

富含多糖药食同源复合剂的抗肿瘤活性

李嘉辉¹, 龙洁怡², 林洪宇¹, 张慧婷¹, 安泗谕¹, 刘果¹, 龙明芳¹, 梁明², 林晓亮², 曹庸^{1*}
(1. 华南农业大学食品学院, 广东省功能食品活性物重点实验室, 广东省天然活性物工程技术研究中心, 广东广州 510642) (2. 无限极(中国)有限公司, 广东广州 510403)

摘要: 该文探讨了富含多糖的药食同源复合剂 (*Ganoderma lucidum* Complex Water Extract, PCW) 对 H22 肝癌小鼠的抗肿瘤作用。建立 H22 荷瘤小鼠模型, 设正常组、模型组、阳性对照组 (Lentianan, LEN)、PCW 低、中、高剂量组, 测定抑瘤率、脏器指数、肿瘤和肝脏 HE 染色、脾淋巴细胞增殖能力、血清细胞因子等指标。结果表明, 阳性对照组、PCW 低、中、高剂量组小鼠的抑瘤率分别为 30.01%、27.95%、46.72%、54.23%; 低、中、高剂量 (50、100、200 mg/kg) PCW 可显著改善 H22 荷瘤模型小鼠脾脏、胸腺的病变 ($P < 0.05$); H22 肝癌细胞的生长和 PCW 干预未对小鼠肝脏产生显著影响; 相较于模型组, 低、中、高剂量 PCW 可极显著提高小鼠脾淋巴细胞增殖能力 ($P < 0.01$); 中、高剂量 PCW 可显著提高 IL-6、TNF- α 、IL-12 水平 ($P < 0.05$)。结论, PCW 对 H22 荷瘤小鼠肿瘤有一定抑制作用, 该研究结果可为抗肿瘤功能的产品研发提供新思路。

关键词: 复配物水提取物; 小鼠模型; 抗肿瘤

文章编号: 1673-9078(2024)08-123-130

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.8.0825

Antitumor Activity of a Polysaccharide-rich Medicinal and Food Complex

LI Jiahui¹, LONG Jieyi², LIN Hongyu¹, ZHANG Huiting¹, AN Siyu¹, LIU Guo¹, LONG Mingfang¹,
LIANG Ming², LIN Xiaoliang², CAO Yong^{1*}

(1.College of Food Science, South China Agricultural University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Nutraceuticals and Functional Foods, Guangdong Natural Active Object Engineering Technology Research Center, Guangzhou 510642, China)(2.Infinity China Co. Ltd., Guangzhou 510403, China)

Abstract: The antitumor activity of a polysaccharide-rich *Ganoderma lucidum* complex water extract (hereinafter, PCW) was investigated. First, H22 tumor-bearing mouse models were established, including a control group, a model group, a positive control group (treated with lentianan (LEN)), and PCW groups (treated with low, medium, and high PCW doses). Then, the tumor inhibition rate, organ indexes, tumor and liver HE staining results, spleen lymphocyte proliferative ability, and serum cytokine levels were measured. The results showed that the tumor inhibition rates of the positive control group and low-, medium-, and high-dose PCW groups (50, 100, and 200 mg/kg) were 30.01%, 27.95%, 46.72%, and 54.23%, respectively. Low, medium, and high doses of PCW significantly improved the pathological changes of the spleen and thymus

引文格式:

李嘉辉,龙洁怡,林洪宇,等.富含多糖药食同源复合剂的抗肿瘤活性[J].现代食品科技,2024,40(8):123-130.

LI Jiahui, LONG Jieyi, LIN Hongyu, et al. Antitumor activity of a polysaccharide-rich medicinal and food complex [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(8): 123-130.

收稿日期: 2023-07-09

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31972078); 中国博士后基金面上项目 (2020M672651)

作者简介: 李嘉辉 (1999-), 男, 硕士, 研究方向: 天然活性物分离纯化, 活性评价及作用机制, E-mail: 1264160149@qq.com; 共同第一作者: 龙洁怡 (1995-), 女, 博士, 研发工程师, 研究方向: 中药及保健品开发, E-mail: Anna.Long@infinity-int.com

通讯作者: 曹庸 (1966-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 天然活性物的分离纯化鉴定及活性, E-mail: caoyong2181@scau.cn

in H22 tumor-bearing mice ($P<0.05$). The growth of H22 liver cancer cells and PCW intervention did not have significant effects on the mouse liver. Compared with the spleen lymphocytes of the model group, those of the low-, medium- and high-dose PCW groups exhibited significantly increased proliferative abilities ($P<0.01$). Medium and high doses of PCW significantly increased the IL-6, TNF- α , and IL-12 levels ($P<0.05$). In conclusion, PCW had a noticeable antitumor effect in H22 tumor-bearing mice. Therefore, the results of this study can provide new ideas for the development of antitumor products.

