

• 论 著 •

黄芪多糖对小鼠 S180 肉瘤的抑制作用及其机制研究*

张 炜¹, 华 翔², 李竹莲³

(1. 井冈山大学附属医院药剂科, 江西 吉安 343000; 2. 乐平市人民医院药剂科, 江西 景德镇 333300;

3. 新干县人民医院药剂科, 江西 吉安 331300)

[摘 要] 目的 探讨黄芪多糖(APS)对小鼠 S180 肉瘤的抑制作用及其机制。方法 选取 50 只小鼠, 建立小鼠 S180 肉瘤小鼠模型, 将小鼠随机分为对照组、卡铂组、APS 高剂量组(100 mg/kg)、APS 中剂量组(80 mg/kg)、APS 低剂量组(40 mg/kg), 每组 10 只。比较各组肉瘤重量、肉瘤体积、抑瘤率、脾指数、胸腺指数, 以及肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、干扰素 γ (IFN- γ)、白细胞介素(IL)-2、IL-6 水平。结果 APS 高剂量组、APS 中剂量组、卡铂组肉瘤重量、体积小于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。APS 高剂量组肉瘤重量、体积与 APS 低剂量组比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。APS 高剂量组、APS 中剂量组、APS 低剂量组、卡铂组抑瘤率分别为 50.32%、48.22%、35.69%、73.52%, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。卡铂组脾、胸腺指数低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。不同 APS 剂量组脾、胸腺指数与对照组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。APS 高剂量组、APS 中剂量组 TNF- α 、IFN- γ 、IL-2、IL-6 水平与对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。APS 高剂量组 IL-2、IL-6 水平与 APS 低剂量组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 APS 具有抗 S180 肉瘤活性, 且不损害免疫功能, 其抗肿瘤机制可能与调控细胞因子水平有关。

[关键词] 黄芪多糖; 细胞因子; 免疫功能

DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2023.06.004

中图法分类号:R967

文章编号:1009-5519(2023)06-0917-04

文献标识码:A

Inhibitory effect of astragalus polysaccharide on S180 sarcoma in mice and its mechanism*

ZHANG Wei¹, HUA Xiang², Li Zhulian³

(1. Department of Pharmacy, Affiliated Hospital of Jinggangshan University, Ji'an, Jiangxi 343000, China; 2. Department of Pharmacy, LePing People's Hospital, Jingdezhen, Jiangxi 333300, China; 3. Department of Pharmacy, Xingan People's Hospital, Ji'an, Jiangxi 331300, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the inhibitory effect of astragalus polysaccharide(APS) on S180 sarcoma in mice and its mechanism. **Methods** 50 mice were selected to establish the S180 sarcoma mouse model. The mice were randomly divided into the control group, the carboplatin group, the APS high-dose group(100 mg/kg), APS middle-dose group(80 mg/kg) and the APS low-dose group(40 mg/kg), with 10 mice in each group. The sarcoma weight, sarcoma volume, inhibition rate, spleen index, thymus index and the levels of tumor necrosis factor α (TNF- α), interferon γ (IFN- γ), interleukin(IL)-2 and IL-6 in each group were compared. **Results** The weight and volume of sarcoma in the APS high-dose group, the APS middle-dose group and the carboplatin group were smaller than those in the control group, and the differences were statistically significant($P < 0.01$). The weight and volume of sarcoma in the APS high-dose group were significantly different from those in the APS low-dose group($P < 0.01$). The inhibition rates of the APS high-dose group, the APS middle-dose group, the APS low-dose group and the carboplatin group were 50.32%, 48.22%, 35.69% and 73.52% respectively, with significant differences($P < 0.05$). The indexes of spleen and thymus in the carboplatin group were lower than those in the control group, and the differences were statistically significant($P < 0.01$). There were no significant differences in the spleen and thymus indexes among the different APS dose groups and the control group($P > 0.05$). The levels of TNF- α , IFN- γ , IL-2 and IL-6 in the APS high-dose group and the APS middle-dose group were significantly different from those in the control group

* 基金项目:江西省中医药管理局科技项目(2021B128)。

作者简介:张炜(1976—),硕士研究生,主管药师,主要从事药理学研究。

($P < 0.05$). The levels of IL-2 and IL-6 in the APS high-dose group were significantly different from those in the APS low-dose group ($P < 0.05$). **Conclusion** APS has anti-S180 sarcoma activity and does not damage immune function. Its anti-tumor mechanism may be related to the regulation of cytokines level.

