 BMNC 数。

1.4.3 CMP 对 5-Fu 所致肝脏损伤模型小鼠的影响

摘眼球取血, 4 °C, 3000 r/min, 离心 15 min, 取上清于-20 °C 保存。运用全自动生化分析仪测血清中 ALT 和 AST 活性。脱白处死动物, 摘取肝脏, 小心用剪刀剪取一块, 置于 10% 甲醛溶液中固定, 做病理组织切片观察; 剩余肝脏、置于-80 °C 保存, 用于其它指标检测。

1.4.4 免疫印迹法检测肝组织中 Keap1、Nrf2、GCL、NF-κB、p38、pp38、Bax 和 Bcl-2 蛋白的表达

称取 100 mg 左右肝脏组织, 按 1:9 加入生理盐水, 冰浴匀浆, 4 °C, 12000 r/min, 离心 15 min 后, 将上清吸取干净, 加入 500 μL 组织蛋白裂解液 (99 μL 组织抽提试剂: 1 μL 蛋白酶抑制剂), 充分混匀, 4 °C 裂解 60 min 后, 12000 r/min, 冷冻离心 15 min。取蛋白上清保存于-80 °C。BCA 蛋白定量法检测蛋白浓度, 等量蛋白上样, 选用 10% SDS-PAGE 凝胶和 Tris-甘氨酸电泳缓冲液电泳, 室温条件下电压稳定在 80 V, 电泳至浓缩胶与分离胶界面, 再调整电压为 100 V, 电泳约 120 min 后转膜。采用湿法转膜装置将蛋白转到聚偏二氟乙烯膜 (PVDF) 上, 室温条件下 5% BSA 封闭 120 min 后, 按要求稀释相应的一抗, 4 °C 封闭孵育过夜; TBST 摇床振荡洗膜, 每次 15 min, 换液、连续洗 3 次, 加入相应的二抗, 室温孵育 2 h 后, 再洗膜 3 次, 最后凝胶系统成像。

1.4.5 免疫组化法检测肝组织中 NF-κB 和 pp38 蛋白的表达

摘取肝脏, 小心用剪刀剪取一块, 置于 10% 甲醛溶液中固定, 将固定好的组织进行流水冲洗、梯度酒

精脱水、浸蜡、包埋、6 μm 切片、烤干、脱蜡、HE 染色、一抗、二抗和中性树脂封片。免疫组化镜检观察肝组织中 NF-κB 和 pp38 蛋白的表达情况。

1.5 统计学处理

实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用统计软件 SPSS 17.0 对数据进行单因素方差分析, 组间进行多重比较, $p < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 CMP 对 5-Fu 模型小鼠脏器指数的影响

脾脏是机体最大的免疫器官, 其主要功能是储存血、过滤血和发挥免疫调节作用。在正常情况下, 当病毒感染、炎症等发生时, 为对抗应激反应, 脾脏网状内皮细胞增生, 呈现肿大状态, 脾脏的免疫作用增强; 然而, 在病理状态下, 如肝脏组织病变时, 常伴有肝脏纤维组织增生, 导致肝内管状结构紊乱, 使门静脉压力增高, 脾脏静脉血液回流受阻, 导致脾脏淤血肿大, 结构改变, 血细胞数量减少, 脾脏的免疫功能反而降低^[9]。表 1 显示, 与正常组相比, 单用 CMP 对肝、脾和肾脏指数无明显改变。而给予 5-Fu 处理后, 小鼠肝脏指数和脾脏指数均明显升高, 升高百分率分别达 13.75% ($p < 0.01$) 和 53.76% ($p < 0.05$), 表明 5-Fu 模型小鼠出现脾脏充血性肿胀和肝损伤, 致使免疫力低下^[10], 同时肾脏指数降低 15.72% ($p < 0.01$)。与 5-Fu 模型组相比, 口服 CMP 可以显著降低肝、脾指数的升高程度, 两者分别下降了 12.40% ($p < 0.05$) 和 31.45% ($p < 0.05$); 对降低的肾脏指数升高 5.11% ($p > 0.05$)。表明 CMP 对 5-Fu 所致脏器指数异常具有明显的恢复作用。