Key words: complex water extract; mouse model; antitumor

灵芝 (*Ganoderma lucidum*) 是灵芝科、灵芝属真菌, 灵芝多糖为灵芝的主要活性成分之一, 灵芝多糖可通过抗增殖、促凋亡、抗转移等作用机制发挥抗癌作用^[1]。菟丝子为旋花科植物南方菟丝子 (*Guscuta australis* R.Br.) 或菟丝子 (*Cuscuta chinensis* Lam.) 的干燥成熟种子, 菟丝子多糖具有抗肿瘤活性, 叶春林等^[2]研究发现菟丝子多糖可显著抑制人肺腺癌细胞 A549、人肝癌细胞 HepG2、人胰腺癌细胞 PANC-1 等癌细胞的增殖。五味子为木兰科植物五味子 [*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill] 的干燥成熟果实, 五味子多糖是五味子的关键活性成分, 甘露^[3]研究表明五味子多糖可通过改善 H22 肝癌小鼠器官免疫和细胞免疫功能, 从而发挥抗肿瘤作用。党参 (*Codonopsis radix*) 是桔梗科党参属植物, 吴红梅等^[4]研究发现党参多糖可通过促进免疫细胞活化从而增强环磷酰胺的抗小鼠 S180 肿瘤作用。大量研究表明, 香菇多糖对鼠肝癌细胞 H22、鼠肉瘤细胞 S180 等癌细胞的生长具有显著的抑制作用, 香菇多糖已广泛应用于国内外临床治疗癌症的辅助佐剂^[5-8]。灵芝、菟丝子、五味子、党参作为食物和药物在我国有着悠久的历史, 具有资源丰富、活性功效强等特点。因此, 以灵芝、菟丝子、五味子、党参作为主要原料开发功能食品具有广阔的市场前景。

肝癌是常见的恶性肿瘤之一, 具有生存时间短、易转移复发等特点。2020 年全球肝癌发病例数为 90.6 万, 死亡例数为 83.0 万, 是发病率和死亡率分别排第六和第三的恶性肿瘤^[9], 利用天然产物开发新型抗肝癌功能食品具有重要意义。现代药理研究表明, 单一品种的天然产物可能对某一生理效应有明显作用, 而多种天然产物的复合物在发挥活性作用时可能呈现协同性, 复合型天然产物的抗肿瘤活性研究是目前的研究热点, 当归补血口服液^[10]、芪灵益肝煎^[11]、复方灵芝胶囊^[12]、参灵合剂^[13]、扶正抗癌方^[14]、参芪五味子颗粒^[15]等以灵芝或五味子为主要原料的复合型天然产物制剂对 H22 荷瘤小鼠有

显著的抗肿瘤作用, 然而不同种类不同剂量天然产物配伍呈现的药理活性会有所差异, 发挥活性作用的有效成分和协同增效机制还有待进一步明确。因此, 作为新型的抗肿瘤功能产品, PCW 的抗肿瘤活性研究具有重要意义。

本试验通过建立 H22 荷瘤小鼠模型, 研究 PCW 对小鼠抑瘤率、免疫器官指数、脾淋巴细胞增殖能力、细胞因子分泌等影响, 比较 PCW 与香菇多糖对 H22 荷瘤小鼠抗肿瘤功能影响。为灵芝、菟丝子、五味子、党参在保健食品领域的进一步开发与利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与仪器

灵芝、菟丝子、五味子、党参、香菇多糖, 无限极 (中国) 有限公司。6~8 周龄 SPF 级 Balb/C 雄性小鼠, 体质量 18~22 g, 浙江维通利华实验动物技术有限公司 [生产许可证号: SCXK(浙)2019-0001]。试验小鼠饲养于华南农业大学动物中心 [实验动物使用许可证: SYXK(粤)2019-0136], 试验方案均通过华南农业大学动物伦理委员会批准 (审批编号: 2021B074)。小鼠 H22 肝癌细胞, 武汉大学中国典型培养物保藏中心。

TNF- α 、IL-6、IL-12 试剂盒, 深圳欣博盛生物科技有限公司; Enspire 2003 多功能酶标仪, 金埃默默仪器有限公司; R204-B3 旋转蒸发器, 上海申生科技有限公司; SH-D 真空泵, 河南予华仪器有限公司; FD-1PF 真空冷冻干燥机, 美国赛默飞科技有限公司; 安捷伦 7890-5973 气相色谱-质谱联用仪, 安捷伦科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 PCW的提取

根据实际生产要求和灵芝、菟丝子、五味子、党参已报道的抗肿瘤活性, PCW 由灵芝、菟丝子、五味子、党参按质量比 50.3:25.2:15.7:8.8 组成复配

物后再经水提所得。灵芝、菟丝子、五味子、党参的复配物于沸水中提取 2 h, 多次提取后混合提取液, 3 000 r/min 转速下离心 5 min 去除沉淀, 减压旋蒸浓缩提取液, 冻干后得到的 PCW 于 4 °C 冰箱保存。硫酸-苯酚法^[16]测得 PCW 多糖含量为 53.80%。

1.2.2 动物试验

1.2.2.1 动物模型建立及分组

H22 荷瘤小鼠模型及灌胃剂量参照已报道方法^[17]。试验小鼠在适应实验室环境一周后, 按体重随机分配, 每组 8 只, 每只小鼠在右后肢皮下窝进行皮下注射接种 0.2 mL 肿瘤细胞悬液, 每只接种约 2×10^6 个肿瘤细胞, 接种 7~14 d 左右后肢皮下有米粒状突起。当 $ab^2/2$ 大于 50 mm^3 (a : 肿瘤长径; b : 肿瘤短径), 即小鼠建模成功。阳性对照组采用香菇多糖, 香菇多糖、PCW 低、中、高剂量组小鼠灌胃均使用蒸馏水配制成适当浓度。空白组和模型组小鼠灌胃使用等体积的蒸馏水。动物试验连续 10 d 对试验建模成功小鼠进行灌胃, 每天一次 (早上 8:00)。小鼠分组和灌胃量具体见表 1。

