

板蓝根多糖体内抗肿瘤作用与免疫功能调节实验研究

李吉萍^{1*}, 朱冠华², 袁野³, 刘墨祥¹

¹扬州大学医学院药理学系, 扬州 225001; ²上海市第一人民医院 临床药学科, 上海 200080;

³雅安职业技术学院药学检验系, 雅安 625000

摘要: 本研究主要探讨板蓝根多糖(RIP)对荷瘤小鼠的抗肿瘤作用及其对免疫功能的影响。通过建立 S_{180} 小鼠移植瘤和腹水瘤模型,以环磷酰胺(CTX)为阳性对照药,观察RIP对其的影响。连续给药12 d后,测定移植瘤小鼠的瘤重,计算肿瘤生长抑制率和胸腺、脾脏指数;检测脾淋巴细胞的转化功能和NK细胞杀伤活性以及血清中的TNF- α 、INF- γ 、IL-2水平;并对肿瘤组织进行HE染色和细胞周期分析;对进行相同给药周期的腹水瘤小鼠继续正常饲养,记录各组小鼠自然死亡的时间。结果显示,不同剂量的RIP均可明显抑制小鼠肿瘤的生长,其100 mg/kg和50 mg/kg剂量组的抑瘤率分别为35.4%、38.5%;各剂量组移植瘤小鼠胸腺指数和脾指数与对照组比较有所提高,还能刺激脾淋巴细胞的转化及增强NK细胞的杀伤活性,升高血清中TNF- α 、INF- γ 和IL-2的含量,其50 mg/kg组与模型对照组相比有统计学差异($P < 0.01$)。此外,移植瘤组织HE染色观察可见各给药组肿瘤组织坏死面积呈不同比例增大,流式细胞仪检测出给药后 G_0/G_1 期细胞比例增加,S期细胞比例降低, G_2/M 期细胞周期未见明显变化。由此提示,RIP能够增强荷瘤小鼠的免疫功能,对荷瘤小鼠具有抗肿瘤作用,能延长荷瘤小鼠的生存时间。

关键词: 板蓝根多糖; S_{180} ;抗肿瘤;免疫调节;小鼠

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.12.003

Anti-tumor and immune function regulation effects of *Radix isatidis polysaccharides in vivo*

LI Ji-ping^{1*}, ZHU Guan-hua², YUAN Ye³, LIU Mo-xiang¹

¹Department of Pharmacy, Yangzhou University of Medicine, Yangzhou 225001, China;

²Department of Clinical Pharmacy, Shanghai First People's Hospital, Shanghai 200080, China;

³Department of Pharmacy (Laboratory, Ya'an Vocational College, Ya'an 625000, China)

Abstract: This study investigates the anti-tumor effect of *Radix Isatidis* polysaccharide (RIP) on tumor bearing mice and its influences on immune function. The impacts of RIP were observed by transplanted tumor and ascites tumor within S_{180} mice, and cyclophosphamide was used as the positive control. After 12 days of continuous administration, the tumor weight, inhibition rate of tumor growth, spleen and thymus index, splenic lymphocyte transformation function, killing activity of NK cells, the levels of TNF- α , INF- γ , IL-2 in serum were detected. HE staining and cell cycle analysis were performed on the tumor tissue. The ascites tumor mice followed up for the same dosing period were fed normally afterwards, and the time of natural death of each group was recorded. The results showed different doses of RIP can all obviously inhibit the growth of tumor in mice, especially the 100 mg/kg and 50 mg/kg group with the inhibition rates of 35.4% and 38.5%. The spleen index and thymus index of the transplanted mice in each dose group were significantly higher than those of the control group. It also stimulated the proliferation of splenic lymphocytes, enhanced the killing activity of NK cells, and increased the levels of TNF- α , INF- γ , and IL-2 in serum, the 50 mg/kg group compared with the blank control group was statistically significant ($P < 0.01$). The analysis of HE staining showed that the tumor necrotic area in each dose group was increased in different proportion. Flow cytometry showed that the proportion of G_0/G_1 phase cells increased, the proportion of S phase cells decreased, G_2/M phase cells did not change significantly. It suggested RIP has

anti-tumor effect and can enhance the immune function and prolong the survival time of tumor-bearing mice.