[Key words] Astragalus polysaccharide; Cytokines; Immune function

肉瘤是来源于人体间叶组织的恶性肿瘤,其特征是生长迅速、临床表现多样、患者生存期短。肉瘤的发病机制至今尚未完全阐明,其治疗方法局限于放疗、化疗及手术切除,其中放疗、化疗疗效欠佳且不良反应较多,手术切除易复发。因此,迫切需要寻找疗效较好、不良反应较少的新药物。在肉瘤生长过程中,细胞因子水平可能会提高或降低,对其发生、发展及转归具有重要影响,这对揭示疾病进展、预后具有重要参考价值。目前,被认为与肿瘤密切相关且有代表性的细胞因子有肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、干扰素 γ (IFN- γ)、白细胞介素 (IL)-2、IL-6 等。石琳等^[1]研究发现,骨肉瘤患者血清 TNF- α 、IFN- γ 、IL-2 可作为药物治疗效果的重要参考指标,并可用于指导选药方案。

黄芪多糖 (APS) 是中药黄芪的主要活性成分之一,具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等作用。杨伟等^[2]研究发现,APS 对多种肿瘤有抗肿瘤作用。张慧蓉等^[3]研究发现,APS 具备抑制肝癌肿瘤细胞作用。刘艳玲等^[4]研究发现,APS 对肺癌细胞有抑制作用。关于 APS 抗肿瘤的作用机制,目前研究倾向于 APS 通过调控细胞因子参与了肿瘤演进过程^[5]。石丽霞等^[6]研究发现,APS 具有双向抗肿瘤作用。许晓峰等^[7]研究发现,黄芪制剂能降低 S180 荷瘤小鼠 TNF- α 、IL-1 水平。徐袁秋等^[8]研究发现,提高 IFN- γ 水平能使骨肉瘤细胞增殖受限。本研究通过构建 S180 肉瘤小鼠模型,以测量肉瘤生长、观察多种细胞因子水平为切入点,探讨了 APS 对 S180 肉瘤的作用机制。

1 材料与方法

1.1 主要材料 小鼠肉瘤细胞株 S180 由中科院细胞库提供。健康昆明种近交系小鼠 50 只,雌雄各半,每只 18~25 g,由江西中医药大学动物实验中心提供(许可证号: SXCK 赣 2011-0001)。本研究符合本院动物伦理委员会要求并审核通过(审批号: 20210027)。

1.2 主要仪器与试剂 APS 由西南医科大学药物研究所提供(批号: 2021A019); 使用前以生理盐水配制并稀释; 卡铂注射液(齐鲁制药有限公司,批号: BB1J1042); 小鼠 TNF- α 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 试剂盒(批号: 210519)、小鼠 IFN- γ ELISA 试剂盒(批号: 210825)均购自上海贝西科技发展有限公司,小鼠 IL-2(批号: 2101F)、IL-6 ELISA 试剂盒(批号:

2106M)均购自江苏菲亚生物科技有限公司。酶标仪(南京贝登医疗股份有限公司,型号: MR-96T); 电子天平(浙江慈溪市天东衡器厂); 离心机(北京博瑞祥腾科技有限公司,型号: 5805); CO₂ 恒温培养箱(日本三洋公司,型号: HNA-122DTABA-I)。

1.3 方法

1.3.1 建模及分组 选取无菌条件下传代第 7 天的健康小鼠,腹部皮肤消毒后,注射器抽取腹水,用生理盐水稀释为 5×10^6 /mL 的单细胞悬液,3 500 r/min 离心 10 min,弃上清液,用生理盐水稀释为 1×10^{10} /L,每只小鼠右侧腋部皮下偏背侧接种 0.2 mL,以形成实体瘤。次日将小鼠随机分为 5 组,每组 10 只,分别为对照组(等体积生理盐水灌胃)、卡铂组(注射卡铂 1 mg/kg)、APS 高剂量组(100 mg/kg)、APS 中剂量组(80 mg/kg)、APS 低剂量组(40 mg/kg)。高、中、低剂量根据 1/5、1/10、1/20 半数致死量设定。卡铂组为腹腔注射给药,其余组均为灌胃给药,每天 1 次,连续给药 10 d。参考文献[9],对照组中 20% 小鼠肉瘤小于 400 mg 或平均重量小于 1 mg,均为肉瘤生长不良的表现。本研究无上述情况,造模成功。末次给药 24 h 后脱颈椎处死小鼠,摘除眼球取血,收集血液,放置 4 h 后离心,取血清于 -20 °C 条件下保存备用,取瘤体、脾脏、胸腺待测。