表 1 动物试验组别和灌胃剂量

Table 1 Animal grouping and gavage dose

组别	灌胃剂量
空白组 (Normal)	蒸馏水
模型组 (Model)	蒸馏水
阳性对照组 (LEN)	100 mg/(kg·d)
水提物低剂量组 (PCWL)	50 mg/(kg·d)
水提物中剂量组 (PCWM)	100 mg/(kg·d)
水提物高剂量组 (PCWH)	200 mg/(kg·d)

1.2.2.2 体质量测定

小鼠建模成功后, 依次记录各组别小鼠灌胃的第 1、3、5、7、9、10 天的体质量。

1.2.2.3 小鼠抑瘤率测定

末次灌胃 24 h 后 (第 11 天), 小鼠称重后 CO_2 麻醉处死, 剥离肿瘤组织, 按 (1) 公式计算抑瘤率。

$$A = \frac{B-C}{B} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

A —抑瘤率;

B —模型组肿瘤质量, g;

C —干预组肿瘤质量, g。

1.2.2.4 小鼠脏器指数测定

末次灌胃 24 h 后 (第 11 天), 取小鼠脾脏、胸腺, 分别称量湿重并记录。按 (2)、(3) 公式分别

计算胸腺指数和脾脏指数。

$$T_a = \frac{M_{\text{胸}}}{M_{\text{鼠}}} \times 100\% \quad (2)$$

$$T_b = \frac{M_{\text{脾}}}{M_{\text{鼠}}} \times 100\% \quad (3)$$

式中:

T_a —胸腺指数;

T_b —脾脏指数;

$M_{\text{胸}}$ —胸腺质量, g;

$M_{\text{脾}}$ —脾脏质量, g;

$M_{\text{鼠}}$ —小鼠体质量, g。

1.2.2.5 肿瘤组织和肝脏组织病理学观察

将肿瘤组织和肝脏组织剥离后固定于多聚甲醛溶液, 包埋、切片、脱蜡后 HE 染色, 完成镜检。

1.2.2.6 H22 荷瘤小鼠脾淋巴细胞增殖能力测定

参照《允许保健食品声称的保健功能目录 非营养补充剂 (2020 年版) (征求意见稿)》^[18] 中脾淋巴细胞增殖 MTT 法测定的方法。无菌条件下收集各组小鼠脾淋巴细胞配制脾淋巴细胞悬液, 进行细胞计数, 调整细胞密度每毫升 2×10^6 个。使用 24 孔细胞培养板, 细胞培养箱培养后加入 MTT 液, 用酶标仪测定波长在 570 nm 条件下吸光度, 得到小鼠脾淋巴细胞增殖能力结果。

1.2.2.7 细胞因子含量检测

按照试剂盒说明书步骤, 采用酶联免疫吸附试验检测血清上清中肿瘤坏死因子 (TNF- α), 白介素 6 (IL-6) 的质量浓度。

1.3 数据处理与分析

SPSS 22.0 软件被用来分析多组数据间在统计学上的数据统计和显著性, 采用单因素方差分析, 数据以“平均值 \pm 标准差”表示, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。与 Model 组比较 $*P < 0.05$, $**P < 0.01$; 与 Normol 组比较 $\#P < 0.05$, $\#\#P < 0.01$, 并以 GraphPad Prism 8 制作图表。

2 结果与讨论

2.1 小鼠体质量变化

试验期间, 小鼠饮食、排泄等生理活动未见异常情况, 各组分小鼠 1~10 d 体质量变化如图 1 所示。干预期间各组小鼠体质量均无显著性差异变化 ($P > 0.05$), 说明 PCW 可在不影响小鼠体质量的前提下抑制肿瘤的生长。