Key words: *Radix isatidis* polysaccharide; S_{180} ; anti-tumor; immunoregulation; mice

收稿日期: 2017-08-21 接受日期: 2017-10-30

基金项目: 江苏省苏北火星带科技攻关项目(BE2004339)

* 通信作者 Tel: 86-13815833998; E-mail: jipingli2005@126.com

板蓝根为十字花科植物松蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根。是我国最常用的传统中药材之一,始载于《神农本草经》,性寒、味苦,归心、胃经。具有清热解毒,凉血利咽的功效^[1]。随着世界对天然药物研究与应用的增多,板蓝根多糖等生物大分子物质也得到了广泛的关注,但大多研究主要关注于提取、分离与纯化,活性研究则主要集中于免疫调节等方面^[2-5],而以该类成分作为抗肿瘤活性物质的系统研究则更少,本团队借助于前期的工作基础,分离得到了纯度较高的板蓝根多糖组分物质,且团队将其在正常小鼠免疫调节和抗氧化活性方面已经做了系统工作^[6]。以现有的研究资料分析,RIP 在抗肿瘤方面存在潜在活性,为此,本团队进行以下实验研究,希望为板蓝根多糖类组分物质的深度开发提供依据。

1 材料

1.1 仪器

FACS420 流式细胞仪(BD 公司);BIO-TEK ELX800 全自动酶标检测仪(BIO-TEK 公司);超净工作台(苏州净化设备有限公司);细胞培养孵箱(上海精宏实验设备有限公司);80 ℃ 低温冰箱(Nuaire 公司);旋转式切片机 RM2145 (LEICA 公司);倒置显微镜(OLYMPUS 公司);分析天平(Sartorius 公司)等。

1.2 药品与试剂

RIP(由扬州大学药物研究所中药及天然药物研究室提供,从板蓝根中提取的生物大分子活性组分物质,其中多糖含量为 86%);环磷酰胺(CTX)(江苏恒瑞医药股份有限公司)RPMI-1640 培养基:(Gibco 公司);胎牛血清(杭州四季青生物工程研究所);MTT、二甲基亚砜(DMSO)和刀豆蛋白(ConA)(Sigma 公司);小鼠 TNF- α 、INF- γ 、IL-2 ELISA 试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司)。

1.3 实验动物与细胞

ICR 小鼠 110 只,体重(20 \pm 2)g,雌雄各半(扬州大学比较医学中心提供,生产许可证号 SCXK(苏)2002-0009,使用许可证号 SYXK(苏)2002-0045。S₁₈₀肉瘤细胞(南京凯基生物科技发展有限公司提供)。

2 方法

2.1 S₁₈₀小鼠移植瘤和腹水瘤模型的建立

无菌条件下吸取已复苏的 S₁₈₀ 肿瘤细胞悬液

0.2 mL/只注射入小鼠腹腔中,进行瘤株复苏第一次传代。注射瘤株后让小鼠自然生长,一周后待小鼠腹腔膨隆明显后取小鼠腹腔中的瘤液进行第二次传代,共重复传代 3 次,使肿瘤细胞能在机体稳定生长。抽取第三代腹腔内瘤液,生理盐水稀释,台盼蓝液染色计数,调细胞浓度为 1 \times 10⁷个/mL,迅速接种于小鼠右前肢腋下,0.1 mL/只,共接种 60 只。腹水瘤模型的瘤株处理方法同移植瘤模型,腹腔注射于小鼠体内,0.2 mL/只,共注射 40 只。