1.3.2 小鼠肉瘤重量、体积及抑瘤率检测 游标卡尺测量小鼠瘤体长、短径,计算体重差(结束体重 - 开始体重),计算瘤体体积。相关计算公式: 瘤体体积 = 长径 $\times$ 短径²; 抑瘤率 = [(对照组平均瘤体重量 - 实验组平均瘤体重量) / 对照组平均瘤体重量] $\times$ 100%。

1.3.3 小鼠脾、胸腺指数统计 称量小鼠脾、胸腺重量,计算脾、胸腺指数,计算公式: 器官指数 = [器官重量(mg) / 体重(g)] $\times$ 10。

1.3.4 采用 ELISA 法测量小鼠血清细胞因子水平 取 1.4.1 中制备的血清,平衡至室温,按照 ELISA 试剂盒说明书步骤进行操作,测定细胞因子 TNF- α 、IFN- γ 、IL-2、IL-6 水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS21.0 统计软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组肉瘤重量、体积及抑瘤率比较 APS 能抑

制小鼠 S180 肉瘤的生长(图 1、2)。APS 高剂量组、APS 中剂量组、卡铂组肉瘤重量、体积小于对照组,差异有统计学意义($P<0.01$)。APS 高剂量组肉瘤重量、体积与 APS 低剂量组比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。见表 1。APS 高剂量组、APS 中剂量组、APS 低剂量组、卡铂组抑瘤率分别为 50.32%、48.22%、35.69%、73.52%,差异有统计学意义($P<0.05$)。



注:A. 对照组,B. 卡铂组;1. 裸鼠,2. 瘤体。

图 1 对照组与卡铂组 S180 肉瘤小鼠模型

表 1 各组肉瘤重量、体积比较($\bar{x}\pm s$)			
组别	<i>n</i>	肉瘤重量(g)	肉瘤体积(cm^3)
对照组	10	1.65±0.64	5.29±1.08
卡铂组	10	0.41±0.16 ^a	3.61±0.86 ^a
APS 高剂量组	10	0.76±0.29 ^a	3.80±0.96 ^a
APS 中剂量组	10	0.85±0.31 ^a	4.25±1.10 ^a
APS 低剂量组	10	1.08±0.36 ^b	4.70±1.32 ^b

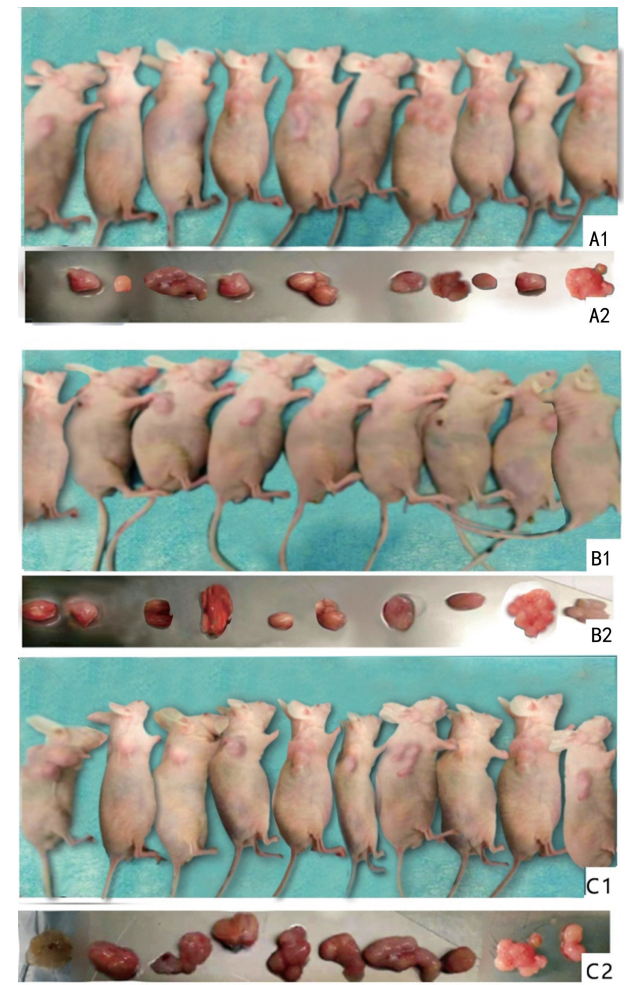
注:与对照组比较,^a $P<0.01$;与 APS 高剂量组比较,^b $P<0.01$ 。