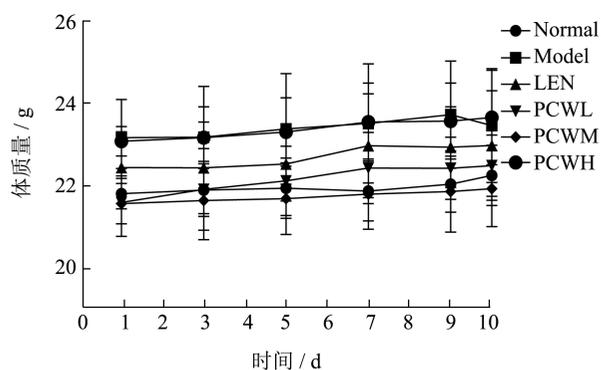


图1 小鼠体质量趋势图

Fig.1 Mouse body weight trend chart of mice

2.2 抑瘤率

图2是不同样品对H22荷瘤小鼠抑瘤率的影响,阳性对照和PCW低、中、高剂量处理组小鼠抑瘤率分别是30.01%、27.95%、46.72%、54.23%,且抑瘤率随PCW剂量增加而增大,呈剂量效应。相同剂量干预下(100 mg/kg),PCW处理组小鼠抑瘤率远高于香菇多糖处理组小鼠,根据中草药抗肿瘤有效性的标准(抑瘤率>30%)^[19],说明PCW具有较好的抑制肿瘤生长的作用。灵芝多糖、五味子多糖、菟丝子多糖和党参多糖均具有较好的抗肿瘤作用,Zhu等^[20]的研究表明灵芝多糖与顺铂联合治疗可显著抑制U14宫颈癌小鼠肿瘤细胞增殖;五味子多糖低、中、高剂量(200、400、800 mg/kg)干预H22荷瘤小鼠抑瘤率分别为29.88%、34.16%、37.59%^[21];板桥党参多糖低、中、高剂量(50、100、200 mg/kg)干预S180荷瘤小鼠抑瘤率分别为29.88%、34.16%、37.59%^[22],故推测多糖类物质为PCW发挥抗肿瘤作用的主要活性成分。根据植物提取物抗肿瘤作用靶点多的特点,推测PCW发挥抗肿瘤作用时可能有协同增效作用。

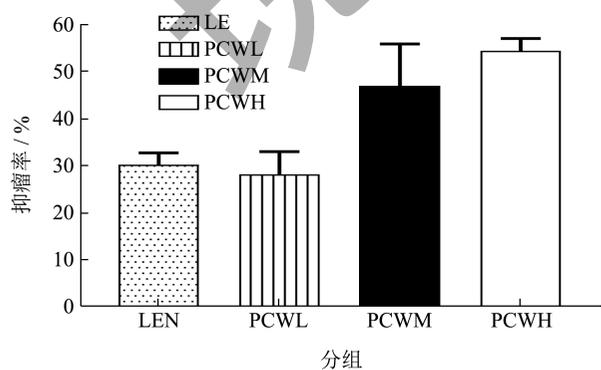


图2 小鼠抑瘤率

Fig.2 The tumor suppressor rate

2.3 胸腺指数与脾脏指数

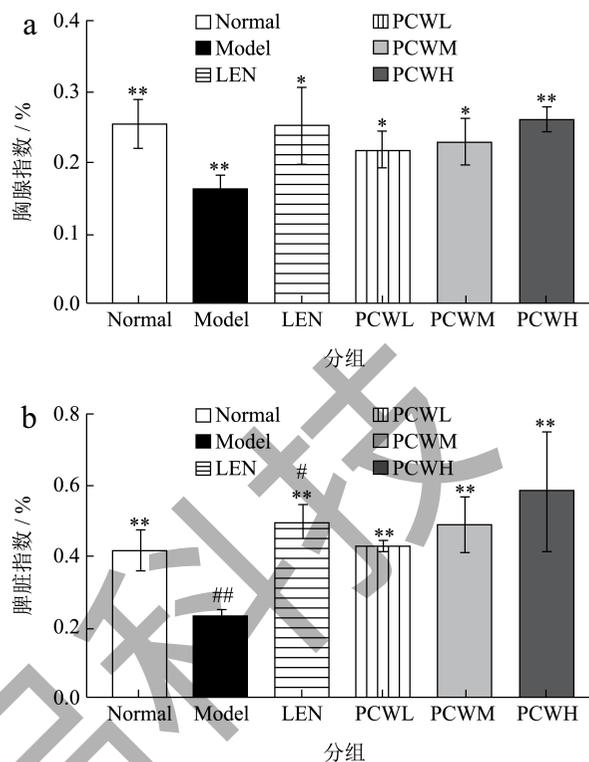


图3 胸腺指数和脾脏指数

Fig.3 Thymus index and spleen index

胸腺、脾脏等脏器指数的升高或降低变化直接反映小鼠机体的健康状况,脏器指数的非正常下降说明小鼠的脏器功能的衰退和免疫功能紊乱。试验小鼠的脏器指数结果如图3所示。模型对照组相较空白对照组胸腺指脾、脏指数数均极显著降低($P<0.01$),表明小鼠接种H22肿瘤细胞后,胸腺、脾脏明显萎缩,机体免疫功能紊乱。与模型对照组相比,PCW低、中、高剂量组和阳性对照组胸腺指数、脾脏指数均有不同程度的提高,且有显著性差异($P<0.05$),其中PCW低、中、高剂量组较模型组胸腺指数显著性提高($P<0.05$),表现出剂量效应关系,PCW低、中、高剂量组较模型组脾脏指数极显著性提高($P<0.01$),表现出剂量效应关系。值得注意的是PCW中、高剂量组小鼠脾脏指数超过了正常组小鼠,表明表明H22荷瘤小鼠经PCW干预后,不但使脾脏指数恢复到正常组小鼠水平,而且还可促进脾脏生长发育,使其结构功能更完善。张莘莘^[23]研究发现200 mg/kg黑灵芝多糖对S180荷瘤小鼠胸腺和脾脏的损伤不但有显著的恢复作用,而且还可促进胸腺和脾脏的发育,使胸腺和脾脏指数显著超过正常组小鼠水平。胸腺和脾