2.2 实验分组与给药

根据体重将小鼠随机分为 6 组,即:正常对照组,模型对照组,RIP-L(25 mg/kg)、RIP-M(50 mg/kg)、RIP-H(100 mg/kg)三个剂量组,阳性对照组(CTX 30 mg/kg),移植瘤模型每组 12 只,腹水瘤模型每组 8 只,正常对照组为两个模型的共同对照组,动物数为 10 只。灌胃法给药,剂量为 0.2 mL/10 g,模型对照组给予等量蒸馏水,阳性对照组隔日一次腹腔注射 CTX 0.2 mL。造模第 2 d 开始给药,每天给药一次,连续 12 d。

2.3 肿瘤体积、瘤重与抑瘤率测定

于给药周期结束后,称量小鼠体重,脱颈处死,取出皮下肿瘤组织,用生理盐水冲洗后擦干,电子天平称量肿瘤重量,并用游标卡尺测量肿瘤长、短径,按以下公式计算肿瘤体积和抑瘤率^[7]。

$$\text{肿瘤体积} = \frac{\pi}{6} (\text{长径} \times \text{短径}^2), \pi \text{ 取 } 3.14, \text{ 抑瘤}$$

$$\text{率} = \left(1 - \frac{\text{给药组平均瘤重}}{\text{对照组平均瘤重}}\right) \times 100\%$$

2.4 脾脏指数及胸腺指数测定

无菌取出脾脏及胸腺并称量,按以下公式计算脾指数及胸腺指数。

$$\text{脾指数或胸腺指数} = \frac{\text{脾重或胸腺重}}{\text{小鼠体重}} \times 100\%$$

2.5 脾淋巴细胞转化实验

取脾脏少许,放入 RPMI-1640 培养液中,研磨制成单细胞悬液。用培养液离心洗涤脾细胞 3 次,调细胞浓度至 2 \times 10⁶个/mL,于超净工作台上,将细胞悬液分两孔加入 96 孔板中,每孔 100 μ L,每样做 4 复孔。板中一孔加入 ConA 100 μ L 使其终浓度为 5 μ L/mL。另一孔作为对照,置于 5% CO₂,37 ℃ 培养箱中培养 48 h,从每孔中轻轻吸弃 100 μ L 上清液,加入浓度为 5 mg/mL 的 MTT 20 μ L。于震荡器上震荡 1 min,放入 5% CO₂,37 ℃ 培养箱中反应 4

h,取出反应物,1500 转离心 5 min,弃去孔内培养液,每孔加入二甲基亚砜 100 μL ,于振荡器上 30 s,充分混匀,10 min 后在酶标仪上 570 nm 处读取 A 值,并按以下公式计算刺激指数(SI)。

$$SI = \frac{\text{ConA 刺激孔 OD 均值}}{\text{对照组 OD 均值}}$$

2.6 NK 细胞杀伤活性测定

取预先配好的 K562 靶细胞悬液加入 96 孔板中,50 μL /孔,然后每孔加入 2.5 mL 效应细胞,使效靶比例 50:1,靶细胞对照孔加完全 RPMI-1640 培养基 0.1 mL,各设 3 个复孔,放入 37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 培养箱中培养 4 h,在取上清液前 45 min,按 100 μL 靶细胞加入 10 μL 裂解液,离心 96 孔板 250 \times g,4 min,取每孔上清液 50 μL 到一个新的 96 孔板中,加入试剂盒中的混合液 50 μL ,避光、室温培养 30 min,每孔中加入 50 μL 终止液,在加入终止液 1 h 内,用注射针刺破气泡,于 490 nm 处测吸光度。记录 OD 值。

$$\text{杀伤率} \% = \left(\frac{\text{靶细胞 OD 值} - \text{实验组 OD 值}}{\text{靶细胞 OD 值}} \right) \times 100\%$$