表 1 CMP 对 5-Fu 模型小鼠脏器指数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of CMP on the organ index in the mouse model induced by 5-Fu ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(mg/kg)	肝脏指数/(mg/g)	脾脏指数/(mg/g)	肾脏指数/(mg/g)
正常组	-	44.65±1.80 ^{###}	4.26±0.65 [#]	13.93±1.20 [#]
5-Fu	25	50.79±2.78 ^{**}	6.55±1.55 [*]	11.74±0.33 ^{**}
CMP	200	43.40±1.39 ^{###}	3.94±0.56 ^{###}	14.00±0.99 [#]
CMP+5-Fu	200+25	44.49±5.00 [#]	4.49±1.08 [#]	12.34±1.55 [*]

注: 与正常组比^{*} $p < 0.05$, ^{**} $p < 0.01$; 与 5-Fu 组比[#] $p < 0.05$, ^{###} $p < 0.01$ 。

2.2 CMP 对 5-Fu 模型小鼠外周血 WBC 和 BMNC 数的影响

氟尿嘧啶为一种临床常用化疗药物, 但其选择性差, 在杀伤肿瘤细胞的同时, 对生长旺盛的正常组织

和细胞也带来较大副作用, 如引起外周血 WBC、骨髓有核细胞数下降等非特异性免疫功能低下和造血功能障碍。有研究报道, 植物多糖能够拮抗化疗药物所致的免疫功能低下等毒副作用^[11]。表 2 显示, 与正常组相比, 单用 CMP 后, 小鼠外周血 WBC 升高 14.30% ($p < 0.01$), 但 BMNC 数基本未改变。而 5-Fu

模型组外周血 WBC 和 BMNC 数明显降低,降低百分率分别为 7.15% ($p<0.05$) 和 50.81% ($p<0.01$), 差异有统计学意义。与 5-Fu 模型组相比,口服 CMP 能够显著升高 5-Fu 所降低的外周 WBC 和 BMNC 数,两

者分别增加了 17.12% ($p<0.01$) 和 46.77% ($p<0.01$); 表明 CMP 对 5-Fu 所致的非特异性免疫功能低下和造血功能障碍有一定改善作用。

表 2 CMP 对 5-Fu 模型小鼠外周血 WBC 和骨髓有核细胞数的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Effects of CMP on peripheral white blood cells (WBCs) and bone marrow nucleated cells in the mouse model induced by 5-Fu ($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量/(mg/kg)	WBC/(10^6 个/mL)	骨髓有核细胞/(10^6 个/mL)
正常组	-	7.55±0.36	15.43±0.57
5-Fu	25	7.01±0.35*	7.59±2.23**
CMP	200	8.63±0.21**	15.70±1.25
CMP+5-Fu	200+25	8.21±0.63*##	11.14±1.26**##

注:与正常组比* $p<0.05$, ** $p<0.01$;与 5-Fu 组比## $p<0.01$ 。

2.3 CMP 对 5-Fu 模型小鼠血清中 ALT 和 AST 活性的影响

据报道,包括药物、毒物在内的多种因素引起的化学性肝损伤是肝病常见的一种病理损害,致使肝细胞发生脂质过氧化损伤,干扰细胞内的能量代谢,活化细胞程序性死亡等,表现为肝代谢酶 AST、ALT、脂质过氧化物 MDA、ROS 升高及肝组织病理损伤等^[12]。表 3 显示,与正常组比,单用 CMP 对小鼠血清中 ALT 和 AST 活性无明显改变;而单用 5-Fu 明显升高小鼠血清中 ALT 和 AST 含量,其升高百分率分别为 39.48% ($p<0.05$) 和 62.81% ($p<0.01$), 差异有统计学意义。与 5-Fu 模型组相比,CMP 可以显著降低 5-Fu 所致 ALT 和 AST 的升高,两者分别下降了 20.83% ($p<0.05$) 和 20.14% ($p<0.05$), 表明 CMP 能够拮抗 5-Fu 所致肝脏代谢酶 ALT 和 AST 的升高,对肝脏起到保护作用。这与文献报道的每天腹腔注射给予 CMP 注射液 100 mg/kg 和 200 mg/kg 连续 5 d, CCL4 肝损伤小鼠血清 ALT 分别降低 27.32% 和 41.03% 的保肝结果相似^[6]。

表 3 CMP 对 5-Fu 模型小鼠血清中 ALT 和 AST 的影响 ($\bar{x}\pm s$)