2.2 各组脾、胸腺指数比较 卡铂组脾、胸腺指数低于对照组,差异有统计学意义($P<0.01$)。不同 APS 剂量组脾、胸腺指数与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。APS 高剂量组脾、胸腺指数与 APS 低剂量组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.3 各组细胞因子水平比较 APS 高剂量组、APS 中剂量组 TNF- α 、IFN- γ 、IL-2、IL-6 水平与对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。卡铂组 TNF- α 、IL-2、IL-6 水平与对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。APS 高剂量组 IL-2、IL-6 水平与 APS 低剂量组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 2 各组脾、胸腺指数比较($\bar{x}\pm s$,mg/g)			
组别	<i>n</i>	脾指数	胸腺指数
对照组	10	65.25±10.80	23.28±3.64
卡铂组	10	30.86±4.28 ^a	9.91±1.69 ^a
APS 高剂量组	10	62.72±0.69	21.02±0.66
APS 中剂量组	10	64.05±0.51	21.55±0.57
APS 低剂量组	10	65.31±0.40 ^b	23.35±0.52 ^b

注:与对照组比较,^a $P<0.01$;与 APS 高剂量组比较,^b $P<0.05$ 。



注:A. APS 高剂量组,B. APS 中剂量组,C. APS 低剂量组;1. 裸鼠,2. 瘤体。

图 2 不同 APS 剂量组 S180 肉瘤小鼠模型

表 3 各组细胞因子水平比较($\bar{x}\pm s$,pg/mL)					
组别	<i>n</i>	TNF- α	IFN- γ	IL-2	IL-6
对照组	10	26.40±4.56	24.02±2.96	12.86±2.48	27.85±4.02
卡铂组	10	13.32±2.08 ^a	8.06±1.05	4.89±0.75 ^a	8.23±1.50 ^a
APS 高剂量组	10	18.22±2.26 ^a	30.64±3.08 ^a	7.47±1.22 ^a	15.42±2.30 ^a
APS 中剂量组	10	20.01±3.18 ^a	26.54±3.05 ^a	8.84±1.80 ^a	18.21±2.75 ^a
APS 低剂量组	10	25.85±3.22	24.30±2.94	12.20±1.92 ^b	26.90±3.02 ^b

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与 APS 高剂量组比较,^b $P<0.05$ 。

3 讨 论

肉瘤是一类较为常见的恶性肿瘤。目前,抗肉瘤

药物主要是各种化疗药物,其对肉瘤疗效不佳,且不良反应众多^[10],患者依从性难以提高,由此治疗效果偏差、治疗失败的情况极为常见。从中药宝库中挖掘、寻找开发难度低、毒性反应低、抗肿瘤活性高的药物成为部分学者的研究目标。APS 来源于中药材黄芪,是一种较为易得、成本较低的大分子化合物。近年来,有研究提示 APS 可提高免疫应答水平,具备一定抗肿瘤活性^[11-13]。

APS 是植物黄芪的主要活性成分,可有效增强细胞活性,维持细胞正常结构,改善机体免疫功能,同时还可增强机体抑制肿瘤发生、进展的能力,表现出多重抗肿瘤作用^[14]。本研究结果显示,APS 高剂量组、APS 中剂量组、卡铂组肉瘤重量、体积显著小于对照组,且 APS 高剂量组肉瘤重量、体积与 APS 低剂量组存在显著差异。提示 APS 在抑制肉瘤生长方面有显著效果,且呈现一定量效关系。本研究结果显示,各 APS 剂量组抑瘤率低于卡铂组,但不同 APS 剂量组脾、胸腺指数与对照组无显著差异。提示 APS 不仅可抑制肉瘤生长,而且不会损害免疫功能。