2.7 血清中 TNF- α 、INF- γ 、IL-2 的检测

荷瘤小鼠摘眼球取血,分离血清,用 ELISA 试剂盒检测血清中 TNF- α 、INF- γ 和 IL-2 的含量。

2.8 肿瘤组织 HE 染色和细胞周期分析

将部分已固定的肿瘤组织进行冲洗、脱水、浸腊、包埋、切片 HE 染色,光镜下进行组织形态学观察。其余肿瘤组织,用 70% 浓度酒精固定,制备单细胞悬液上流式细胞仪,按碘化丙啶染色法检测肿瘤细胞周期。

2.9 腹水瘤小鼠生命延长率测定

对经过给药周期的腹水瘤小鼠继续正常饲养,记录各组小鼠自然死亡的时间,计算生命延长率。

$$\text{生命延长率} = \left(\frac{\text{给药组小鼠平均存活天数}}{\text{模型对照组小鼠平均存活天数}} - 1 \right) \times 100\%$$

2.10 统计分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS16.0 软件进行统计处理,采用单因素方差比较组间差异,以 $P < 0.05$ 为有统计学差异。

3 结果

3.1 RIP 对荷瘤小鼠生存状况、肿瘤体积、瘤重与抑瘤率的影响

实验周期结束时,模型对照组小鼠的肿瘤包块明显增大,皮毛无光泽且竖毛现象明显,反应较为迟钝,运动缓慢;RIP 各实验组与对照组相比较,被毛仍具光泽,竖毛现象少见,反应较积极,仍喜活动。对实验末期荷瘤小鼠肿瘤体积和瘤重分析结果显示,RIP-H、RIP-M 组和阳性对照组与模型对照组比较变化十分明显,有显著性差异($P < 0.05$, $P < 0.01$)。抑瘤率显示 RIP-H、RIP-M 组可达 35.4% 和 38.5%,其 RIP-M 组基本和阳性对照组的 40.5% 相当,结果见表 1,图 1。

3.2 RIP 对荷瘤小鼠脾脏指数及胸腺指数的影响

RIP 对免疫器官指数影响的结果显示,使用 CTX 后,小鼠的脾脏和胸腺指数明显下降;但在使用 RIP 以后,小鼠的脾脏指数和胸腺指数均有所提高,与模型对照组相比较 RIP-H 和 RIP-M 组的脾脏指数均有显著性差异($P < 0.01$, $P < 0.05$),胸腺指数中 RIP-M 组有统计学差异($P < 0.05$),结果见表 2。

3.3 RIP 对荷瘤小鼠脾淋巴细胞转化功能与 NK 细胞杀伤活性的影响

由实验可见,RIP 能明显提高 S_{180} 荷瘤小鼠脾淋

表 1 RIP 对荷瘤小鼠肿瘤体积、瘤重与抑瘤率的分析

Table 1 Effect of RIP on tumor volume, tumor weight and tumor inhibition rate in tumor bearing mice

组别 Group	剂量 Dose (mg/kg)	动物 Animals	肿瘤体积 Tumor volume (cm^3)	瘤重 Tumor weight (g)	抑瘤率 Antitumor rate (%)
模型对照组 Model group	-	10	1.65 \pm 0.38	1.57 \pm 0.29	
RIP 低剂量组 RIP-L	25	11	1.61 \pm 0.65	1.23 \pm 0.45	21.3
RIP 中剂量组 RIP-M	50	10	1.33 \pm 0.30 *	0.96 \pm 0.27 **	38.5
RIP 高剂量组 RIP-H	100	10	1.34 \pm 0.31 *	1.01 \pm 0.31 **	35.4
阳性对照组 Positive group	30	10	1.21 \pm 0.47 *	0.93 \pm 0.27 **	40.5

注:与模型对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: vs. Model group * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.