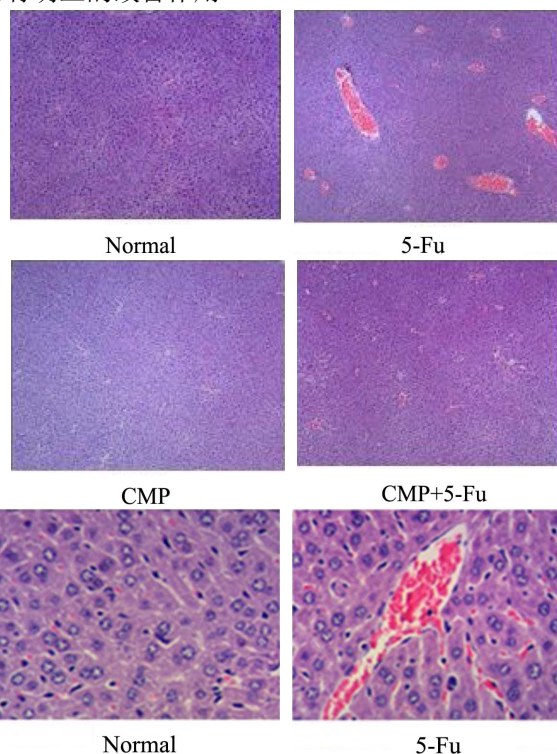
Table 3 Effects of CMP on ALT and AST in serum in the mouse model induced by 5-Fu ($\bar{x}\pm s$)

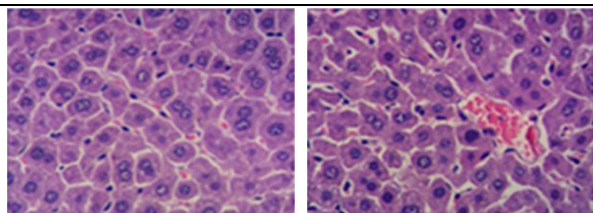
组别	剂量/(mg/kg)	ALT/(IU/L)	AST/(IU/L)
正常组	-	28.98±3.69	130.84±15.24
5-Fu	25	40.42±7.88*	213.02±43.33**
CMP	200	29.50±4.20	144.40±23.61
CMP+5-Fu	200+25	32.00±5.41#	170.10±13.40**##

注:与正常组比* $p<0.05$, ** $p<0.01$;与 5-Fu 组比## $p<0.05$ 。

2.4 CMP 对 5-Fu 模型小鼠肝脏组织的病理学观察

小鼠肝脏病理切片(图 1)显示,正常组小鼠的肝脏和肝细胞形态正常,肝细胞呈明显的放射状整齐排列,无炎症细胞浸润及坏死。口服 CMP 对正常小鼠肝组织无明显改变。5-Fu 模型组肝细胞出现严重的病变、坏死及炎症细胞浸润。而口服 CMP 后,可明显减轻 5-Fu 所致肝细胞组织病变、坏死程度,炎症细胞浸润也显著减少,表明 CMP 对 5-Fu 所致的肝脏损伤有明显的改善作用。





CMP CMP+5-Fu

图1 CMP对5-Fu模型小鼠肝脏组织的病理学观察

Fig.1 Effects of CMP on liver histopathological features in the mouse model induced by 5-Fu

注: 左图放大40倍, 右图放大400倍。

2.5 CMP对5-Fu模型小鼠肝脏组织中抗氧化及凋亡相关蛋白表达的影响

当肝脏发生炎症性损伤时, NF-κB可被激活, 并导致TNF-α和IL-1β等炎症因子过量合成和释放, 进而导致肝脏细胞的凋亡^[13]。肝细胞凋亡同时也涉及p38MAPK、Caspase家族及Bcl-2家族等信号通路。蛋白免疫印迹结果(图2和3)显示, 与5-Fu模型组相比, CMP+5-Fu能增加肝脏组织Bcl-2的表达, 降低NF-κB、pp38和Bax的表达, 提示CMP可能抑制炎症通路的激活, 并有效保护5-Fu所致的细胞凋亡。Nrf2-ARE通路主要是通过抗氧化作用, 发挥保护肝脏氧化损伤及炎症。当外界环境因子刺激发生氧化应激时, Nrf2和Keap1分离, Nrf2被释放到细胞核与抗氧化元件GCL、HO-1等结合发挥抗氧化作用^[14]。因此, CMP可能在一定程度上增加Nrf2和GCL的表达来发挥抗氧化功能, 从而增强对肝脏的保护。