APS 在抑制肉瘤组织、细胞生长的同时影响多种细胞因子水平,提示 APS 通过调节机体免疫功能,从而限制肉瘤细胞、组织生长^[15-16]。有研究表明,在判断肿瘤生长严重程度时,TNF- α 、IFN- γ 、IL-2、IL-6 水平具有重要意义和参考价值^[17]。其中,IFN- γ 是一种水溶性二聚体细胞因子,具有抗肿瘤、免疫调节等作用,其水平高低与机体免疫功能呈正相关。TNF- α 是一类具有生物活性的炎性因子,可促进机体内 IL-2、IL-6 等促炎因子的分泌及氧自由基等趋化因子的释放,增强体内炎症及氧化应激反应程度,其所介导的炎性反应可导致组织溶解、水解、破溃等。TNF- α 水平的高低与患者病情严重程度呈正相关^[18]。另外,IL-2、IL-6 的异常分泌会破坏机体相对平衡的细胞因子网络,造成炎性因子损伤^[19-20]。本研究结果显示,APS 高剂量组、APS 中剂量组 TNF- α 、IFN- γ 、IL-2、IL-6 水平与对照组有显著差异。提示 APS 可改善肉瘤小鼠的免疫功能,其机制可能与减少炎性因子释放进而减弱炎性反应程度有关。APS 可能通过上调 IFN- γ 水平,起到抑制肉瘤生长作用;同时通过下调 TNF- α 、IL-2、IL-6 水平,起到维护机体细胞因子内环境稳态、促进机体自我恢复的作用。本研究结果显示,APS 高剂量组 IL-2、IL-6 水平显著低于 APS 低剂量组。提示较高剂量 APS 能更好地调控免疫功能,影响肉瘤生长。

综上所述,APS 具有抗 S180 肉瘤活性,且不损害免疫功能,其抗肉瘤机制可能与调控细胞因子水平有

关。APS 作为一种疗效较好、来源易得、成本较低、安全性好的抗肉瘤活性成分,值得进一步研究。

参考文献

- [1] 石琳,沙如拉,李文新,等. 异环磷酰胺联合左旋咪唑治疗对骨肉瘤患者的有效性及血清 IL-2、TNF- α 、IFN- γ 水平的影响[J]. 国际检验医学杂志,2020,22(1):2784-2787.
- [2] 杨伟,秦娟,等. 黄芪多糖在肿瘤治疗中的作用机制研究进展[J]. 临床医学进展,2021,11(2):5353-5357.
- [3] 张慧蓉,钱敏,李萌,等. 黄芪多糖通过线粒体自噬抑制肝癌肿瘤细胞[J]. 西北药学杂志,2021,3(1):426-429.
- [4] 刘艳玲,袁娟,郭敏,等. 基于 TLR-4/MyD88/NF- κ B 信号通路探讨黄芪多糖对肺癌小鼠免疫功能的影响及对 Th1/Th2 的调节作用[J]. 中国免疫学杂志,2021,2(6):676-682.
- [5] 黄宏思,黄衍强,韦鹏涯,等. 黄芪多糖协同紫杉醇对肿瘤细胞的杀伤作用[J]. 右江民族医学院学报,2020,3(1):3-5.
- [6] 石丽霞,李柯,秦雪梅,等. 黄芪多糖双向抗肿瘤作用机制的研究进展[J]. 山西中医药大学学报,2021,22(2):145-149.
- [7] 许晓峰,林斌,王沛坚,等. 黄芪桂枝五物汤对 AA 大鼠血清 IL-1 β 、TNF- α 的影响[J]. 现代生物医学进展,2017,8(4):1202-1204.
- [8] 徐袁秋,刘思源,张卫华,等. 骨肉瘤常用化疗药物作用的分子机制及用药方法选择[J]. 河北医药,2015,14(6):2100-2103.
- [9] 夏小军,雷旭东,段斌,等. 扶金化积丸对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠的抑瘤作用及机制[J]. 中成药,2022,44(1):67-71.
- [10] 王凯,王娜,刘京升,等. 不同新辅助化疗方案治疗骨肉瘤的近期疗效对比[J]. 癌症进展,2021,12(1):1257-1260.
- [11] 郑学芝,李佳,王志刚,等. 黄芪多糖对 CO-LO205 人结肠癌细胞株抑制作用研究[J]. 中国食物与营养,2012,18(8):68-70.
- [12] 胡妮娜,张晓娟,赵闯,等. 黄芪的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药信息,2021,38(1):76-82.
- [13] 吕琴,赵文晓,孔祥琳,等. 黄芪活血功效及现代药理学研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(9):215-224.