图 1 RIP 对荷瘤小鼠肿瘤体积的影响

Fig. 1 Effect of RIP on tumor volume in tumor bearing mice

注:A. Model group B. RIP-H C. RIP-M D. RIP-L E. Positive group

表 2 RIP 对荷瘤小鼠脾脏指数及胸腺指数的分析

Table 2 Analysis of spleen index and thymus index of tumor bearing mice by RIP

组别 Group	剂量 Dose (mg/kg)	动物 Animals	脾脏指数 Spleen index (mg/g)	胸腺指数 Thymus index (mg/g)
正常对照组 Normal group	-	10	7.41 ± 1.51 *	2.13 ± 0.81 *
模型对照组 Model group	-	10	5.97 ± 1.13	1.55 ± 0.78
RIP 低剂量组 RIP-L	25	11	6.66 ± 1.41	1.72 ± 0.76
RIP 中剂量组 RIP-M	50	10	8.21 ± 1.51 **	2.35 ± 0.84 *
RIP 高剂量组 RIP-H	100	10	7.66 ± 0.93 *	1.91 ± 0.48
阳性对照组 Positive group	30	10	5.46 ± 1.39	1.06 ± 0.17 *

注:与模型对照组比较 *P < 0.05, **P < 0.01 Note: vs. Model group *P < 0.05, **P < 0.01

巴细胞转化功能,与模型对照组比较 RIP-H 和 RIP-M 组均有显著性差异(P < 0.05, P < 0.01);在 RIP 的影响下,NK 细胞对靶细胞的杀伤能力也有所提

高,与模型对照组比较显示 RIP-M 组有显著性差异(P < 0.01),结果见表 3。

表 3 RIP 对荷瘤小鼠脾淋巴细胞转化功能与 NK 细胞杀伤活性的影响(n = 8, $\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of RIP on splenic lymphocyte transformation function and NK cell killing activity in tumor bearing mice(n = 8, $\bar{x} \pm s$)

组别 Group	剂量 Dose (mg/kg)	脾淋巴细胞转化 Splenic lymphocyte transformation			
		OD	刺激指数 Stimulation index	OD	杀伤率 Killing rate %
正常对照组 Normal group	-	0.69 ± 0.15 *	1.37	0.16 ± 0.01 *	61.88
模型对照组 Model group	-	0.57 ± 0.06	1.13	0.18 ± 0.02	59.09
RIP 低剂量组 RIP-L	25	0.64 ± 0.14	1.34	0.17 ± 0.02	61.36
RIP 中剂量组 RIP-M	50	0.78 ± 0.14 **	1.55	0.15 ± 0.03 **	66.31
RIP 高剂量组 RIP-H	100	0.73 ± 0.10 *	1.39	0.18 ± 0.03	60.96
阳性对照组 Positive group	30	0.45 ± 0.07 *	1.30	0.22 ± 0.02 **	50.34

注:与模型对照组比较 *P < 0.05, **P < 0.01。

Note: vs. Model group *P < 0.05, **P < 0.01.

3.4 RIP 对荷瘤小鼠血清 TNF-α、INF-γ、IL-2 含量的影响

实验结果显示,RIP 各剂量组血清细胞因子含

量较模型对照组及 CTX 组均呈显不同程度的增高。RIP 各剂量组的 TNF-α 和 IL-2 含量对比于模型对照组均呈显著性差异(P < 0.05, P < 0.01);INF-γ 的含量也

有明显升高,其中以 RIP-M 组尤为明显,与模型对照组 比较有显著性差异($P < 0.05$),结果见表 4。

表 4 RIP 对荷瘤小鼠血清 TNF- α 、INF- γ 、IL-2 的含量分析($n = 8, \bar{x} \pm s$)

Table 4 Analysis of RIP on serum content of TNF- α 、INF- γ 、IL-2 in tumor bearing mice ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	剂量 Dose (mg/kg)	TNF- α (pg/mL)	INF- γ (pg/mL)	IL-2 (pg/mL)
模型对照组 Model group	-	181.04 \pm 51.15	400.73 \pm 64.46	167.87 \pm 18.93
RIP 低剂量组 RIP-L	25	272.08 \pm 62.47 *	416.95 \pm 82.47	224.17 \pm 37.86 **
RIP 中剂量组 RIP-M	50	427.67 \pm 132.12 **	577.21 \pm 114.35 *	300.93 \pm 65.09 **
RIP 高剂量组 RIP-H	100	296.45 \pm 84.88 *	442.49 \pm 38.98	228.67 \pm 55.56 *
阳性对照组 Positive group	30	112.79 \pm 25.72 *	292.41 \pm 57.98 *	121.88 \pm 28.42 **