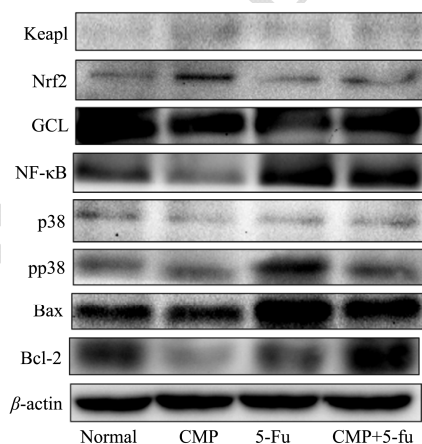
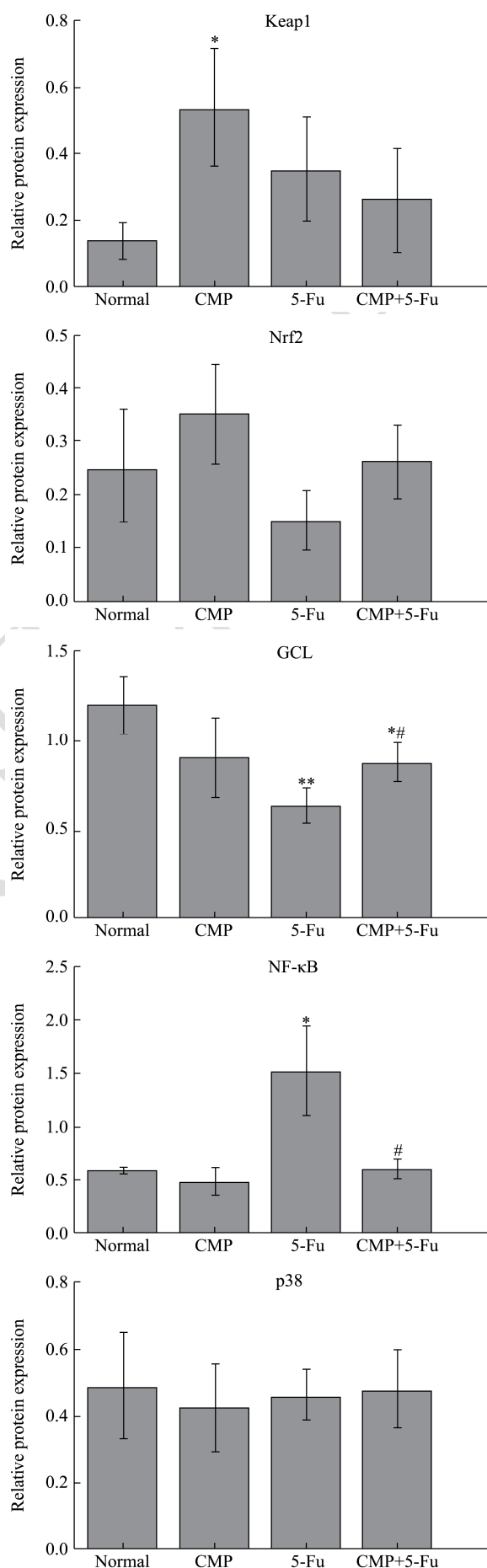


图2 CMP对5-Fu模型小鼠肝脏组织中蛋白表达的影响(n=3)

Fig.2 Effects of CMP on expression of proteins in liver tissues of the mouse model induced by 5-Fu (n=3)