脏恢复最好的是 PCW 高剂量干预组 (200 mg/kg), 结果说明 PCW 对 H22 荷瘤小鼠脾脏、胸腺具有较好的保护作用。

2.4 肿瘤组织和肝脏HE染色结果

H22 荷瘤小鼠各组肿瘤组织切片结果如图 4 所示, 模型组肿瘤组织中的 H22 肝癌细胞排列密集, 生长旺盛, 细胞核大且清晰。而各干预组肿瘤组织的细胞生长受到明显抑制, 异核明显, 排列疏松无规则, 有大面积坏死区域, 细胞数量较模型组明显减少, 肿瘤 HE 染色图直观的反映了 H22 荷瘤小鼠各组的抗肿瘤效果, 其中抑瘤效果最好的是 PCW 高剂量组。五味子提取物干预高剂量组 (40 mg/kg) H22 荷瘤小鼠肿瘤组织 HE 染色结果显示, 大部分细胞膜损坏或融合, 形态不完整, 表明五味子提取物对肿瘤细胞可能伴有杀伤作用^[24], 这与 PCW 干预荷瘤小鼠肿瘤 HE 染色结果相似。

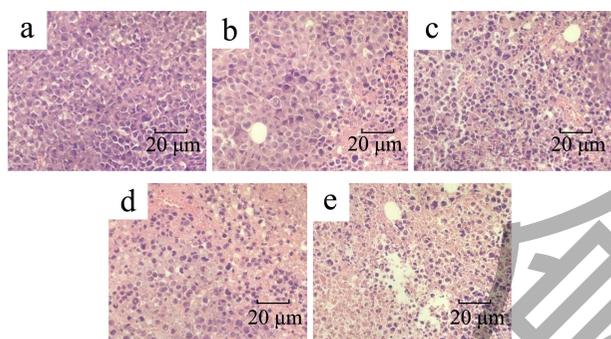


图 4 各组别 H22 荷瘤小鼠肿瘤组织病理形态图 (HE 染色, ×40)

Fig.4 Histopathological morphology pattern of H22 tumor-bearing mice in each group (HE staining, ×40)

注:(a) Model;(b) LEN;(c) PCWL;(d) PCWM;(e) PCWH。

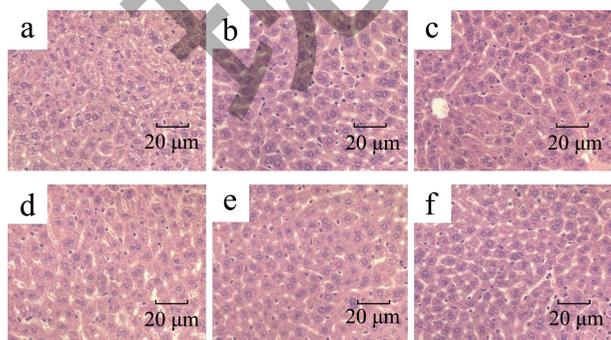


图 5 小鼠肝组织学改变 (HE 染色, ×40)

Fig.5 Histological changes of mouse liver (HE staining, ×40)

注:(a) Normal;(b) Model;(c) LEN;(d) PCWL;(e) PCWM;(f) PCWH。

各试验组小鼠肝脏切片结果如图 5 所示, 空白对照组、模型组、阳性对照组、PCW 干预组小鼠肝组织结构状态正常, 细胞核、细胞边界清晰排列有序, 未见组织破坏、细胞坏死、炎症细胞因子浸润等病理学改变, 肝脏 HE 染色结果表明 H22 肝癌细胞的生长增殖和 PCW 干预并未对小鼠肝脏产生显著影响。