注:与模型对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: vs. Model group * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

3.5 RIP 对荷瘤小鼠肿瘤组织 HE 染色和细胞周期分析

肿瘤组织 HE 染色观察可见,模型对照组瘤细胞生长旺盛,形态各异,胞内有胞脂肪变性和空泡。瘤组织边缘有炎性浸润且出现少量坏死细胞;RIP

各剂量组出现不同程度的肿瘤细胞减少,大部分细胞变性、坏死,以肿瘤周边组织反应较为明显;阳性对照组,光镜下可见瘤组织内均出现大面积坏死区域,坏死区呈网络状,可见肿少许瘤细胞残影,结果见图 2。

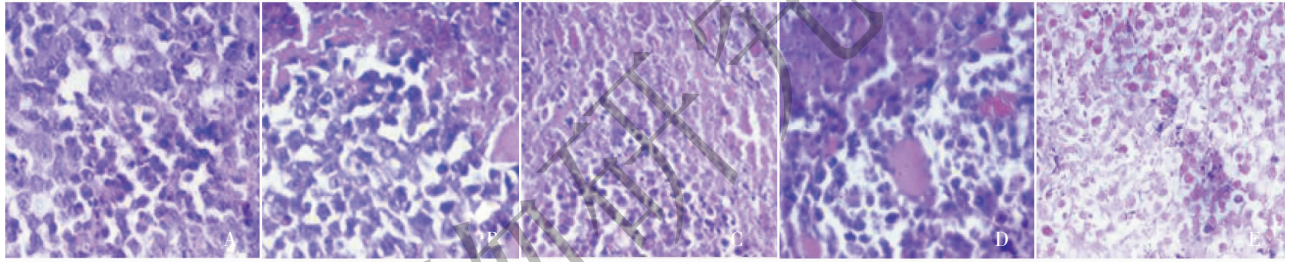


图 2 RIP 对荷瘤小鼠肿瘤组织 HE 染色观察

Fig. 2 Observation of RIP to tumor tissue in tumor bearing mice by HE

注:A. Model group B. RIP-H C. RIP-M D. RIP-L E. Positive group

肿瘤细胞周期的检测结果显示,经 RIP 干预后, G_0/G_1 期细胞比例有所增加,S 期细胞比例降低, G_2/M 期细胞比例无明显变化。由此可知 RIP 对 S_{180}

肿瘤细胞周期的改变主要发生在的 G_0/G_1 期与 S 期,结果见表 5。

表 5 RIP 对肿瘤细胞增殖周期的影响($n = 6, \bar{x} \pm s$)

Table 5 Effect of RIP on the proliferation cycle of tumor cells($n = 6, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	剂量 Dose (mg/kg)	G_0/G_1	S	G_2/M
模型对照组 Model group	-	65.35 \pm 6.51	18.93 \pm 5.89	13.11 \pm 2.52
RIP 低剂量组 RIP-L	25	72.46 \pm 9.31	16.16 \pm 5.51	11.03 \pm 4.37
RIP 中剂量组 RIP-M	50	78.08 \pm 7.04 *	11.23 \pm 3.97 *	11.31 \pm 4.59
RIP 高剂量组 RIP-H	100	75.32 \pm 7.12	11.48 \pm 3.92	13.98 \pm 4.63
阳性对照组 Positive group	30	81.13 \pm 8.09 *	11.08 \pm 4.52 *	8.93 \pm 2.25 *

注:与模型对照组比较 * $P < 0.05$ 。

Note: vs. Model group * $P < 0.05$.