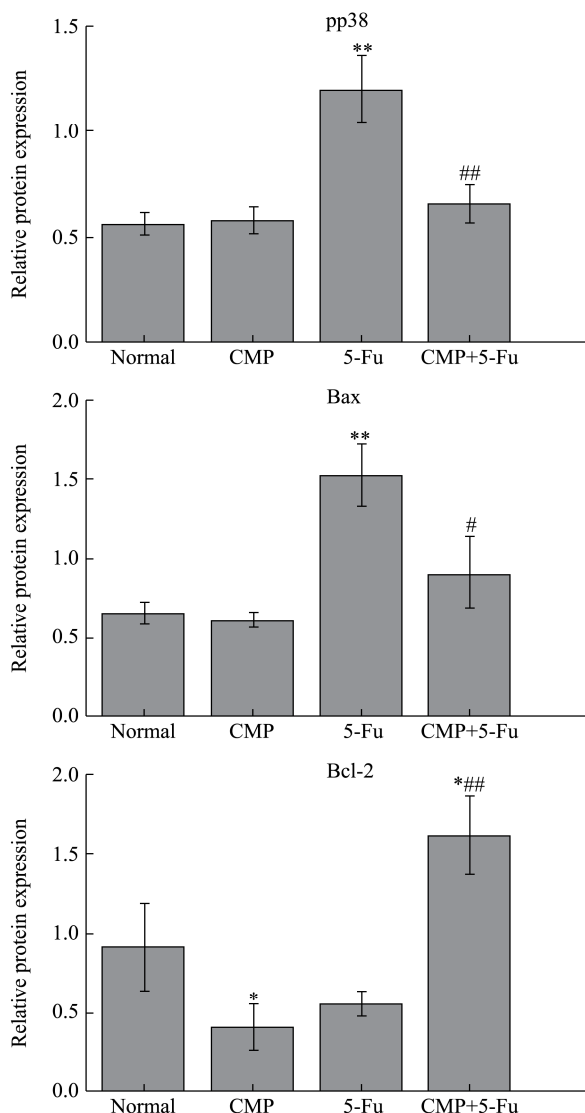


图3 CMP对5-Fu模型小鼠肝脏组织中蛋白相对表达量的影响 ($\bar{x}\pm s$, n=3)

Fig.3 Effects of CMP on relative expression of proteins in liver tissues of the mouse model induced by 5-Fu ($\bar{x}\pm s$, n=3)

注: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. normal group, # $p < 0.05$, ### $p < 0.01$ vs. 5-Fu group.

2.6 CMP对5-Fu模型小鼠肝脏组织中蛋白NF- κ B和pp38表达的影响

为进一步证实CMP对5-Fu致炎、氧化应激以及凋亡的改善作用,运用免疫组化技术对肝组织相关蛋白的表达进行了检测。结果见图4和5,5-Fu组可见NF- κ B阳性细胞主要分布于中央静脉及肝细胞坏死病灶周围细胞的胞浆中,体现了肝脏的炎症性损伤情况。CMP对正常小鼠的NF- κ B表达未见明显影响,但对5-Fu导致的NF- κ B表达的增加具有显著的拮抗作用;同样,5-Fu组磷酸化的p38表达也显著增加,主要在

肝脏枯否细胞(Kuffer cells)中,说明其肝脏细胞发生明显凋亡、坏死,而与CMP联用则显著减少pp38的表达,进一步证实CMP能保护5-Fu所致的肝脏炎症及细胞凋亡。

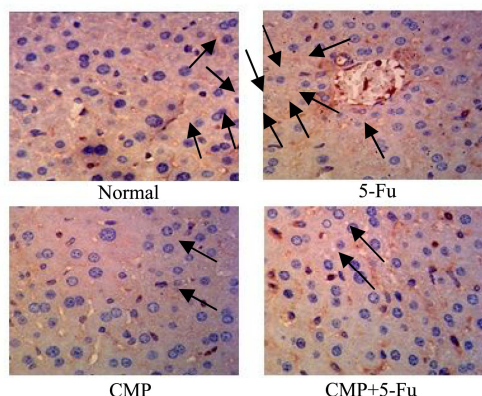


图4 CMP对5-Fu模型小鼠肝脏组织中NF- κ B表达的影响(400x)

Fig.4 Effects of CMP on expression of NF- κ B in liver tissues of the mouse model induced by 5-Fu (400x magnification)

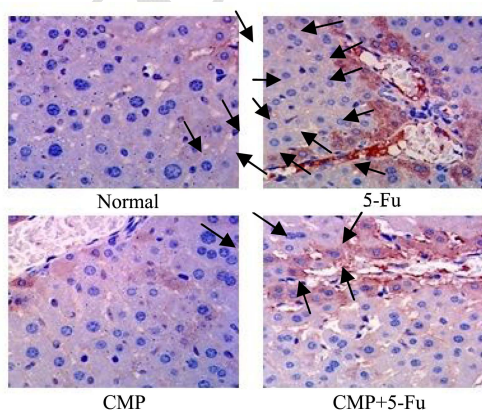


图5 CMP对5-Fu模型小鼠肝脏组织中pp38表达的影响(400x)

Fig.5 Effects of CMP on expression of pp38 in liver tissues of the mouse model induced by 5-Fu (400x magnification)