2.5 H22荷瘤小鼠脾淋巴细胞增殖能力测定

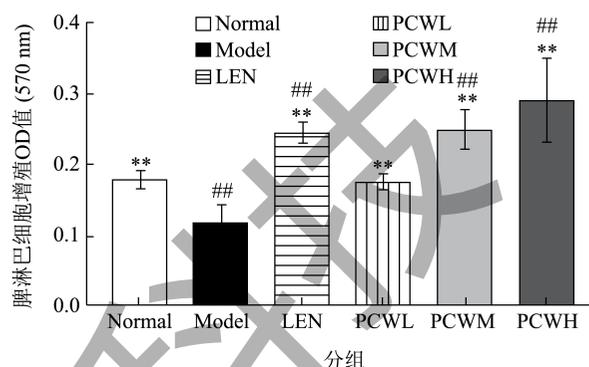


图 6 脾淋巴细胞增殖能力 Fig.6 Splenic lymphocytes OD

当 T 淋巴细胞受 ConA 刺激后发生母细胞增殖反应, 增殖细胞中的线粒体水解酶可将 MTT 分解为兰紫色结晶, 其光密度值能反映细胞的增殖情况^[25]。PCW 对小鼠脾淋巴细胞增殖的影响如图 6 所示, 与空白组相比, 模型对照组极显著抑制小鼠脾淋巴细胞的增殖 ($P < 0.01$), 说明小鼠建模后, 随着癌细胞不断生长增殖, 脾淋巴细胞增殖能力减弱, 而经 PCW 干预后, PCW 低、中、高剂量组相较于模型组均能极显著促进小鼠脾淋巴细胞的增殖 ($P < 0.01$)。脾淋巴细胞增殖能力趋势随 PCW 干预浓度的升高而增大, 两者之间呈良好的量效关系, 且高剂量 PCW (200 mg/kg) 干预的荷瘤小鼠脾淋巴细胞增殖能力最强。值得注意的是, PCW 中、高剂量组小鼠脾淋巴细胞增殖 OD 值均超过了正常组小鼠, 结合以往报道, 黑灵芝多糖低、中、高剂量 (50、100、200 mg/kg) 均能显著促进 S180 荷瘤小鼠脾淋巴细胞的增殖 ($P < 0.05$), 进而发挥抗肿瘤作用^[23]; 三种不同五味子炮制品低、中、高浓度 (50、100、200 mg/L) 均能促进小鼠脾淋巴细胞增殖, 使脾淋巴细胞增殖 OD 值高于正常组小鼠水平^[26], 说明 PCW 能有效促进脾淋巴细胞增殖并提高 H22 荷瘤小鼠抗肿瘤能力。

2.6 细胞因子含量检测

IL-6 和 TNF- α 均是生物体内参与机体免疫重要

的细胞因子,影响着肿瘤的生长、增殖、转移,直接或间接的发挥抗肿瘤作用^[27]。IL-6可促进T细胞增殖、T辅助细胞分化和T细胞介导的细胞毒性的发展^[28]。TNF- α 是直接参与巨噬细胞肿瘤细胞杀伤的最重要介质,可诱导程序性细胞死亡,同时使正常细胞不受损伤。TNF- α 一方面激活杀伤性细胞杀灭病原体和趋化炎症细胞产生炎症反应,另一方面反向调节Th1细胞,使其不断分化成熟进而分泌更多的细胞因子^[29]。IL-12又名自然杀伤细胞刺激因子,主要由巨噬细胞、B细胞产生,能促进T细胞和NK细胞的分化和增殖,IL-12细胞因子被认为是最有效的抗肿瘤细胞因子之一,在抗肿瘤方面发挥着重要作用^[30]。