3.6 RIP 对腹水瘤小鼠生命延长率的影响

小鼠在接种肿瘤大约 7d 腹部较正常小鼠膨隆

明显,且开始出现状态不佳小鼠。荷瘤小鼠死亡前 2~3d 时,小鼠活动明显减少,常群聚蜷卧,进食量

差,呼吸浅快,体温较正常小鼠明显降低。数据统计显示,RIP-L组、RIP-M组和RIP-H组三个剂量组的生命延长率分别为17%、39%、31%和CTX组为42%与模型对照组相比较均有显著性差异($P < 0.05$, $P < 0.01$),见图3、表6。

4 讨论

肿瘤是一种常见、高发疾病,严重地威胁着人类的健康和生命。2015年中国新发肿瘤病例约为429.2万例,其中死亡病例达281.4万例^[8]。板蓝根为常用传统中药材,RIP为板蓝根中含量较高的

的天然药物组分,如将其开发为高活性的抗肿瘤药物,将是对人类肿瘤疾病的巨大贡献。课题组通过S₁₈₀小鼠移植瘤和腹水瘤模型研究发现,RIP各剂量组可明显地抑制荷瘤小鼠肿瘤的生长,降低荷瘤小鼠肿瘤体积与重量,其RIP-H和RIP-M的抑瘤率分别为35.4%、38.5%,肿瘤组织HE染色形态学分析也印证以上结果。流式细胞仪分析可见RIP对肿瘤组织的影响主要在G₀/G₁期和S期。腹水瘤模型实验也进一步证实RIP的抗肿瘤作用,各剂量组均能延长荷瘤小鼠的生命周期,其RIP-M组生命延长率可达39%。

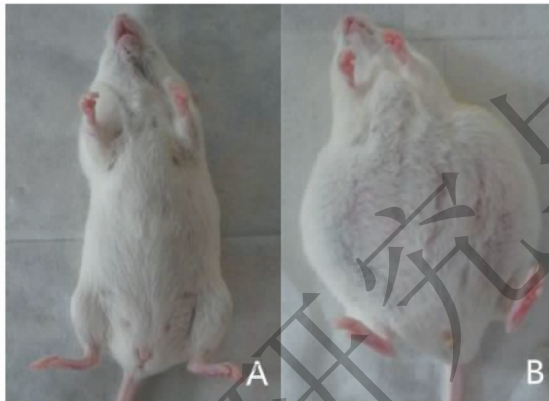


图3 正常小鼠与腹水瘤小鼠对比观察

Fig. 3 Comparison of normal and ascites tumor mice

表6 RIP对荷瘤小鼠生存时间的影响($n = 8, \bar{x} \pm s$)

Table 6 Effect of RIP on survival time of tumor bearing mice($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	剂量 Dose (mg/kg)	平均生存天数 Average survival days	生命延长率 Life extension rate
模型对照组 Model group	-	12.3 ± 0.95	
RIP 低剂量组 RIP-L	25	16.7 ± 1.89 *	17%
RIP 中剂量组 RIP-M	50	19.9 ± 2.19 **	39%
RIP 高剂量组 RIP-H	100	18.7 ± 3.30 **	31%
阳性对照组 Positive group	30	20.3 ± 2.93 **	42%

注:与模型对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: vs. Model group * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

肿瘤的发生与发展和多种因素相关,其中机体免疫系统与肿瘤的发生、发展有着密切的关系^[9]。在致癌因素的作用下,机体免疫功能的下降会滋生肿瘤细胞获得更多生长的机会,而当增强机体免疫功能时,肿瘤细胞的生长则可受到限制。课题组对系列免疫指标进行检测分析结果显示,RIP各剂量组脾指数和胸腺指数与模型对照组比较均有所提高,其RIP-M组有统计学差异($P < 0.01$),由此显示