(下转第 923 页)

多久实施手术有益,临床学者各有说法。多数学者认为,老年髌部骨折患者应在骨折后尽早进行手术治疗,开始手术治疗的时间越早,患者从手术中获益越大^[5-6]。多数老年患者需要等会诊评估慢性疾病或相关检验指标正常后才考虑手术治疗,无法在伤后 48 h 内进行手术治疗,甚至有部分患者在术前等待的过程中出现并发症加重,导致等待时间进一步延迟,延误手术时机。张长青等^[7]研究认为,应注意协同相关科室的力量,做好急诊评估与准入、麻醉会诊与准备、术后监护和康复 3 方面工作,整合相关医疗资源及力量,优化诊治流程,使老年髌部骨折患者能尽早得到手术治疗。

综上所述,采用绿色通道结合多学科协作诊疗模式治疗老年髌部骨折,可尽快评估患者术前状况,缩短术前等待时间和住院时间,降低患者围手术期病死率和术后并发症发生率,且符合加速康复外科理念,值得临床推广应用。

参考文献

- [1] WANG Z, XIAO J, ZHANG Z, et al. Chronic kidney disease can increase the risk of preoperative deep vein thrombosis in middle-aged and elderly patients with hip fractures[J]. Clin Interv Aging, 2018, 13: 1669.
- [2] TIAN F M, ZHANG L, ZHAO H Y, et al. An increase in the incidence of hip fractures in Tangshan, China[J]. Osteoporos Int, 2014, 25 (4): 1321.
- [3] 井鸿雁, 赵文波, 李晓薇. 老年髌骨骨折患者多学科协作模式的应用研究进展[J]. 长春中医药大学学报, 2020, 8(6): 96-98.
- [4] 魏滨, 张利萍, 郭向阳. 老年髌部骨折患者的绿色通道建设[J]. 中华老年医学杂志, 2019, 7(8): 150-152.
- [5] 王颖, 贺艳茹, 石敬, 等. 急诊绿色通道在老年髌部骨折救治中的作用[J]. 中国急救医学, 2020, 4 (9): 288-290.
- [6] 王剑, 孙新立, 朱亚斌. 老年髌部骨折手术治疗绿色通道的短期有效性[J]. 中华创伤骨科杂志, 2018, 12(7): 581.
- [7] 张长青, 张伟. 我国老年髌部骨折绿色通道建设的现实意义[J]. 中华创伤骨科杂志, 2014, 30 (3): 196-198.
- [8] (收稿日期: 2022-05-04 修回日期: 2022-12-26)
- [9] (上接第 920 页)
- [14] 董天雄, 余壮明, 刘洪, 等. 黄芪多糖对慢性萎缩性胃炎大鼠蛋白酪氨酸激酶 1/信号转导子与激活子 3 信号传导通路的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(22): 3764-3768.
- [15] RAPHAELI, NALAWADES, EAGAR T N, et al. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases[J]. Cytokine, 2015, 74(1): 5-17.
- [16] WU K, ZHANG H, FU Y, et al. TLR4/MyD88 signaling determines the metastatic potential of breast cancer cells[J]. MolMed Rep, 2018, 18 (3): 3411-3420.
- [17] YE M, CHEN H, ZHOU R, et al. Effects of astragalus polysaccharide on proliferation and Akt phosphorylation of the basal-like breast cancer cell line[J]. J Chin Integ Med, 2011, 9 (12): 1339-1346.
- [18] DING Y F, PENG Z X, DING L, et al. Baishouwu extract suppresses the development of hepatocellular carcinoma via TLR4/MyD88/NF- κ B pathway[J]. Front Pharmacol, 2019, 10: 389-395.
- [19] KAEMMERER D, SCHINDLER R, MUBACH F, et al. Somatostatin and CXCR4 chemokine receptor expression in hepatocellular and cholangiocellular carcinomas: Tumor capillaries as promising targets[J]. BMC Cancer, 2017, 17 (1): 896-901.
- [20] 张育光, 吴声振, 刘远亮, 等. 姜黄素对 S180 肉瘤小鼠的抗肿瘤作用及对血清 IL-2 和 IL-12 水平影响的研究[J]. 今日药学, 2021, 21(12): 736-738.
- [21] (收稿日期: 2022-06-21 修回日期: 2022-12-31)