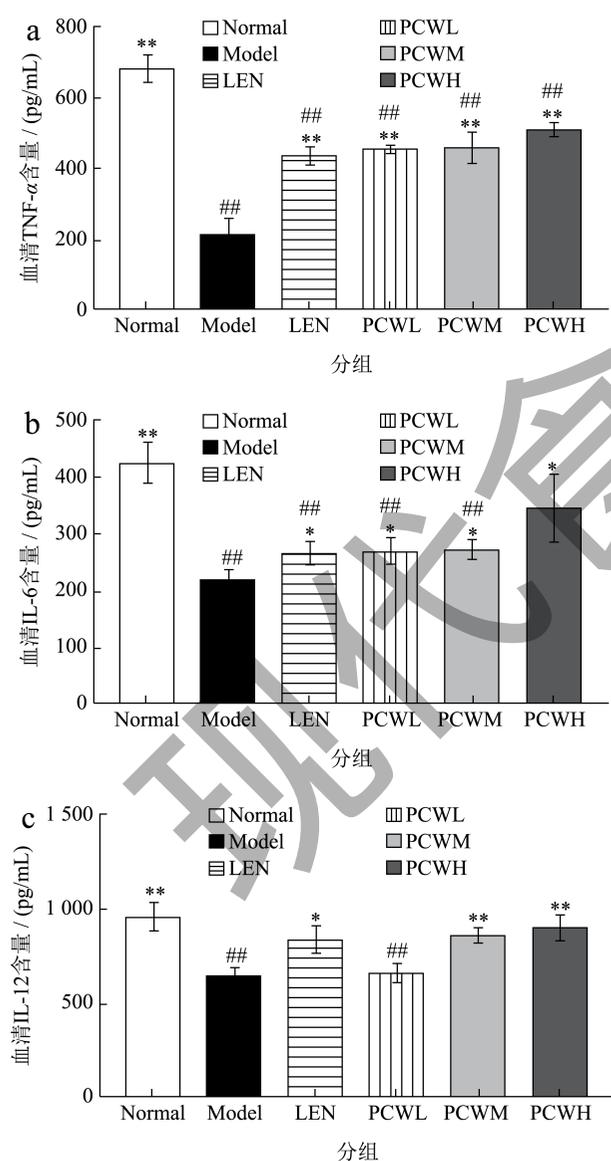


图7 小鼠血清肿瘤坏死因子和白细胞介素6

Fig.7 Mouse serum TNF- α and IL-6

ELISA结果如图7所示,模型组小鼠血清中TNF- α 和IL-6水平相较于空白组均极显著降低($P<0.01$),说明受癌细胞影响下,H22荷瘤小鼠体内细胞因子水平相对低下,免疫能力下降。相较于模型组,PCW低、中、高剂量组血清中TNF- α 水平极显著升高($P<0.01$)且呈剂量效应。经PCW干预后,PCW低、中、高剂量组小鼠血清中IL-6水平显著升高($P<0.05$)。TNF- α 分泌增加可导致肿瘤细胞相关蛋白失活,从而抑制肿瘤细胞的生长和促进肿瘤细胞凋亡^[31]。TNF- α 的分泌可有效促进相关免疫细胞分泌IL-6,进而协同促进细胞凋亡,可以减轻炎症,提高H22荷瘤小鼠的抗肿瘤能力^[32]。结果表明PCW可通过促进H22荷瘤小鼠体内IL-6和TNF- α 分泌发挥抗肿瘤作用,且高剂量PCW(200 mg/kg)干预下荷瘤小鼠的抗肿瘤作用最强。相较于空白组,模型组IL-12水平显著降低($P<0.05$)。经PCW干预后荷瘤小鼠IL-12水平有一定提高,呈剂量效应,PCW高剂量组IL-12水平相较模型组有显著提升($P<0.05$)。天然活性产物的干预可调节机体细胞因子分泌水平,进而促进机体免疫力的提升或抗肿瘤能力的发挥。灵芝水提取物干预可显著促进慢性支气管炎大鼠炎症因子IL-6和TNF- α 分泌($P<0.01$)^[33]。双连续型党参多糖纳米乳对免疫抑制小鼠血清IL-6、TNF- α 和IL-12的分泌有显著的促进作用($P<0.05$)^[34]。党参多糖干预可显著促进S180荷瘤小鼠外周血中IL-6和TNF- α 分泌,刺激免疫细胞增殖分化,增强抗肿瘤作用^[35]。结合已报道文献,推测PCW可能通过促进免疫细胞分泌细胞因子发挥抗肿瘤作用。其中三种细胞因子提升最显著的是PCW高剂量组小鼠。

3 结论

小鼠体内试验表明,PCW低、中、高剂量组(50、100、200 mg/kg)对H22荷瘤小鼠抑瘤率分别为27.95%、46.72%、54.23%,根据中草药抗肿瘤有效性的标准(抑瘤率 $>30\%$),说明PCW有较好的抗肿瘤活性;脾脏和胸腺是反映生物体健康状态的重要免疫器官,PCW低、中、高剂量可显著提升H22荷瘤小鼠的胸腺指数和脾脏指数($P<0.05$),表明PCW可有效恢复脾脏和胸腺质量,进而发挥抗肿瘤作用;脾淋巴细胞是参与体内细胞免疫功能的重要组成部分,低、中、高剂量PCW能通过显著促进小鼠脾淋巴细胞的增殖($P<0.01$),发挥预

防和控制肿瘤细胞增殖作用; PCW 高剂量可有效促进 H22 荷瘤小鼠的免疫细胞分泌 IL-6、TNF- α 和 IL-12 ($P < 0.05$), 使三种细胞因子指标趋于正常, 推测 PCW 可促进免疫细胞因子的分泌, 使其直接或间接参与抑制肿瘤的生长增殖。

以上试验结果表明 PCW 可能通过提升脾淋巴细胞增殖能力和调节细胞因子水平发挥抑瘤活性, 低、中、高三个剂量相比, PCW 高剂量组具有更强的抗肿瘤活性。结合已报道文献, PCW 富含的多糖类物质为抗肿瘤活性发挥的关键成分, 根据天然产物抗肿瘤作用靶点、通路众多的特点, 推测 PCW 发挥抑瘤活性时呈现协同增效作用, 但 PCW 的关键活性成分还需要进一步明确, 其具体的体内抗肿瘤机制将是下一步的研究重点。本试验可为 PCW 后续的生产应用和标准建立提供理论支撑和科学依据。