RIP可抑制荷瘤小鼠免疫器官的损害,保护小鼠的免疫功能。脾淋巴细胞的转化实验和NK细胞的杀伤活性实验数据均进一步证实以上结果。

细胞因子是一种由免疫细胞或相关细胞产生的具有调节细胞功能,参与免疫应答和介导炎症反应等多种生物学效应的小分子多肽或蛋白^[10]。细胞因子可在多种途径发挥治疗作用,既能抑制肿瘤细胞增殖、分化或诱导杀伤肿瘤细胞,还可通过影响肿

瘤脉管系统和营养物质供应而干扰宿主与肿瘤的关系,刺激宿主产生抗肿瘤免疫反应等^[11]。TNF- α 具有调节免疫应答,密切参与机体炎症免疫反应。IFN- γ 由细胞毒性 T 细胞和辅助性 T 细胞的 Th1 亚群产生,其活性可反映小鼠 T 细胞的活性,是细胞免疫功能的检测指标之一。IL-2 是重要的机体免疫应答因子,由 T 细胞和 NK 细胞分泌产生。课题组对荷瘤小鼠血清经典免疫细胞因子 TNF- α 、INF- γ 和 IL-2 的含量分析结果显示,RIP 对以上三个细胞因子均成上调效应,其 RIP-M 组有显著统计学差异 ($P < 0.01$),由此可以再次证实 RIP 对荷瘤小鼠的免疫增强作用。综上所述,RIP 能够增强荷瘤小鼠的免疫功能,有抗肿瘤作用,且能延长荷瘤小鼠的生命周期,改善荷瘤小鼠的生活质量。

参考文献

- 1 National Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China(中华人民共和国药典. 一部). Beijing: Chemical Industry Press, 2015.
- 2 Guo X(国欣),Hu XL(胡小龙),Wang YR(王月荣),*et al.* System isolation and purification of Isatidis Radix polysaccharides and determination of their compositions. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药),2016,47:1508-1514.
- 3 Lu L(鲁轮),Zheng SY(郑少燕),Zhao XQ(赵晓勤),*et al.* Optimization of ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from radix isatidis by response surface methodology. *J Guangzhou Univer Tradit Chin Med* (广州中医药大学学报),2015,32:508-512.
- 4 Zhang J(张俊),Hu AJ(胡安君),Bi YN(毕亚楠),*et al.* Dual-directional immune regulation of Isatidis Radix polysaccharides on rats treated with cytoxin. *Drug Evaluation Res* (药物评价研究),2016,39:531-538.
- 5 Lang J(郎洁),Zhang PJ(张培建). Effect of Radix Isatidis polysaccharide on nitric oxide and endothelin-1 after orthotopic liver autotransplantation in rats. *Mil Med Sci* (军事医学),2014,38:814-817.
- 6 Li JP(李吉萍),Sun TT(孙婷婷),Hu TJ(胡天骄),*et al.* Effects of active component of Radix Isatidis on anti-anoxia and anti-fatigue in mice. *Chin Pharm Bull* (中国药理学通报),2016,32:712-715.
- 7 Xu SY(徐叔云),Bian RL(卞如濂),Chen X(陈修). Pharmacological Experimental Methodology(药理实验方法学) 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002. 1594.
- 8 Chen W,Zheng R,Baade PD,*et al.* Cancer statistics in China,2015. *CA Cancer J Clin*,2016,66:115-132.
- 9 Rosenberg S. Lymphokine-activated killer cells: a new approach to immune-therapy of cancer. *J Natl Cancer Inst*, 1985,75:595-603.
- 10 Gao X, Mi Y, Guo N, *et al.* Cytokine-induced killer cells as pharmacological tools for cancer immunotherapy. *Front Immunol*,2017,6:774-781.
- 11 Jiang J, Wu C, Lu B. Cytokine-induced killer cells promote antitumor immunity. *J Transl Med*,2013,28(11):83-91.

致谢:对以下合作单位参与本刊的学术建设表示由衷的感谢!

广西壮族自治区药用植物园

广西科学院

重庆市药物种植研究所

中国科学院广西植物研究所

昆明医科大学药学院