3 结论

氟尿嘧啶(5-Fu)是临床常用的化疗药物,主要用于治疗消化道肿瘤和乳腺癌等,且疗效显著,但选择性差,在杀伤肿瘤细胞的同时对生长旺盛的正常组织和细胞也具有较强的毒副作用,造成机体肝、肾毒性以及免疫功能和造血功能低下,影响患者生活质量。因此,本文主要就羧甲基茯苓多糖减轻化疗药物5-Fu毒性、抗氧化及肝脏保护作用进行了研究。采取5-Fu制备肝损伤模型进行实验,结果显示CMP能够明显减轻5-Fu所致外周血白细胞和骨髓造血细胞数下降;并保护5-Fu所致的小鼠肝脏氧化损伤、炎症及细胞凋亡,其作用机制可能涉及炎症NF- κ B、细胞凋亡p38MAPK、Bcl-2蛋白家族及抗氧化Nrf2-ARE等信号通路,但其具体作用机制还需进一步研究证实。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典一部[M]. 北京: 北京化学工业出版社, 2005
Chinese pharmacopoeia commission. pharmacopoeia of the people's republic of China, volume 1 [M]. Beijing: Beijing Chemical Industry Press, 2005
- [2] Hamuro J J, Maeda Y Y, Arai Y, et al. The significance of the higher structure of the polysaccharides lentinan and pachyman with regard to their antitumour activity [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 1971, 3(1): 69-71
- [3] 石清东, 蒋先明. 二次碱化法制备羧甲基茯苓多糖[J]. *天然产物研究与开发*, 1996, 8(2): 78-81
SHI Qing-dong, JIANG Xian-ming. Twice alkalization method for preparation of carboxymethylpachyman [J]. *Natural Product Research and Development*, 1996, 8(2): 78-81
- [4] Wei Y J, Hu T J, et al. Immunomodulatory and antioxidant effects of carboxymethylpachyman on the mice infected with PCV2 [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2012, 50(3): 713-719
- [5] Lu M K, Cheng J J, Lin C Y. Purification, structural elucidation and anti-inflammatory effect of a water-soluble 1, 6-branched 1, 3- α -D-galactan from cultured mycelia of *Poria cocos* [J]. *Food Chemistry*, 2010, 118(2): 349-356
- [6] 陈春霞. 羧甲基茯苓多糖的保肝与催眠作用[J]. *食用菌*, 2003, S1: 46-47
CHEN Chun-xia. Liver and hypnotic effects of carboxymethyl Pachyman [J]. *Edible Fungi*, 2003, S1: 46-47
- [7] Wei X J, Hu T J, Chen J R., et al. Inhibitory effect of carboxymethylpachyman on cyclophosphamide induced oxidative stress in mice [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2011, 49(4): 801-805
- [8] 梁思雯, 陈真. 多糖对抗肿瘤药物的增效减毒作用研究进展[J]. *安徽医药*, 2009, 13(5): 465-467
LIANG Si-wen, CHEN Zhen. Recent research progress effect of polysaccharides in enhancing efficacy and reducing toxicity of chemotherapy [J]. *Anhui Medicine and Pharmaceutical Journal*, 2009, 13(5): 465-467
- [9] 卢宝玲, 陈焕永, 朱思和, 等. 病毒性肝炎患者脾脏大小与血细胞的变化[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2008, 42(3): 314-315
LU Bao-ling, CHEN Huan-yong, ZHU Si-he, et al. Changes in spleen size and blood cells in patients with viral hepatitis [J]. *Journal of Harbin Medical University*, 2008, 42(3): 314-315
- [10] Zhao T, Mao G H, Mao R W, et al. Antitumor and immunomodulatory activity of a water-soluble low molecular weight polysaccharide from *Schisandrachinensis* (Turcz.) Baill [J]. *Food Chem. Toxicol.*, 2013, 55: 609-616
- [11] 姚佳, 肖雄, 唐健波, 等. 仙茅多糖对氟尿嘧啶增效减毒作用[J]. *天然产物研究与开发*, 2014, 26: 834-837, 867
YAO Jia, XIAO Xiong, TANG Jian-bo, et al. Efficacy enhancing and toxicity reducing effect of curculigoorchioidespolysaccharide on S180 tumor-bearing mice treated by fluorouracil [J]. *Natural Product Research and Development*, 2014, 26: 834-837, 867
- [12] Nadia R A, Abou-Zeid. Ameliorative effect of vitamin C against 5-Fuorouracil-induced hepatotoxicity in mice: A light and electron microscope study [J]. *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 2014, 67(4): 109-118
- [13] Dong D S, Xu B L, Yin L H, et al. Naringin prevents carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice [J]. *Journal of Functional Foods*, 2015, 12: 179-191
- [14] Gwi H J, Sun Y P, Eunk Y K, et al. Anti-inflammatory activity of bambusae caulis in taeniam through heme oxygenase-1 expression via Nrf-2 and p38 MAPK signaling in macrophages [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2012, 34(2): 315-323