参考文献

- [1] SOHRETOGLU D, HUANG S. *Ganoderma lucidum* polysaccharides as an anti-cancer agent [J]. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 2018, 18(5): 667-674.
- [2] 叶春林, KHUDOYBERDIEV Ilkhomjon, 陈颖, 等. 菟丝子多糖的抗氧化活性和抑制肿瘤细胞增殖的研究[J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2020, 41(5): 73-78.
- [3] 甘露. 五味子多糖对肝癌小鼠肿瘤生长及免疫功能的调节作用[J]. *免疫学杂志*, 2013, 29(10): 867-870.
- [4] 吴红梅, 苟于强, 胡林海, 等. 纹党多糖联合环磷酰胺对 S180 荷瘤小鼠抗肿瘤增效机制的研究[J]. *西部中医药*, 2016, 29(4): 17-21.
- [5] WANG K, ZHANG Q, LIU Y, et al. Structure and inducing tumor cell apoptosis activity of polysaccharides isolated from *Lentinus edodes* [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(41): 9849-9858.
- [6] ZHANG Y, LI Q, SHU Y, et al. Induction of apoptosis in S180 tumour bearing mice by polysaccharide from *Lentinus edodes* via mitochondria apoptotic pathway [J]. *Journal of Functional Foods*, 2015, 15: 151-159.
- [7] LI W, WANG J, HU H, et al. Functional polysaccharide Lentinan suppresses human breast cancer growth via inducing autophagy and caspase-7-mediated apoptosis [J]. *Journal of Functional Foods*, 2018, 45: 75-85.
- [8] 张玉, 张琪琳, 王静林, 等. 香菇多糖构效关系、抗肿瘤作用机制及药代动力学研究进展[J]. *中国医院药学杂志*, 2023, 43(7): 804-812.
- [9] 刘宗超, 李哲轩, 张阳, 等. 2020 全球癌症统计报告解读[J]. *肿瘤综合治疗电子杂志*, 2021, 7(2): 1-14.
- [10] 龚继勇. 当归补血口服液对肿瘤放疗的增效作用研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2015.
- [11] 刘勇, 姚妮, 张红, 等. 芪灵益肝煎对小鼠 H22 肝癌细胞 CDK4 表达的影响[J]. *河南中医*, 2012, 32(6): 706-708.
- [12] 杨庆敏, 王宪庆, 赵艳, 等. 复方灵芝胶囊的抗肿瘤作用研究[J]. *中国药房*, 2012, 23(11): 982-984.
- [13] 孙丽红. 参灵合剂对 H22 肝癌小鼠抑瘤及免疫调节的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2012, 19(7): 44-46.
- [14] 董媛. 扶正抗癌方对 H22 腹水型瘤株移植瘤小鼠 CyclinD1 和 Caspase-3 表达影响的实验研究[D]. 咸阳市: 陕西中医学院, 2011.
- [15] 贾丽君, 单煜, 戴伟, 等. 参芪五味子颗粒对肝癌荷瘤小鼠免疫抑制调节的影响[J]. *右江医学*, 2022, 50(9): 647-652.
- [16] 李耿, 梁月亮, 张健润, 等. 硫酸苯酚法测定燕窝及常见伪品中多糖含量[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2014, 12(15): 148-149.
- [17] 张琪琳. 香菇多糖的结构鉴定及抗肿瘤作用机制研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2015.
- [18] 田明, 杜锐, 王茜, 等. 国外保健食品类似产品功能声称管理及对我国食品声称管理的启示[J]. *中国食品学报*, 2022, 22(12): 399-404.
- [19] 廖子君, 南克俊, 韩军, 等. 现代肿瘤治疗药理学[M]. 西安: 世界图书出版西安公司, 2002.
- [20] ZHU J, XU J, JIANG L L, et al. Improved antitumor activity of cisplatin combined with *Ganoderma lucidum* polysaccharides in U14 cervical carcinoma-bearing mice [J]. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 2019, 35(4): 222-229.
- [21] 陈雯. 活性指导下中药五味子抗肿瘤有效部位的提取、分离及其抑瘤作用机制研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2012.
- [22] 杨瑾, 刘杰书, 袁德培. 板桥党参多糖体内抗肿瘤活性实验研究[J]. *中国处方药*, 2014, 12(3): 25-26.
- [23] 张莘莘. 黑灵芝多糖的抗肿瘤活性及其分子机制初探[D]. 南昌: 南昌大学, 2014.
- [24] 王艳杰, 李冀, 周迎春, 等. 五味子多糖对 H22 荷瘤小鼠肿瘤组织病理结构及总蛋白质组的影响[J]. *中医药导报*, 2016, 22(7): 17-20.
- [25] 谭建蓉, 李文桂, 覃婷. 日本血吸虫重组 Bb(pGEX-Sj32) 疫苗诱导 BALB/c 鼠脾细胞增殖、亚群及细胞因子的动态变化[J]. *南方医科大学学报*, 2015, 35(2): 202-207.
- [26] 徐月, 葛会奇, 高慧, 等. 五味子不同炮制品对小鼠脾淋巴细胞增殖的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(14): 116-119.

- [27] DURAIRAJ H, STEURY M D, PARAMESWARAN N. Paroxetine differentially modulates LPS-induced TNF- α and IL-6 production in mouse macrophages [J]. *International Immunopharmacology*, 2015, 25(2): 485-492.
- [28] BRADDOCK M, QUINN A. Targeting IL-1 in inflammatory disease: new opportunities for therapeutic intervention [J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2004, 3(4): 330-340.
- [29] LEE S H, SEO D I, KIM H S, et al. Regulation of TNF- α , Akt and COX-2 by resveratrol in MCF-7 breast cancer cells [J]. *Journal of Cancer Prevention*, 2012, 17(2): 121-127
- [30] HERNANDEZ-ALCOCEBA R, POUTOU J, BALLESTEROS-BRIONES M C, et al. Gene therapy approaches against cancer using *in vivo* and *ex vivo* gene transfer of interleukin-12 [J]. *Immunotherapy*, 2016, 8(2): 179-198.
- [31] 雷一鸣,杨逸冬,谭嗣伟,等.TNF- α 通过内质网应激信号通路诱导肝癌细胞自噬并促进增殖的研究[J].*新医学*,2017,48(11):770-774.
- [32] 钱丽丽,闫秀明,张慧,等.*miR-370*靶向*FoxO1*抑制TNF- α 诱导的肝癌细胞增殖、迁移和侵袭[J].*中国老年学杂志*,2020,40(9):1957-1961.
- [33] 张凯歌,张燕子,孙航,等.灵芝水提物对慢性支气管炎大鼠的保护作用及对TLRs通路的影响[J].*临床和实验医学杂志*,2022,21(20):2133-2137.
- [34] 时菲菲,王姐姐,曹金花,等.双连续型党参多糖纳米乳对免疫抑制小鼠的免疫调节作用[J].*动物营养学报*,2020, 32(12):5925-5931.
- [35] 吴红梅,苟于强,胡林海,等.纹党参多糖联合环磷酰胺对S180荷瘤小鼠抗肿瘤增效机制的研究[J].*西部中医药*, 2016,29(4):17-21.